

INFECÇÃO NATURAL DAS GLÂNDULAS ANAIS DE GAMBÁS (*DIDELPHIS ALBIVENTRIS*) PELO *TRYPANOSOMA CRUZI* NO MUNICÍPIO DE BAMBUÍ – MG

ALEXANDRE JOSÉ FERNANDES, LILÉIA DIOTAIUTI, JOÃO CARLOS PINTO DIAS, ÁLVARO JOSÉ ROMANHA & EGLER CHIARI*

Centro de Pesquisas René Rachou – FIOCRUZ, Caixa Postal 1743, 30190 Belo Horizonte, MG, Brasil
*Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

Natural infection of opossum (*Didelphis albiventris*) anal glands by *Trypanosoma cruzi* at Bambuí – MG – Out of 87 opossums, *Didelphis albiventris*, captured in the Bambuí area (Minas Gerais State), 32 (36.7%) were found infected by *Trypanosoma cruzi*; the rates varied according to whether the specimens originated from sylvan, rural peridomiciliar or urban surroundings, being 34.9, 81.8 and 7.7 respectively. From 20 of the infected opossums the anal glands were repeatedly examined and found positive in only one (5%) specimen (GA 9), with 7 positive examinations out of 17 performed through an 18-months periods. Material from these glands produced patent parasitemia in opossums and sub-patent infections in mice.

Isolates from the opossum GA 9, obtained through xenodiagnoses and hemocultures and from cultures of the infected anal glands fitted into zymodeme Z₁.

Key words: *Trypanosoma cruzi* – anal glands – opossum – isoenzyme

O caráter zoonótico da tripanosomíase americana foi estabelecido por Chagas (1912), pelo encontro do *Trypanosoma cruzi* parasitando o tatu (*Dasypus novemcinctus*) e triatomíneos (*Panstrongylus geniculatus*) capturados em habitat natural. A partir deste relato vários pesquisadores têm estudado a infecção pelo *T. cruzi* numa grande variedade de animais silvestres, visando elucidar qual o papel que desempenham na epidemiologia da doença de Chagas.

Alguns reservatórios, devido a seus hábitos sinantrópicos, têm um importante papel na interligação dos ciclos silvestres e domésticos do *T. cruzi*. Desde o encontro da infecção natural deste parasita em *Didelphis marsupialis* (Robertson, 1920) em Honduras, diversos trabalhos têm demonstrado o parasitismo desta espécie e suas subespécies, bem como de outros didelídeos no Brasil e outros países (Barretto, 1964).

A importância epidemiológica do gênero *Didelphis* deve-se principalmente ao fato de apresentarem índices de infecção relativamente

altos, conforme observado por Rodrigues & Melo (1942) em Belém (91,7%); Guimarães & Jansen (1943) no Rio de Janeiro (35,7%); Alencar et al. (1962) no Ceará (26,6%); Schlemper Jr. et al. (1985) na Ilha de Santa Catarina (23,5%); Fernandes et al. (1987) em Bambuí – MG (31,5%), entre outros. Além dos seus altos índices de infecção, os gambás apresentam parasitemia patente com longa duração, como assinalam Alvarez Crespo (1947); Barreto et al. (1964) e Zeledón et al. (1970), sendo ainda incriminados como elo entre os ciclos de transmissão silvestre e doméstico do *T. cruzi* por invadirem frequentemente as habitações humanas, tanto nas zonas rurais quanto nas urbanas, servindo de fonte alimentar para triatomíneos domiciliados e silvestres (Barretto, 1964). Somam-se a estes aspectos o encontro de *T. cruzi* em urina de *D. marsupialis* (McKeever et al., 1958; Olsen et al., 1964) e, mais recentemente, o parasitismo do lúmen da glândula anal de gambás experimentalmente (Deane et al., 1984) e naturalmente infectados (Naiff et al., 1986; Steindel et al., 1987; Fernandes et al., 1987), sugerindo serem estes os animais silvestres de maior importância na epidemiologia da doença de Chagas, pela possibilidade de transmitirem o *T. cruzi* por outras vias que não as habituais. Existem na literatura relatos de pequenos surtos

Parcialmente financiado pelo CNPq.

Recebido em 26 de julho de 1988.

