

ESTUDO SOBRE A UTILIZAÇÃO DE *RHODNIUS NEGLECTUS*
PARA XENODIAGNÓSTICOS REALIZADOS EM MARSUPIAIS
(*DIDELPHIS*) *

Oswaldo Paulo Forattini **
Maria das Dores Cotrim **
Eunice Aparecida Bianchi Galati **
Sílvia Branco Sarzana **
Cristina Ferez Cruz **
Nadja Helena Sabbag Van Dinteren **
Sabina Léa Davidson Gottlieb **

RSPU-B/328

FORATTINI, O. P. et al. — *Estudo sobre a utilização de Rhodnius neglectus para xenodiagnósticos realizados em marsupiais (Didelphis)*. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 10:335-45, 1976.

RESUMO: Em marsupiais (*Didelphis*), portadores de infecção natural pelo *T. cruzi*, procurou-se levar a efeito xenodiagnósticos com o emprego de ninfas de *Rhodnius neglectus* e de *Triatoma infestans* e através do exame periódico de lotes formados por cinco insetos. Pôde-se observar o melhor rendimento por parte do exame do intestino posterior, mediante dissecação. O tempo ótimo foi situado no intervalo correspondente a 15 e 20 dias, e a eficiência de *R. neglectus* foi superior. Esse resultado, aliado à facilidade de sua manutenção em laboratório, sugere a utilização rotineira desse triatomíneo para fins de xenodiagnóstico.

UNITERMOS: *Tripanossomíase americana*. Xenodiagnóstico. *Rhodnius neglectus*. *Triatoma infestans*. Reservatórios, *tripanossomíase americana*. *Didelphis*. *Trypanosoma cruzi*.

INTRODUÇÃO

O método do xenodiagnóstico, desde sua descrição por Brumpt² (1914), tem sido largamente utilizado com a finalidade de detectar a presença de tripanossomíase americana, tanto em homens como em animais. Desde que a técnica implica o exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos empregados, torna-se necessário

conhecer a melhor ocasião para fazê-lo, após a realização do repasto sanguíneo infectante. No entanto, o estabelecimento desse período tem sofrido variações consideráveis de acordo com diversos autores. Certamente, para isso, contribuem fatores múltiplos de variadas origens mas que, a grosso modo, podem ser atribuídos tan-

* Trabalho realizado pelo Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP, levado a efeito com o auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Proc. CNPq n.º 10807).

** Do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP — Avenida Dr. Arnaldo, 715 — São Paulo, SP — Brasil.

to à cepa do *Trypanosoma cruzi*, como ao organismo do vertebrado submetido à prova e, também, ao triatomíneo utilizado.

O estudo de tempo ótimo foi, inicialmente, feito por Freitas^{4, 5} (1947, 1950) que concluiu situando-o ao redor dos 60 dias. De certa forma, esse resultado veio confirmar orientação adotada anteriormente e que estabelecia esse período nos dias incluídos entre o 40.º e o 60.º (Dias⁸, 1940). Embora esse prazo fosse geralmente adotado, não existe ainda aspecto uniforme a respeito, e grande parte dos autores estabelecem, pelo menos, o primeiro exame, aos 30 dias ou mesmo anteriormente (Zeledón e Vieto¹³, 1957; Schenone e col.¹¹, 1968; Marsden e col.⁷, 1969; Almeida e col.¹, 1973; Schenone e col.¹², 1974; Miles e col.⁸, 1975).

Em época mais recente, alguns estudos foram feitos com a finalidade de determinar o período de maior positividade no intestino dos insetos. Nesse sentido, Rohwedder e col.¹⁰ (1970), realizando exames periódicos dos triatomíneos utilizados, concluíram pela sua localização entre os 15 a 25 dias do repasto para *Triatoma infestans*. Resultado semelhante foi obtido por Patterson e Miles⁹ (1973) estabelecendo como ótimo o 25.º dia, em *Rhodnius prolixus*.

