

TRIPOMASTIGOTA MUITO LARGO COMO PADRÃO MORFOLÓGICO DE CEPAS DO *TRYPANOSOMA CRUZI* DO EXTREMO SUL DO BRASIL?

BRUNO R. SCHLEMPER JR. *, MARIA MÁRCIA I. ISHIDA **,
MÁRIO STEINDEL ** & ROGÉRIO GARGIONI **

Foi estudado, em camundongos, o padrão morfológico-evolutivo de tripomastigotas sanguíneos de cinco cepas silvestres de Trypanosoma cruzi de Santa Catarina. Os resultados mostraram predomínio da forma muito larga (> 70%) ao longo de toda a fase aguda de infecção em quatro cepas de média virulência. Com uma cepa de elevada virulência, a forma delgada foi prevalente no período inicial de infecção seguido de maior ocorrência da muito larga.

Tendo em vista que a maioria das cepas de T. cruzi que possuem predomínio da forma muito larga foram isoladas no sul do Brasil (Rio Grande do Sul e Santa Catarina) e que existem evidências de diferentes comportamentos biológicos entre estes parasitas sanguíneos, os autores sugerem a investigação de possíveis correlações dos padrões morfológicos com os aspectos epidemiológicos e clínicos da doença de Chagas.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi* – cepas silvestres – morfologia de tripomastigotas sanguíneos – virulência – doença de Chagas experimental

O polimorfismo do *Trypanosoma cruzi* foi constatado por Chagas (1909) que descreveu o encontro de formas delgadas e largas no sangue periférico humano e de animais infectados. Pereira da Silva (1959) referiu o encontro de formas delgadas, intermediárias e largas em camundongos experimentalmente inoculados e Brener & Chiari (1963) utilizaram o critério morfológico como parâmetro para classificar sete cepas de *T. cruzi* em três tipos, conforme predominassem os parasitos delgados, largos ou muito largos.

Apesar deste polimorfismo, os trabalhos existentes na literatura, quer com cepas de *T. cruzi* de origem silvestre, de triatomíneos domiciliados ou de casos humanos, mostram que a grande maioria delas exibe, quando inoculadas em camundongos, nítido predomínio da forma larga (Walton et al., 1958; Andrade, Carvalho & Figueira, 1970; Andrade, 1974; Schlemper Jr., 1982; Carneiro, 1982). Raros são os parasitos que apresentam, ao longo de toda a fase aguda, prevalência da forma delgada, como ocorre com as cepas Y e Berenice (Brener & Chiari, 1963) e pouco frequente é o achado de cepas cuja característica morfológica seja a predominância de tripomastigota muito largo (Carneiro, 1982; Urdaneta-Morales, 1983). Comportamento desta natureza também foi registrado por Brener & Chiari (1963) com três cepas de *T. cruzi* do Rio Grande do Sul e classicamente conhecidas por FL, CL e MR. Recentemente verificamos padrão semelhante, com predomínio da forma muito larga, em duas cepas silvestres de *T. cruzi* de Santa Catarina. Uma delas é procedente da capital do Estado (Florianópolis) e a outra de município situado na divisa com o Rio Grande do Sul (Schlemper Jr. et al., 1983).

Em face destes resultados preliminares e objetivando verificar se a forma muito larga é predominante em cepas de *T. cruzi* do extremo sul do país foram estudadas outras três cepas isoladas em diferentes regiões de Florianópolis. No presente trabalho são apresentados os dados sobre a morfologia dos tripomastigotas sanguíneos e a virulência das cinco cepas do parasito isoladas de Santa Catarina. A importância deste tipo de estudo é decorrente da existência de cepas de *T. cruzi* com características biológicas distintas (Brener, 1977) e pelo fato de que os parasitos muito largos são mais adaptados para evoluírem nos vetores (Howells & Chiari, 1975), são pouco aptos para infectarem células de cultura de tecidos (Bertelli & Brener, 1980) e são resistentes à lise mediada por complemento (Krettl & Nussenzweig, 1977).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas cinco cepas de *T. cruzi* de origem silvestre provenientes de Santa Catarina e isoladas em camundongos albinos por inoculação intraperitoneal de tripomastigotas meta-

Trabalho realizado com auxílio do CNPq (PIDE V).

*Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina e Departamento de Saúde Pública da Secretaria Estadual de Saúde. 88049 Florianópolis, SC, Brasil.