Aceito em 2 de novembro de 1988.

epidêmicos de doença de Chagas, cuja transmissão poderia ter se dado via oral, onde gambás possam ter tido participação direta na contaminação de algum alimento (Silva et al., 1965; Shaw et al., 1969; Marcondes et al., 1988). Tendo em vista a crescente importância que o gênero *Didelphis* vem assumindo como reservatório da doença de Chagas, propusemo-nos, neste trabalho, a estudar a frequência de formas infectivas do *T. cruzi* presentes nas glândulas anais e no sangue de animais naturalmente infectados, capturados no município de Bambuí no período de agosto de 1986 a setembro de 1987.

MATERIAL E MÉTODOS

O município de Bambuí localiza-se no oeste do Estado de Minas Gerais e está em Vigilância Epidemiológica para o controle da doença de Chagas desde 1974 (Dias, 1982), quando foi implantado um sistema de borrifação das casas com inseticida de ação residual mediante a notificação de presença de triatomíneos feita pela própria população. Como critério de escolha para a captura dos didelfídeos, selecionamos áreas com maior frequência de triatomíneos em ecótopos artificiais e aquelas com maior facilidade de acesso. Foram escolhidas três áreas para estudo, duas áreas rurais divididas em 11 localidades e a área do perímetro urbano da cidade. Para a captura dos gambás foram utilizadas bananas como isca em armadilhas de arame distribuídas nas áreas em estudo, em ambientes silvestre e peridomiciliar. Nos animais capturados procedeu-se à investigação e isolamento do *T. cruzi* através dos seguintes exames:

Exame a fresco: de cada animal examinaram-se cinco lâminas de sangue obtido por punção da veia marginal caudal com auxílio de um estilete;

Xenodiagnóstico: feito com 30 triatomíneos de 3^o estágio por gambá, sendo 10 *T. infestans*, 10 *P. megistus* e 10 *R. neglectus*. Exame segundo Bronfen et al. (1987), para isolamento e amplificação das amostras de *T. cruzi*;

Hemocultura: os animais foram puncionados via veia marginal caudal segundo Jurgelski Jr (1974), com seringa de 5 ml heparinizadas para cultivo e amplificação das amostras em meio LIT ("Liver Infusion Triptose"), (Camargo, 1964). Os tubos de hemocultura foram mantidos a 28 °C e examinados aos 15, 30, 45 e 60 dias de incubação;

Sorologia: todos os animais capturados foram submetidos a reação de imunofluorescência indireta – RIFI (Camargo, 1966), utilizando-se como conjugado imunoglobulinas totais de coelho anti-imunoglobulinas de gambá, método considerado por Jansen et al. (1985) o mais sensível para diagnosticar infecção pelo *T. cruzi* em gambás;

Exame das glândulas anais: em todos os animais infectados as glândulas anais foram examinadas por compressão entre 6 e 17 vezes. Os exames foram feitos assepticamente e o material foi inoculado em meio LIT e/ou NNN (McNeal, Novy e Nicolle) com LIT na fase líquida, adicionando-se amplacilina (3,3 mg/ml). Os tubos de cultura mantidos a 28 °C, foram examinados aos 15, 30, 45 e 60 dias. No exame a fresco examinava-se uma média de 8 lâminas do material diluído em PBS, que quando positivo, era inoculado em camundongos albinos. Com material glandular infectado foram inoculados dois gambás com sorologia (RIFI), hemocultura e xenodiagnóstico negativos para o *T. cruzi*. A constatação da infecção nos camundongos foi realizada através de exames a fresco, xenodiagnóstico, hemocultura e sorologia (RIFI), e nos gambás somente através de exame a fresco.

Para a caracterização bioquímica das amostras de *T. cruzi* isoladas dos gambás via vetores, hemocultura e glândulas anais, utilizou-se o perfil eletroforético das enzimas: alanina aminotransferase (ALAT) (EC 2.6.1.2); aspartato aminotransferase (ASAT) (EC 2.6.1.1); enzima málica (ME) (EC 1.1.1.40); fosfoglucomutase (PGM) (EC 2.7.5.1); glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PD) (EC 1.1.1.49) e glicose fosfato isomerase (GPI) (EC 5.3.1.9), Romanha (1982).