No decurso das investigações sobre os aspectos ecológicos da tripanossomíase americana, levadas a efeito na região Sudeste do Brasil, tivemos a contingência de aplicar o xenodiagnóstico em animais silvestres e domésticos. Surgiu daí a oportunidade de tentar simplificar o método combinando, para tanto a utilização de um triatomíneo facilmente colonizável em laboratório como o *Rhodnius neglectus*, com o estabelecimento de prazo mais breve para a realização do exame microscópico. Com esse objetivo programou-se série de experiências cujos resultados apresentamos.

MATERIAL E MÉTODOS

As observações foram realizadas com a utilização de marsupiais (*Didelphis*) naturalmente infectados e de triatomíneos das espécies *Rhodnius neglectus* e *Triatoma infestans*, colonizados em laboratório. Os trabalhos dividiram-se em duas etapas.

Primeira etapa — Utilizaram-se sete didelfídeos, seis *Didelphis azarae* e um *D. marsupialis*, capturados em várias localidades do Estado de São Paulo, Brasil (Tabela 1), e cuja positividade à infecção tinha sido previamente estabelecida mediante xenodiagnóstico preliminar.

Em ocasião simultânea, esses marsupiais foram oferecidos à alimentação de ninfas de 3.º e 4.º estádios de *R. neglectus*, em número de 150 insetos para cada animal. Decorrido o prazo de uma hora, separaram-se os triatomíneos que se apresentavam ingurgitados, desprezando-se os demais. A partir dessa data, os insetos foram examinados em intervalo regular de 84 horas, correspondente a cerca de 3,5 dias, escolhido arbitrariamente, até o total de 11 exames, ou seja, 38,5 dias decorridos do repasto sanguíneo.

Para o exame dos triatomíneos retirava-se, do conjunto correspondente a cada gambá, dez exemplares. Desse número, cinco foram examinados mediante a coleta de material fecal por simples compressão abdominal e os outros cinco através a dissecação e retirada do intestino posterior.

Segunda etapa — Face aos resultados obtidos na etapa anterior, procedeu-se a realização desta empregando-se ainda sete gambás. Desses animais, quatro foram os mesmos utilizados na primeira etapa, aos quais se acrescentaram três outros. Com exceção do exemplar de *Didelphis marsupialis*, que participou do primeiro grupo, todos os demais foram *D. azarae* (Tabela 1). A exemplo do que se fez anteriormente, a positividade dos novos animais

TABELA 1

Procedência dos marsupiais *Didelphis* utilizados nas duas etapas

EXR *	Espécie	Procedência (Estado de São Paulo — Brasil)
461/5	<i>D. azarae</i>	Bairro Santo Antonio, município de São João da Boa Vista, captura peridomiciliar em VI. 1975.
466/6	<i>D. azarae</i>	Bairro do Pico, município de Taquarituba, captura silvestre em VIII. 1975.
466/7	<i>D. azarae</i>	Bairro do Pico, município de Taquarituba, captura silvestre em VIII. 1975.
466/8	<i>D. azarae</i>	Bairro do Pico, município de Taquarituba, captura silvestre em VIII. 1975.
466/10	<i>D. azarae</i>	Bairro do Pico, município de Taquarituba, captura silvestre em VIII. 1975.
466/11	<i>D. azarae</i>	Bairro do Pico, município de Taquarituba, captura silvestre em VIII. 1975.
466/12	<i>D. marsupialis</i>	Bairro do Pico, município de Taquarituba, captura silvestre em VIII. 1975.
469/1	<i>D. azarae</i>	Fazenda Baú, município de Santo Antonio da Alegria, captura silvestre em IX. 1975.
469/5	<i>D. azarae</i>	Fazenda Baú, município de Santo Antonio da Alegria, captura silvestre em IX. 1975.
471/1	<i>D. azarae</i>	Fazenda Baú, município de Santo Antonio da Alegria, captura peridomiciliar em IX. 1975.

* Sigla para o número de registro no laboratório do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP.

foi estabelecida através de xenodiagnóstico preliminar.