**Bolsistas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Recebido para publicação em 27 de setembro de 1985 e aceito em 14 de março de 1986.

cíclicos obtidos das seguintes fontes: cepa SC-1, das fezes de *Panstrongylus megistus* capturado na localidade de Timbopeba, município de São João do Sul, na divisa com o Estado do Rio Grande do Sul; cepa SC-5, das fezes de *P. megistus* capturado na localidade de Morro das Pedras, município de Florianópolis; cepa SC-7, das fezes de *P. megistus* coletado na localidade de Lagoa da Conceição, Florianópolis; cepa SC-15, por xenodiagnóstico, de gambá naturalmente infectado e cepa SC-20, das fezes de *P. megistus*, ambas da localidade de Ribeirão da Ilha, Florianópolis. As cepas eram mantidas em laboratório por passagens seriadas em camundongos albinos, com inoculação intraperitoneal de parasitos sanguíneos. Os repiques para a SC-1 eram feitos com intervalos de 15 a 20 dias e, para as demais, a cada 25-30 dias.

Para a caracterização morfológica do *T. cruzi*, camundongos albinos foram inoculados com parasitos sanguíneos e o estudo feito em esfregaços de sangue corados pelo Giemsa. Para cada dia de contagem eram coradas de 10 a 15 lâminas obtidas de dois a três animais e, percorrendo-se toda a extensão dos esfregaços contavam-se, ao acaso, 300 formas sanguíneas. Em algumas poucas ocasiões, devido a baixa parasitemia existente na fase inicial e final da infecção aguda, contou-se número menor de flagelados. Para a cepa SC-1, a contagem foi efetuada entre o 8º e 16º dia da 18ª passagem, após cerca de 11 meses de isolamento. Para as demais cepas, a contagem diferencial foi iniciada entre 13 e 16 dias e concluída entre 24 e 30 dias de infecção, num total de cinco a oito dias de estudo, realizada entre a 2ª e 10ª passagem em camundongos.

A classificação morfológica dos tripomastigotas sanguíneos foi feita de acordo com os critérios de Brener & Chiari (1963), em formas delgadas ("slender"), largas ("broad") e muito largas ("stout").

O estudo da virulência das cepas foi realizado em camundongos albinos inoculados com 5×10^3 tripomastigotas sanguíneos, conforme técnica e critérios referidos por Schlemper Jr. (1982).