RESULTADOS

Dos 87 gambás (*D. albiventris*) examinados, 32 (36,7%) encontravam-se parasitados pelo *T. cruzi* (Tabela I). Os índices de infecção foram 34,9%, 81,8% e 7,7%, respectivamente, para animais capturados em ambientes silvestres, peridomiciliar rural e procedentes do peridomicílio urbano. Na avaliação parasitológica (hemocultura + xenodiagnóstico) e sorologia houve 100% de concordância, sendo que o exame a fresco foi negativo em 9 (28,1%) dos gambás examinados, e o título da RIFI variou de 1:20 a 1:160.

TABELA I

Infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi* em gambás (*Didelphis albiventris*) capturados em diferentes ambientes no município de Bambuí – MG

Ambiente de captura	Gambás	
	Examinados	Infectados
Silvestre	63	22 (34,9%)
Peridomiciliar rural	11	9 (81,8%)
Peridomiciliar urbano	13	1 (7,7%)
Total	87	32 (36,7%)

Do grupo de gambás positivos, para estudo do parasitismo das glândulas anais, foram considerados apenas 20 animais que apresentavam um mínimo de 6 exames. Apenas o exemplar número 09 (5%) apresentou parasitos (formas epimastigotas e tripomastigotas) na secreção glandular a partir do 5º exame e em 7 do total de 17 exames realizados (41,2%) (Tabela II). Camundongos albinos inoculados intraperitonealmente com material glandular apresentaram exames a fresco, hemocultura e xenodiagnóstico negativos, porém com reação sorológica

(RIFI) positiva na diluição 1:40. Os dois gambás inoculados com idêntico material apresentaram exame de sangue a fresco positivo. Passados sete meses da inoculação ainda não foi observado parasitismo das glândulas anais nestes animais.

O isolamento do *T. cruzi* proveniente das glândulas anais só foi conseguido em meio NNN. O meio LIT resultou negativo mesmo após sucessivas tentativas de isolamento do parasita, servindo entretanto, para a obtenção de massa do mesmo, para a caracterização isoenzimática. Ao contrário dos parasitas de glândulas anais, os parasitas sanguíneos dos gambás, cresceram normalmente em meio LIT.

O estudo isoenzimático realizado com amostras de *T. cruzi* do gambá 09, obtidas via hemocultura, xenodiagnóstico (*P. megistus*, *R. neglectus* e *T. infestans*), e glândulas anais demonstrou pertencerem rigorosamente ao mesmo Zimodema, semelhante ao Zimodema Z1. Um estudo detalhado do perfil isoenzimático das amostras isoladas via xenodiagnóstico e hemocultura de outros gambás será oportunamente publicado.

TABELA II

Avaliação parasitológica, sorológica e parasitismo de glândulas anais de *Didelphis albiventris* naturalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, capturados no município de Bambuí – MG

Gambá Nº*	Exame a fresco	Xenodiagnóstico	Hemocultura	RIFI**	Glândulas-anais Ex. positivos/ Nº exames realizados
03	+	+	+	1:40	0/10
08	+	+	+	1:20	0/07
09	+	+	+	1:80	7/17
10	+	+	+	1:40	0/14
11	+	+	+	1:40	0/14
13	+	+	+	1:160	0/10
14	-	+	+	1:40	0/09
15	+	+	+	1:40	0/11
16	+	+	+	1:20	0/10
17	+	+	+	1:40	0/09
18	+	+	+	1:20	0/10
20	-	+	+	1:40	0/09
21	-	+	+	1:40	0/09
22	+	+	+	1:20	0/09
23	+	+	+	1:20	0/09
24	+	+	+	1:160	0/06
27	+	+	+	1:40	0/06
28	+	+	+	1:40	0/06
29	+	+	+	1:20	0/06
30	+	+	+	1:40	0/06

* Total de gambás examinados = 20.

** Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

DISCUSSÃO

Os dados obtidos neste trabalho indicam que o gambá (*D. albiventris*), única espécie capturada, é um importante reservatório do *T. cruzi* em Bambuí, tanto no ambiente silvestre como no peridoméstico. A epidemiologia da doença de Chagas neste município caracteriza-se por uma primeira fase em que o vetor prevalente era o *T. infestans*, espécie essencialmente intradomiciliar e antropofílica, seguramente responsável pelas altas taxas de prevalência aí observadas. Após o uso contínuo de inseticida de ação residual o *T. infestans* foi erradicado, interrompendo-se a transmissão doméstica da doença de Chagas. O *P. megistus*, espécie nativa de grande mobilidade, circulando ativamente do ambiente silvestre para o doméstico, passou a ser o único triatomíneo capturado, cuja colonização domiciliar é impedida pela pressão do inseticida utilizado na Vigilância Epidemiológica aí implantada a partir de 1974 (Dias, 1982). Desta maneira, o encontro de altas taxas de infecção em gambás peridomiciliados (81,8%) constituem um sério risco de reinstalação de focos de transmissão da doença, caso sejam suspensas as atividades de vigilância e borrifação exercidas. Pode-se verificar que a infectividade diminui em gambás capturados no perímetro urbano (7,7%), estando este fato associado, provavelmente, ao menor contato destes animais com triatomíneos silvestres.

A RIFI demonstrou ser um excelente método de diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi*, conforme já observado por Jansen et al. (1985), pela concordância (100%) dos resultados com métodos parasitológicos (xenodiagnóstico e hemocultura), o que facilita a operacionalização de pesquisas que visem estudar a prevalência desta infecção em gambás. Deve-se considerar entretanto, em áreas onde ocorre leishmaniose, a possibilidade de reação sorológica cruzada com o *T. cruzi*, uma vez que *Leishmania* spp. infecta o gênero *Didelphis* (Arias et al., 1981; Sadigursky et al., 1987).

O parasitismo das glândulas anais pelo *T. cruzi*, em gambás sugere um alto grau de adaptação do parasita ao hospedeiro, visto que, no lúmen das glândulas os mesmos estão protegidos da resposta imune, podendo daí serem disseminados para os tecidos via corrente circulatória. Além disso, este ambiente proporciona-lhes os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento (Deane et al., 1984; Lenzi et

al., 1984). Apesar das evidências da adaptação *T. cruzi*-gambá, não se sabe quais os fatores que determinam o parasitismo destas glândulas. Nossos dados mostram que mesmo com repetidos exames da secreção glandular, dos 20 animais infectados que estudamos, foi observado parasitismo natural por *T. cruzi* em apenas um animal (5%). Estes resultados concordam com Steindel et al. (1986) que, estudando 12 gambás (*D. marsupialis*) naturalmente infectados do município de Florianópolis e Itapema (Santa Catarina), examinaram de 1 a 22 vezes o material glandular, com resultados sempre negativos. Em trabalho posterior (Steindel et al., 1988) na Ilha do Arvoredo (Santa Catarina), em nove gambás (*D. marsupialis*), verificaram o parasitismo das glândulas anais em apenas um animal; o mesmo resultado foi observado por Naiff et al. (1987) entre 48 gambás (*D. marsupialis*) da região de Manaus (Amazonas). Os nossos resultados e os da literatura mostram que a prevalência da infecção das glândulas anais pelo *T. cruzi* em gambás naturalmente infectados é baixa. Deve-se considerar, entretanto, que em 17 exames realizados no mesmo animal, 7 (41,2%) apresentavam parasitas. Estes dados contrapõem-se aos obtidos experimentalmente por Deane et al. (1984) que observaram seis gambás positivos em oito inoculados (*D. marsupialis*). Além disso, as características da infecção por nós observadas são muito diferentes das encontradas por estes pesquisadores. No nosso material foram identificadas formas tripomastigotas e epimastigotas, porém sem a intensidade parasitária (grandes massas de parasitas) observada na infecção experimental (Deane et al., 1984).