Seguindo a mesma orientação, esses marsupiais foram, simultaneamente, submetidos à alimentação de ninfas de 3.º e 4.º estádios de *R. neglectus* e de *T. infestans*, em lotes de 150 espécimens de cada triatomíneo para cada animal. Após uma hora de alimentação, foram separados os exemplares que se apresentavam repletos e desprezados os outros. A contar dessa data, os exames foram realizados com o mesmo intervalo regular de 84 horas, ou seja, cerca de 3,5 dias até completar o mesmo período de 38,5 dias contados a partir da alimentação. Para cada exame retirava-se um lote de dez ninfas do conjunto correspondente a cada gambá, constituído por cinco representantes de

cada triatomíneo. Com base nos resultados obtidos na primeira etapa, procedeu-se ao exame de todos esses insetos, mediante a dissecação e retirada do intestino posterior.

Os triatomíneos utilizados em ambas as fases supradescritas foram retirados de colônias mantidas em insetário e com as seguintes origens:

Rhodnius neglectus (RCT-20) — De uma fêmea coletada em cópula em palmeira macaúba (*Acrocomia*) no município de Pitangueiras, Estado de São Paulo, Brasil (III. 1969).

Triatoma infestans (RCT-2) — De vários adultos procedentes de coletas domiciliares em diversos municípios do Estado

de São Paulo, Brasil (II, 1968 a II, 1973).

Em todos os exames considerou-se como positivo aquele no qual a microscopia revelou a presença de formas vegetativas de protozoário em movimentação ativa.

RESULTADOS

De acordo com o exposto, caberá apreciar os resultados obtidos em cada um dos estágios. No primeiro, com o objetivo de observar possível associação entre o tempo e o processo de exame. No segundo, procurando confirmar esse aspecto comparando as duas espécies triatomínicas.

Primeira etapa — As Tabelas 2 e 3 fornecem idéia dos resultados conseguidos, respectivamente, com a compressão abdominal e a dissecação do intestino posterior das ninfas de *R. neglectus*. Pode-se ver a ocorrência de maior número de insetos positivos a partir do 6.º exame, corres-

pondente a 21 dias do repasto, para as fezes obtidas por compressão do abdome. Quanto ao exame direto do conteúdo do intestino posterior, obtido por dissecação do inseto, verifica-se maior número de positivos desde, praticamente, o 2.º exame, ou seja, o sétimo dia contado da hematofagia. Testando-se a proporção desse tipo de resultados obtidos pelo uso das duas técnicas, observou-se maior positividade para a dissecação, estatisticamente significativa, a um nível de 5% quando do 5.º exame ($K=5,62$). No entanto, não houve diferença estatística ($K=1,01$) quando do 6.º exame, ao mesmo nível de 5%, sendo, nessa oportunidade, praticamente equivalente o rendimento dos dois processos.

Verifica-se também a ocorrência de variações individuais, sendo a mais marcante a referente ao gambá 466/12, o único representante aqui da espécie *Didelphis marsupialis*, e cuja positividade parece ter sido bem mais demorada do que os demais, para ambas as técnicas.

TABELA 2

Resultados dos xenodiagnósticos realizados com *Rhodnius neglectus* em *Didelphis* naturalmente infectados Exames periódicos mediante coleta do material por compressão abdominal

EXR *	Exames periódicos (dias) **										
	1.º (3,5)	2.º (7,0)	3.º (10,5)	4.º (14,0)	5.º (17,5)	6.º (21,0)	7.º (24,5)	8.º (28,0)	9.º (31,5)	10.º (35,0)	11.º (38,5)
461/5	—	3	1	1	1	5	3	5	5	5	5
466/6	—	3	1	3	3	5	3	4	5	5	5
466/7	—	—	1	1	2	5	3	5	5	5	5
466/8	—	1	1	2	3	5	3	5	5	5	5
466/10	—	1	—	1	1	5	3	5	4	5	3
466/11	2	3	2	3	1	5	3	5	4	5	4
466/12	—	—	—	—	1	4	3	5	5	5	4
Total	2	11	6	11	12	34	21	34	33	35	31

* Vide Tabela 1.