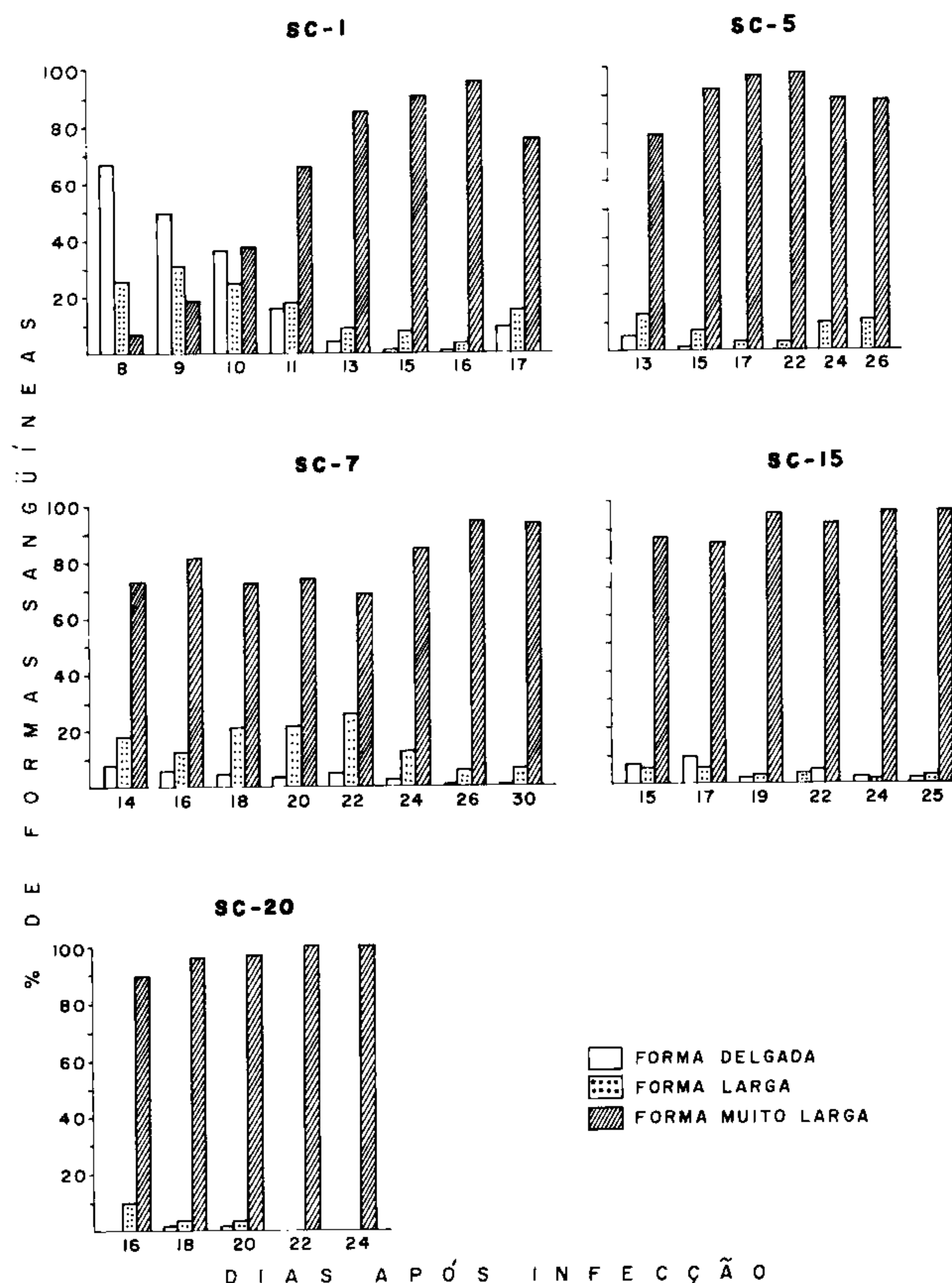


Fig. 1: percentagem de formas delgadas, largas e muito largas de tripomastigotas sanguíneos em camundongos infectados com cepas de *Trypanosoma cruzi* de elevada (SC-1) e média virulência (SC-5, SC-7, SC-15 e SC-20).

RESULTADOS

O estudo do polimorfismo de tripomastigotas sanguíneos das cinco cepas silvestres de *T. cruzi* revelou um padrão morfológico semelhante em todas elas, com nítido predomínio da forma muito larga ao longo de todo o período de observação (Fig. 1). Porém, com a cepa SC-1, de elevada virulência, nos dois primeiros dias de contagem diferencial (8º e 9º dias) observou-se uma maior prevalência da forma delgada que, gradativamente foi diminuindo sua frequência com o desenvolvimento da infecção enquanto que os parasitos muito largos passaram a constituir a maioria absoluta a partir do 11º dia, atingindo até 96,4% dos tripomastigotas contados aos 16 dias. A forma larga, presente em todos os dias de estudo, ocorreu em percentual relativamente baixo, variando de 3,3% a 31,3%.

Com as demais quatro cepas de média virulência (SC-5, SC-7, SC-15, SC-20), o comportamento morfológico do *T. cruzi* foi muito homogêneo, com predomínio absoluto da forma muito larga em todos os dias da fase aguda, em percentuais nunca inferiores a 70% dos parasitos contados. Em várias ocasiões, esta forma constituiu a totalidade ou a quase totalidade dos tripomastigotas, com frequências superiores a 90%. A forma delgada do *T. cruzi* (Fig. 2-A) esteve presente em quase todos os dias, mas sempre com percentuais extremamente reduzidos, jamais ultrapassando 10% dos tripomastigotas e raramente sendo encontrada na fase final de contagem. A forma larga (Fig. 2-B), quase sempre detectada, também ocorreu em percentual muito baixo, excepcionalmente representando 20% dos flagelados.

Os tripomastigotas muito largos são formas grandes, anormalmente largas, com citoplasma intensamente vacuolizado, cinetoplasto volumoso de localização terminal ou sub-terminal e núcleo situado, em geral, em posição mais anterior (Fig. 2-C, D).