Sabe-se que os gambás apresentam ampla distribuição geográfica (Zeledón, 1974; Varejão & Valle, 1982), sendo encontrados em grande número (Valle, 1987, comunicação pessoal), transitando por diversos ambientes e servindo-lhes como elo de ligação (Barretto, 1968). Apesar da baixa prevalência de animais naturalmente infectados com *T. cruzi* nas glândulas anais, observada por nós e outros pesquisadores (Naiff et al., 1986; Steindel et al., 1988), o fato de sua ocorrência pode assumir grande importância epidemiológica em certas circunstâncias. Deve-se considerar ainda a sobrevivência e a capacidade infectiva do *T. cruzi* proveniente de cultura (Lainson et al., 1980), glândulas anais (Jansen & Deane, 1985) e de triatomíneos (Soares et al., 1987) em alimentos. Os fatos, somados, reforçam a possibilidade de transmissão "per

os" da doença de Chagas nos surtos epidêmicos de Teotônia (Silva et al., 1968), Belém (Shaw et al., 1969) e Paraíba (Marcondes et al., 1988), em que gambás possam ter assumido importante papel como fonte de infecção.

O isolamento dos parasitos provenientes das glândulas anais (GA09), só foi possível em meio NNN. Esta dificuldade pode estar relacionada a heterogeneidade das amostras de *T. cruzi* (Brenner, 1977; Miles & Cibulskis, 1986), que se refletiria também no comportamento em meio de cultura, já que Thomaz et al. (1984) e Steindel et al. (1988) isolaram parasitas de glândulas anais em meio LIT de gambás experimentalmente e naturalmente infectadas, respectivamente. No entanto, após o isolamento dos parasitas das glândulas, nossa cepa apresentou abundante crescimento em meio LIT, resultado este também observado quando se procedia ao isolamento diretamente das formas sanguíneas via hemocultura ou xenodiagnóstico, sugerindo poder existir no conteúdo glandular deste gambá (GA09) algum fator de inibição de crescimento do parasita. Este fator de inibição poderia ser anulado no meio NNN e não anulado ou até exacerbado no meio LIT. A análise isoenzimática de parasitas isolados por diferentes maneiras, mostrou uma população rigorosamente homogênea de *T. cruzi*, conforme observado por Carreira et al. (1985) na demonstração da simultaneidade dos ciclos tissular e glandular.

RESUMO

Infecção das glândulas anais de gambás em Bambuí – MG – De 87 gambás, *Didelphis albiventris*, capturados na região de Bambuí (MG), 32 (36,7%) estavam infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. Os índices de infecção foram 34,9%, 81,8% e 7,7%, respectivamente, para animais capturados em ambiente silvestre, peridomiciliar rural e peridomiciliar urbano. Em 20 gambás infectados as glândulas anais foram examinadas repetidamente e apenas um (5%) animal (GA09) apresentou exame positivo. Foram positivos 7 dos 17 exames a fresco da secreção glandular deste animal ao longo de 18 meses. Material destas glândulas produziu parasitemia patente em gambás e infecção subpatente em camundongos.

A análise isoenzimática realizada com amostras de *T. cruzi* do GA09, obtidas via hemocultura, xenodiagnóstico e glândulas anais demonstraram pertencerem rigorosamente ao mesmo

Zimodema, semelhante ao Zimodema Z₁. As observações mostram que a infecção das glândulas anais pelo *T. cruzi* em gambás naturalmente infectados da região de Bambuí é baixa.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi* – glândulas anais – gambás – isoenzimas