** Número de insetos positivos em cada lote de 5 exemplares.

TABELA 3

Resultados dos xenodiagnósticos realizados com *Rhodnius neglectus* em *Didelphis* naturalmente infectados. Exames periódicos mediante coleta do material por dissecação do intestino posterior (1ª etapa)

EXR *	Exames periódicos (dias) **										
	1º (3,5)	2º (7,0)	3º (10,5)	4º (14,0)	5º (17,5)	6º (21,0)	7º (24,5)	8º (28,0)	9º (31,5)	10º (35,0)	11º (38,5)
461/5	4	5	3	4	5	5	5	5	5	5	4
466/6	4	5	5	5	5	5	5	4	5	5	4
466/7	2	4	4	5	3	5	4	5	5	5	3
466/8	3	5	4	5	5	5	5	4	5	5	4
466/10	1	5	4	4	5	5	5	5	5	5	4
466/11	4	4	4	4	4	5	3	5	5	5	3
466/12	—	1	1	2	4	5	4	5	5	5	4
Total	18	29	25	29	31	35	31	33	35	35	26

* Vide Tabela 1

** Número de insetos positivos em cada lote de 5 exemplares.

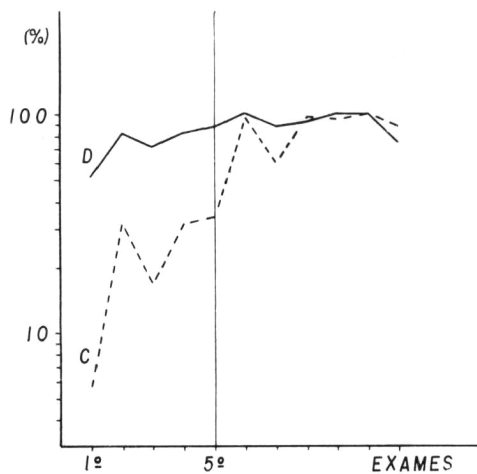


Fig. 1 — Percentual de ninfas de *Rhodnius neglectus* positivas (1ª etapa), sobre o total de cada exame, por compressão abdominal (C) e por dissecação do intestino posterior (D). Nota-se a maior tendência à positividade a partir do 5º exame (17,5 dias) e o predomínio geral do segundo método sobre o primeiro.

Calculando-se o percentual de insetos que se revelaram como positivos no total de cada exame, obteve-se o aspecto dos gráficos da Figura 1. Pode-se ali observar a maior rapidez do processo baseado na dissecação do intestino posterior e a maior positividade até o 5.º exame correspondente ao período de 17,5 dias.

Segunda etapa — Pela análise dos dados constantes das Tabelas 4 e 5, pode-se observar, em linhas gerais, a repetição do comportamento de *R. neglectus*, com a precocidade dos resultados positivos desde, praticamente, o 3.º exame. Ao nível do 5.º exame dá-se nova ascensão desse rendimento.

Comparando-se os dados obtidos com esse triatomíneo e *Triatoma infestans*, observou-se maior proporção de positivos para *Rhodnius neglectus*. As diferenças foram estatisticamente significantes a um nível de 5%, quer seja para o 5.º exame ($K=1.75$), quer seja para o 6.º ($K=$

TABELA 4

Resultados dos xenodiagnósticos realizados com *Rhodnius neglectus* em *Didelphis* naturalmente infectados. Exames periódicos mediante coleta do material por dissecação do intestino posterior (2ª etapa)

EXR *	Exames periódicos (dias) **										
	1.º (3,5)	2.º (7,0)	3.º (10,5)	4.º (14,0)	5.º (17,5)	6.º (21,0)	7.º (24,5)	8.º (28,0)	9.º (31,5)	10.º (35,0)	11.º (38,5)
461/5	4	5	5	4	4	4	5	5	5	5	4
466/7	—	3	4	4	4	5	5	4	4	4	4
466/11	3	4	5	5	5	5	5	5	5	2	4
466/12	—	1	5	3	3	5	5	4	4	3	3
469/1	5	3	5	5	5	5	3	5	5	5	5
469/5	5	2	5	5	5	5	5	5	5	5	4
471/1	5	4	5	5	4	5	3	5	1	4	4
Total	22	22	34	31	30	34	31	33	29	28	28

* Vide Tabela 1.