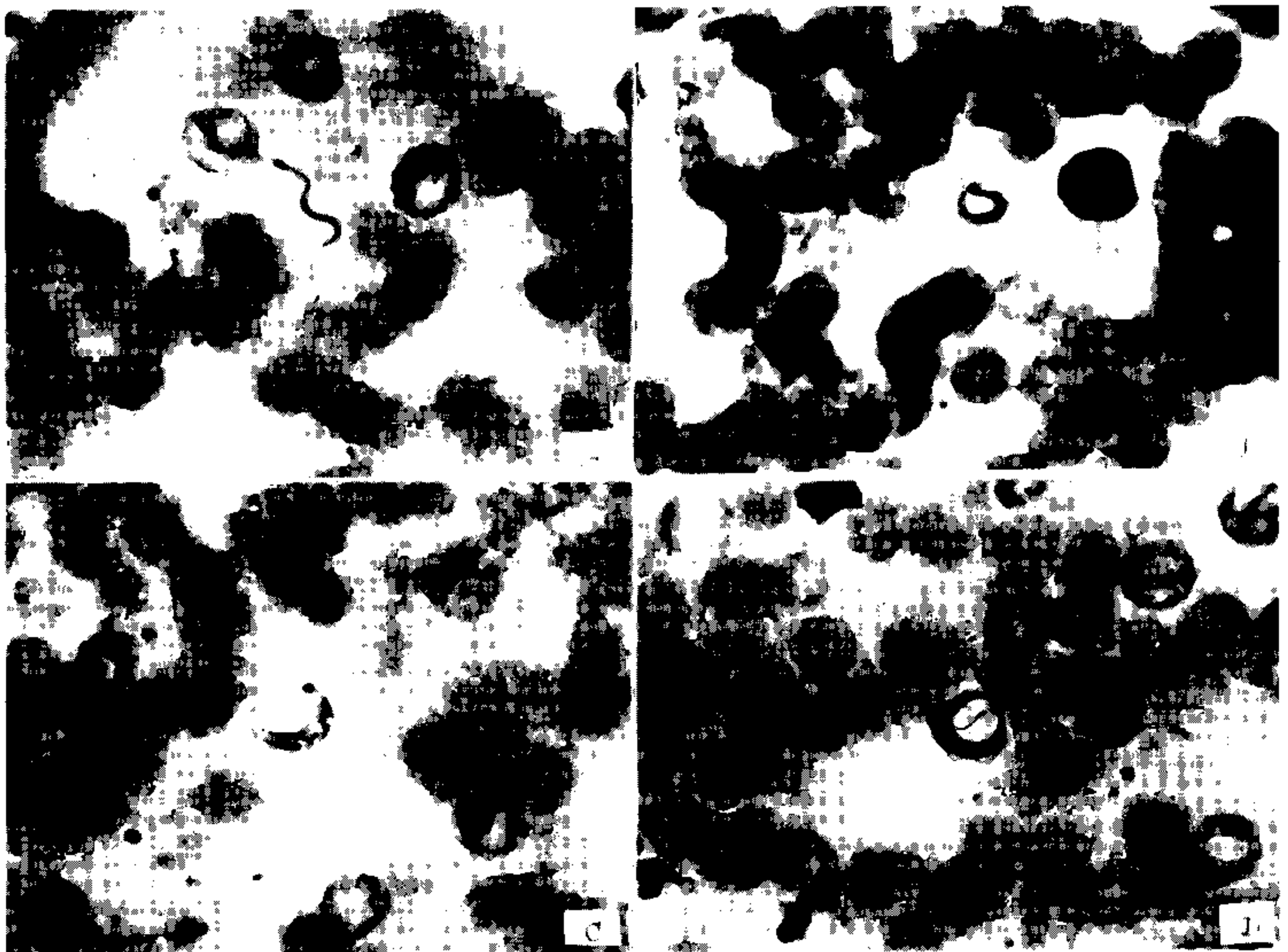


Fig. 2: tripomastigotas sanguíneos de *Trypanosoma cruzi* da cepa SC-1. A – Forma delgada; B – Forma larga; C e D – Formas muito largas (x 1.250).