AGRADECIMENTOS

A Dra. Cléa Chiari pela orientação na produção do conjugado e sorologia dos gambás, e a Rosalida Stevan Nazar por sua participação técnica na realização destes exames.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, J. E.; PESSOA, E. P.; SHERLOCK, V. R. A.; TOMÉ, G. S. & CUNHA, R. V., 1962. Estudos sobre a epidemiologia da doença de Chagas no Ceará. I. Dados preliminares. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.*, 14: 201-220.
- ALVAREZ CRESPO, J., 1947. Informaciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas en la localidad Guayaquil, 1942-1946. *Gac. Med.*, 1: 311-318.
- ARIAS, J. R.; NAIFF, R. D.; MILES, M. A. & SOUZA, A. A. de, 1981. The opossum *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didephidae), as a reservoir-host of *Leishmania braziliensis guyanensis* in the Amazon Basin of Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 75: 537-541.
- BARRETTO, M. P., 1964. Reservatórios do *Trypanosoma cruzi* nas Américas. *Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.*, 4: 527-552.
- BARRETTO, M. P., 1968. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXI. Observações sobre a associação entre reservatórios e vetores com especial referência à região Nordeste do Estado de São Paulo. *Rev. Brasil. Biol.*, 28: 481-494.
- BARRETTO, M. P.; SIQUEIRA, A. P.; CORREA, F. M. A.; FERRIOLLI F^o, F. & CARVALHEIRO, J. R., 1964. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VIII. Investigações sobre a infecção natural de gambás por tripanossomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.*, 24: 289-300.
- BRENER, Z., 1977. Intraespecific variations in *Trypanosoma cruzi*: two types of parasite populations presenting distinct characteristics. *PAHO, Washington, Scientific Publication*, 347: 11-21.
- BRONFEN, E.; CHIARI, E. & ROCHA, F. S. A., 1967. Isolamento de amostras do *Trypanosoma cruzi* através do xenodiagnóstico. IV Reunião anual sobre Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas. Araxá, Minas Gerais, p. 8.
- CAMARGO, E. P., 1964. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 6: 93-100.
- CAMARGO, M. E., 1966. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 8: 227-234.