** Número de insetos positivos em cada lote de 5 exemplares.

TABELA 5

Resultados dos xenodiagnósticos realizados com *Triatoma infestans* em *Didelphis* naturalmente infectados. Exames periódicos mediante coleta do material por dissecação do intestino posterior

EXR *	Exames periódicos (dias) **										
	1.º (3,5)	2.º (7,0)	3.º (10,5)	4.º (14,0)	5.º (17,5)	6.º (21,0)	7.º (24,5)	8.º (28,0)	9.º (31,5)	10.º (35,0)	11.º (38,5)
461/5	3	3	4	3	4	4	5	5	5	4	4
466/7	—	—	—	3	2	2	3	4	1	1	2
466/11	3	2	4	5	4	5	5	4	4	3	3
466/12	—	—	2	2	1	3	3	4	5	5	3
469/1	3	5	2	4	4	2	4	3	3	3	—
469/5	4	4	4	4	4	4	5	5	4	3	3
471/1	4	5	4	4	5	5	4	5	5	4	4
Total	17	19	20	25	24	25	29	30	27	23	19

* Vide Tabela 1.

** Número de insetos positivos em cada lote de 5 exemplares.

2,19). De maneira geral, esse aspecto manteve-se ao longo das observações.

Calculando-se o percentual de ninfas que se revelaram positivas em relação ao

total de cada exame, obteve-se o aspecto dos gráficos da Figura 2. Pode-se observar a maior rapidez e superior rendimento do *R. neglectus* em relação ao *T. infes-*

tans, com a utilização do processo de dissecação do intestino posterior. Da mesma forma que na etapa anterior obteve-se resultado significativo a partir do 5.º exame, ou seja, com cerca de 17,5 dias.

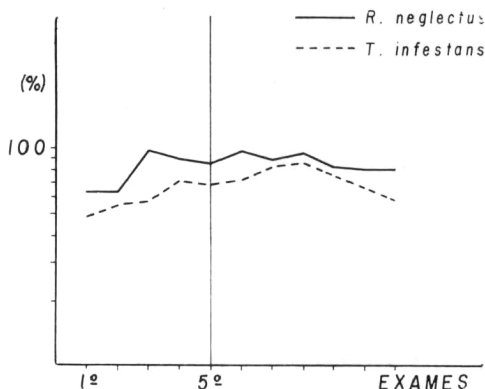


Fig. 2 — Percentual de ninfas de *Rhodnius neglectus* (2.ª etapa) e de *Triatoma infestans* positivas, por dissecação do intestino posterior. Nota-se geral predomínio das primeiras sobre as segundas, com tendência à equivalência após o 5.º exame (17,5 dias).

COMENTÁRIOS

Como já foi mencionado anteriormente, um dos principais objetivos deste estudo residiu no estabelecimento de menor período para a positividade do xenodiagnóstico, que permitisse razoável segurança. Certamente, são numerosos os fatores que intervêm no resultado obtido com esse método, influenciando direta ou indiretamente no desenvolvimento do *T. cruzi* no intestino do triatomíneo. Em vista disso, dificilmente será possível isolar um deles livrando-o da influência dos demais. No entanto, mesmo que de maneira aproximada, algo pode ser deduzido, como no caso dos dados conseguidos neste trabalho.

Inicialmente, as informações obtidas na execução da primeira etapa sugerem a superioridade do processo de dissecação do intestino posterior sobre o do simples exa-

me de material fecal obtido por compressão abdominal do inseto. Essa vantagem manifestou-se principalmente pela precocidade. Assim, o 5.º exame realizado aos 17,5 dias apresentou-se significativamente com maior rendimento. Este tornou-se equivalente para ambas as técnicas por ocasião do 6.º exame levado a efeito aos 21 dias. Tais aspectos sugerem a possibilidade de adotar a dissecação em época anterior a esse período. Poderá, pois, ser fixada no intervalo entre os 15 e 20 dias do repasto sanguíneo.