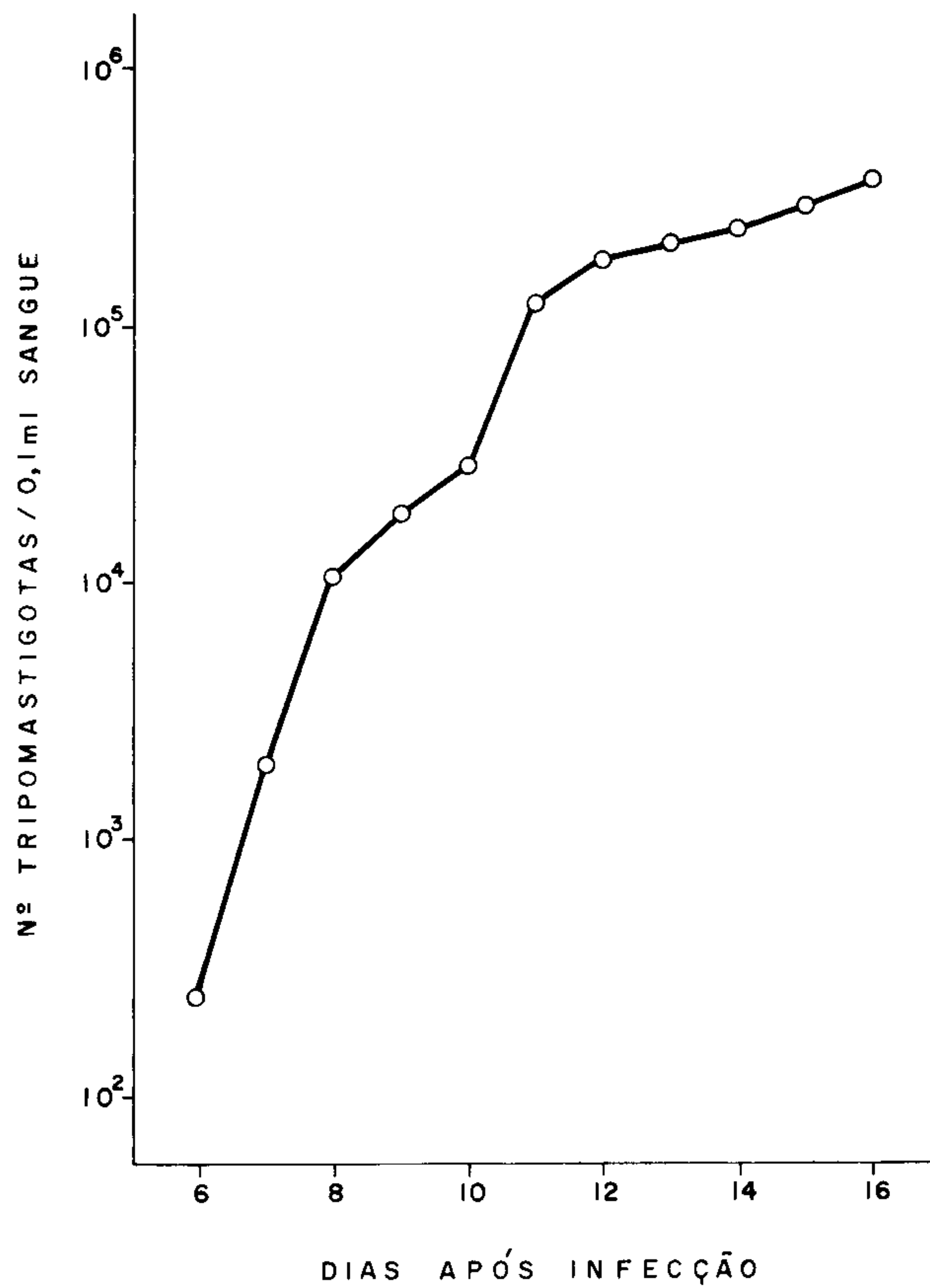


Fig. 3: curva de parasitemia em camundongos inoculados com 5×10^3 tripomastigotas sanguíneos de *T. cruzi* da cepa SC-1, de elevada virulência.