- CARREIRA, J. C. A.; LENZI, H.; JANSEN, A. M. & DEANE, M. P., 1985. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: tissue parasitism in specimens with infected anal glands. XII Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambu, Minas Gerais, BI-31.
- CHAGAS, C., 1912. Sobre um tripanosoma do tatu, *Tatusia novemcinta* transmitido pelo *Triatoma geniculata* (Latr. 1811). *Brazil Med.*, 26: 305-306.
- DEANE, M. P.; LENZI, H. L. & JANSEN, A. M., 1984. *Trypanosoma cruzi* vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host the opossum *Didelphis marsupialis*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79: 513-515.
- DIAS, J. C. P., 1982. *Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982*. Tese, UFMG, 375 p.
- FERNANDES, A. J.; DIOTAIUTI, L.; CHIARI, E. & DIAS, J. C. P., 1987. Natural infection of *Didelphis albiventris* by *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma freitasi*. XIV Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease. Caxambu, Minas Gerais: 65.
- GUIMARÃES, F. N. & JANSEN, G., 1943. Um foco potencial de tripanosomíase americana na cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 39: 405-417.
- JANSEN, A. M. & DEANE, M. P., 1985. *Trypanosoma cruzi* infection of mice by ingestion of food contaminated with material of the anal glands of the opossum *Didelphis marsupialis*. XII Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em Doença de Chagas. Caxambu, Minas Gerais, BI-09.
- JANSEN, A. M.; MORIEARTRY, P. L.; CASTRO, B. G. & DEANE, M. P., 1985. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis* an indirect fluorescent antibody test diagnosis and follow-up of natural and experimental infections. *Trans. R. Soc. Tropical Med. Hyg.*, 79: 474-477.
- JURGELSKI Jr, W., 1974. The opossum (*Didelphis virginiana* Ker) as a biomedical model. I. Research perspective, husbandry, and laboratory techniques. *Laboratory Animal Science*, 24: 376-399.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. & NAIFF, R. D., 1980. Chagas' disease in the Amazon basin: speculations on transmission "per or". *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 22: 294-297.
- LENZI, N. L.; JANSEN, A. M. & DEANE, M. P., 1984. The recent discovery of what might be a primordial escape mechanism for *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79 (supl.): 13-18.
- MARCONDES, C. B.; GUEDES, L. A. & MENDONÇA, D. D., 1988. Surto de doença de Chagas de provável contaminação oral, em Catolé do Rocha (Paraíba) - Encontro de *Didelphis albiventris* naturalmente infectado. XXIV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Manaus, Amazonas, Resumo 29.
- McKEEVER, S.; GORMAN, O. W. & NORMAN, L., 1958. Occurrence of a *Trypanosoma cruzi*-like organism in some mammals from southwestern Georgia and northwestern Florida. *J. parasitol.*, 44: 583-587.
- MILES, M. A. & CIBULSKIS, R. E., 1986. The heterogeneity of *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology Today*, 2: 94-97.
- NAIFF, R. D.; BARRET, T. V. & ARIAS, J. R., 1987. *Trypanosoma cruzi* nas glândulas anais de *Didelphis marsupialis*: primeiro registro de infecções naturais. X Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia. Salvador, Bahia. Resumo 165.
- OLSEN, P. F.; SHOEMAHER, J. P.; TURNER, H. F. & HAYS, K. L., 1964. Incidence of *Trypanosoma cruzi* (Chagas) in wild vectors and reservoirs in East-Central Alabama. *J. Parasitol.*, 50: 599-603.
- ROBERTSON, A., 1929. Note on a trypanosome morphologically similar to *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, found in a opossum, *Didelphis marsupialis*, captured at Tela, Honduras, Central America. *11th. Ann. Rep. Med. Dept. United. Fruit. Ca.*: 293-310.
- RODRIGUES, B. A. & MELLO, G. B., 1942. Contribuição ao estudo da tripanosomíase americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 37: 77-94.
- ROMANHA, A. J., 1982. *Heterogeneidade isoenzimática em Trypanosoma cruzi*. Tese, UFMG, 110 p.
- SADIGURSKI, M.; SHERLOCK, I. & MIRANDA, J. C., 1987. Ecologia da Leishmaniose visceral na área endêmica de Jacobina-Bahia. VI. Estudo histopatológico de *Didelphis albiventris* naturalmente infectado por três espécies de *Leishmania*. X Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia. Salvador, Bahia: 159-160.
- SCHLEMPER Jr, B.; STEINDEL, M.; GARGIONI, R.; FARIAS, C. J. M.; OLIVEIRA, R. & TRIANON, J. A. X., 1985. Reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* e suas relações com o domicílio humano na Ilha de Santa Catarina. *Arq. Cat. Med.*, 14: 91-96.
- SHAW, J.; LAINSON, R. & FRAHIA, H., 1969. Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros casos autóctones de doença de Chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. *Rev. S. Públ. São Paulo*, 3: 153-157.
- SILVA, N. N.; CLAUSELL, D. T.; NÓLIBOS, H.; MELLO, A. L.; OSSANAI, J.; RAPONE, T. & SNELL, T., 1968. Surto epidêmico de doença de Chagas com provável contaminação oral. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 10: 265-276.
- SOARES, V. A.; DIAS, J. C. P.; MARSDEN, P. D. & GARCIA-ZAPATA, M. T., 1987. Sobrevivência do *Trypanosoma cruzi* em caldo de cana. IV Reunião Anual sobre Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas. Araxá, Minas Gerais, p. 38.
- STEINDEL, M.; SCHOLZ, A.; TOMA, H. K.; GARGIONI, R. & SCHLEMPER Jr, B. R., 1986. Ausência de parasitismo pelo *Trypanosoma cruzi* nas glândulas peri-anais de gambás no Estado de Santa Catarina, Brasil. XIII Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambu, Minas Gerais, BI-28.
- STEINDEL, M.; SCHOLZ, A.; TOMA, H. K. & SCHLEMPER Jr, B. R., 1988. Presence of *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of naturally infected opossum (*Didelphis marsupialis*) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 83: 135-137.
- THOMAZ, N.; JANSEN, R. M.; LENZI, H.; GONÇALVES, A. M.; MOREL, C. M. & DEANE, M. P., 1984. Characterization of a population of *Trypanosoma cruzi* isolated from the lumen of the anal glands of the opossum *Didelphis marsupialis*. XI Reunião Anual sobre pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambu, Minas Gerais, BI-43.

- VAREJÃO, J. B. M. & VALLE, C. M., 1982. Contribuição ao estudo da distribuição geográfica das espécies do gênero *Didelphis* (Mammalia-Marsupialia) no estado de Minas Gerais, Brasil. *Lundiana*, 2: 5-56.
- ZELEDÓN, R., 1974. Epidemiology, modes of transmission and reservoir hosts of Chagas' disease, p. 57-77. In: *Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference of Chagas' disease*. Ciba Foundation Symp., 20.
- ZELEDÓN, R.; SOLANO, G.; SÁENZ, G. & SWARTZWELDER, J. R., 1970. Wild reservoirs of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum *Didelphis marsupialis*, and its role in the epidemiology of Chagas disease in an endemic area of Costa Rica. *J. Parasitol.*, 56: 38.