Quanto à comparação entre as cepas de *R. neglectus* e *T. infestans*, parece ter havido maior vantagem para aquele, tanto na positividade como no menor tempo. A partir do 5.º exame, os resultados para ambos os insetos tenderam a se aproximar. De qualquer maneira, se for considerado o mesmo período referido no parágrafo anterior, pode-se admitir a sua confirmação nesta segunda série de observações, a despeito de algumas discrepâncias. Estas ocorreram principalmente nos exames mais precoces como se pode observar nas Tabelas 3 e 4 e pelas curvas obtidas com *R. neglectus* (Figs. 1(D) e 2). Assim sendo, levando-se em conta a multiplicidade de fatores que podem influir em tais resultados, será oportuno considerar as condições em que foram levadas a efeito as experiências supracritas.

Inicialmente, as cepas de *T. cruzi* foram todas de origem animal, especificamente de didelfídeos, e totalmente desconhecidas quanto às suas características. Não será possível dizer qual o número exato e, assim, sua influência foge completamente ao controle nos resultados obtidos. Da mesma forma, os gambás (*Didelphis*) utilizados, além de pertencerem a duas espécies, tiveram procedência variada. Assim, a somatória da ação de todos esses fatores deve ser atribuída, necessariamente, grande parte da variabilidade de dados. Já se chamou a atenção para, no caso dos vários marsupiais con-

siderados individualmente, o que se observou com o n.º 466/12, único representante de *D. marsupialis*, que parece ter discrepado sensivelmente dos demais, todos pertencentes à espécie *D. azarae*. Vale a pena assinalar também que, no critério de positividade, adotou-se a presença de formas do parasito em mobilidade ativa. Na verdade, ocorreu, em várias oportunidades, principalmente após os 9.º e 10.º exames, a constatação de formas imóveis, aparentemente mortas, embora o resultado fosse rotulado como negativo. Mas, de qualquer forma, compreende-se que tais aspectos deixassem de ser controlados. É que o objetivo principal residiu no diagnóstico mais rápido de infecções naturais e, por conseguinte, os marsupiais representaram o papel de portadores de infecções de variadas procedências.

Quanto aos triatomíneos empregados, a focalização do *Rhodnius neglectus* deveu-se à facilidade com que esse inseto se mantém e à rapidez com que se reproduz em condições de laboratório. A comparação dos seus resultados com aqueles obtidos em *Triatoma infestans* sofre o prejuízo resultante da constituição das duas colônias. Com efeito, enquanto a primeira foi formada por um clone, a segunda reuniu indivíduos de várias origens. Daí a provável influência desse fator, possivelmente traduzida por variações na sensibilidade à infecção, por parte dos representantes de *T. infestans* empregados. Com efeito, tem sido de longa data considerado que o *T. cruzi* tenderia a se desenvolver melhor em triatomíneos da mesma procedência (Little e col.ª, 1966). Embora isso seja admitido a nível de espécie, não se pode afastar a possibilidade que o mesmo ocorra em relação a grupos infra-específicos. Contudo, em que pese a existência de tais variáveis, forçoso é levar em conta que o tempo ótimo de evolução do parasito no intestino posterior parece ser menor do que se supunha. Como foi citado, algumas observações têm

indicado o tempo de cerca de 25 dias para *Rhodnius prolixus* e, mesmo para *T. infestans*, esse período não iria além dos 20 dias (Rohwedder e col.¹⁰, 1970; Patterson e Miles⁹, 1973). Dessa maneira, embora deva admitir-se a presença de numerosas variáveis, os resultados deste trabalho vêm possibilitar o emprego de *Rhodnius neglectus* para o xenodiagnóstico, pelo menos para animais silvestres, reduzindo o tempo de exame para o intervalo de 15 a 20 dias, contados a partir do repasto sanguíneo.

CONCLUSÕES

Face ao exposto, podemos concluir o que segue.

1. O método do xenodiagnóstico pode ser aplicado para animais silvestres, pelo menos a *Didelphis*, com o emprego de ninfas de 3.º e 4.º estágio de *Rhodnius neglectus*.
2. O melhor rendimento poderá ser obtido mediante o exame do conteúdo intestinal posterior obtido após dissecação.
3. O tempo ótimo parece estar incluído no intervalo compreendido entre 15 e 20 dias após o repasto sanguíneo, mediante a utilização de, pelo menos, cinco insetos.
4. Além da redução do prazo para exame, a utilização de *R. neglectus* apresenta a vantagem de se tratar de triatomíneo facilmente colonizável e de elevada taxa de reprodução em condições de laboratório.
5. De maneira geral, nesta série de observações, o *R. neglectus* mostrou-se superior ao *Triatoma infestans* no que respeita seu desempenho para fins de xenodiagnóstico.
6. Tais resultados abrem possibilidade de sua aplicação em casos humanos da infecção chagásica. Contudo, isso somente poderá ser feito após a realização de novas observações.

FORATTINI, O. P. et al. — Estudo sobre a utilização de *Rhodnius neglectus* para xenodiagnósticos realizados em marsupiais (*Didelphis*). *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **10**: 335-43, 1976.

RSPU-B/328

FORATTINI, O. P. et al. — [The utilization of *Rhodnius neglectus* in xenodiagnosis: a study performed on opossums]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **10**: 335-43, 1976.

SUMMARY: Third and fourth instars of *Rhodnius neglectus* and *Triatoma infestans* were fed on wild opossums (*Didelphis*) with natural infections by *Trypanosoma cruzi* and examined at regular 3.5 days intervals. Best results were obtained with rectum examinations and the infection was more easily detected from the 15th to the 20th days. *R. neglectus* showed better performance than *T. infestans* and so its utilization in the xenodiagnosis technique is suggested.

UNITERMS: American trypanosomiasis. Xenodiagnosis. *Rhodnius neglectus*. *Triatoma infestans*. *Trypanosomiasis reservoirs*. *Didelphis*. *Trypanosoma cruzi*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, S. P. et al. — Verificação da susceptibilidade à infecção por *Trypanosoma cruzi*, dos estágios evolutivos de *Rhodnius neglectus*. *Rev. bras. Biol.*, **33**:43-52, 1973.
2. BRUMPT, E. — O xenodiagnóstico: aplicação ao diagnóstico de algumas infecções parasitárias e em particular à trypanosomose de Chagas. *An. paul. Med. Cirurg.*, **3**:97-102, 1914.
3. DIAS, E. — Técnica do xenodiagnóstico na moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, **35**:335-42, 1940.
4. FREITAS, J. L. P. de — Observações sobre o tempo ótimo para exame de triatomídeos empregados em xenodiagnóstico. *Folia clín. biol.*, S. Paulo, **16**:180-5, 1950.
5. FREITAS, J. L. P. de — Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. São Paulo, 1947. [Tese — Faculdade de Medicina USP].
6. LITTLE, J. W. et al. — A study on the susceptibility of triatomid bugs to some mexican strains of *Trypanosoma cruzi*. *J. Med. Entomol.*, **3**:252-5, 1966.
7. MARSDEN, P. D. et al. — Some observations on xenodiagnosis with *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* in human infections with Bahian strains of *Trypanosoma cruzi*. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **63**:425-6, 1969.
8. MILES, M. A. et al. — A comparison of *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* in the xenodiagnosis of a chronic *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* infection in a rhesus monkey (*Macaca mullatta*). *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **69**:377-82, 1975.
9. PATTERSON, J. W. & MILES, M. A. — Trypanosome density in the rectum of *Rhodnius prolixus* infected with *T. cruzi*. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **67**:442, 1973.
10. ROHWEDDER, R. W. et al. — Apartes al método del examen del xenodiagnóstico previo licuado de los triatomíneos. *Bol. chil. Parasit.*, **25**: 106-10, 1970.
11. SCHENONE, H. et al. — Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. *Bol. chil. Parasit.*, **23**:149-54, 1968.
12. SCHENONE, H. et al. — Bases y rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica humana. *Bol. chil. Parasit.*, **29**:24-6, 1974.
13. ZELEDÓN, R. & VIETO, P. L. — Susceptibilidad de varias especies de triatomíneos a una cepa costarricense de *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. *Rev. Biol. trop.*, S. José, **5**: 195-9, 1957.

Recebido para publicação em 02/06/1976
Aprovado para publicação em 14/06/1976