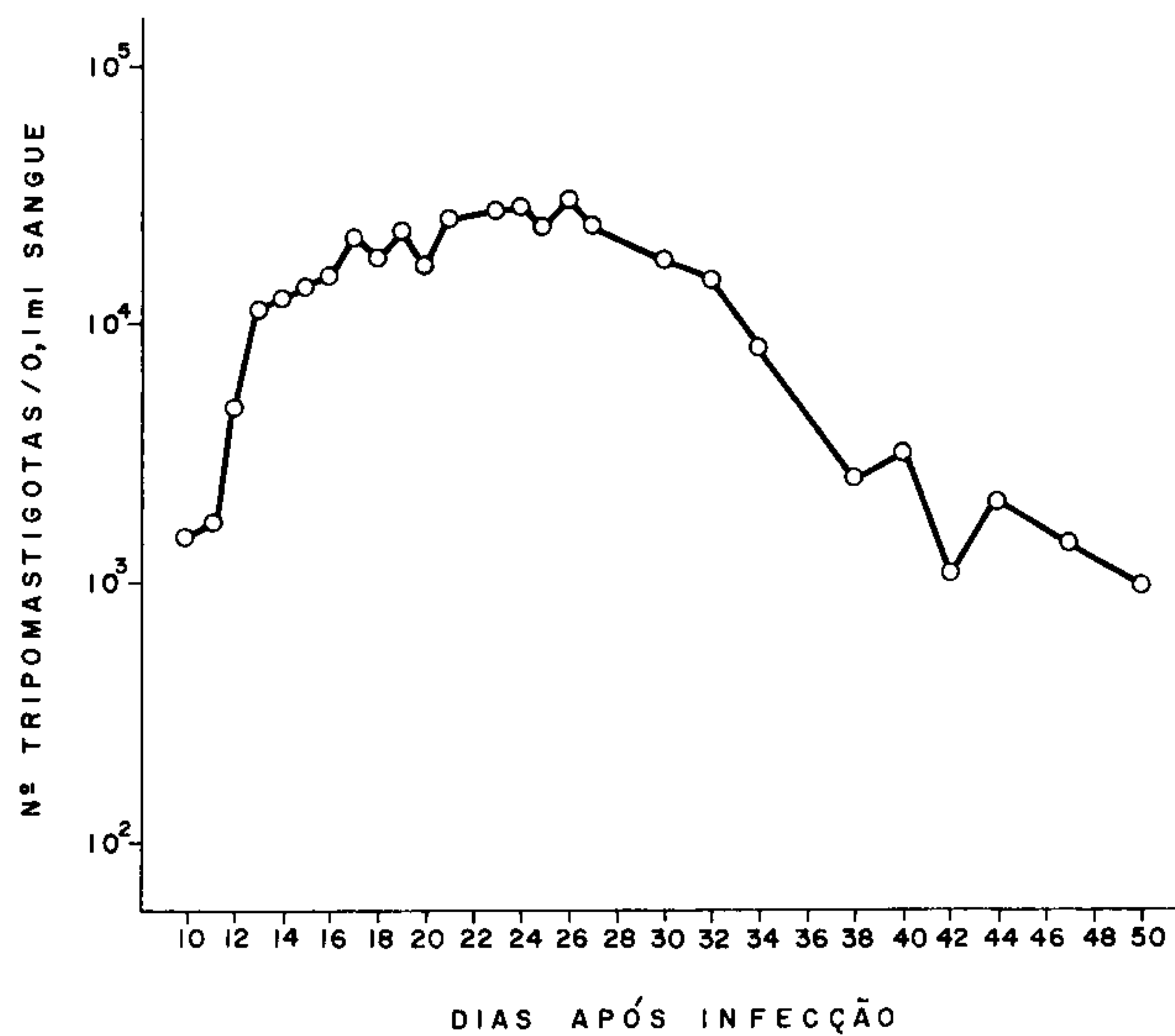


Fig. 4: curva de parasitemia em camundongos inoculados com 5×10^3 tripomastigotas sanguíneos de *T. cruzi* da cepa SC-5, de média virulência.

Em relação à virulência das cepas de *T. cruzi*, a SC-1 foi classificada como de elevada virulência (Fig. 3) por exibir períodos pré-patentes curtos (6 a 13 dias), parasitemia sempre crescente, atingindo até 7×10^5 /0,1ml sangue, e causar a morte de todos os animais. As demais quatro cepas (SC-5, SC-7, SC-15 e SC-20) apresentaram curvas de infecção muito semelhantes entre si e foram classificadas como sendo de média virulência (Fig. 4) por determinarem períodos pré-patentes de 8 a 15 dias, parasitemia máxima de 5×10^4 /0,1ml de sangue, em torno de 30 dias, e mortalidade de 10 a 70%. A virulência das cepas não se alterou com a manutenção em laboratório.

DISCUSSÃO

Os trabalhos sobre o comportamento morfo-biológico de cepas de *T. cruzi* mostram que a existência de variações intra-específicas é um fenômeno muito bem caracterizado e que tem sido evidenciado com o estudo de vários parâmetros experimentais (Schlemper Jr., 1982). Além das diferenciações biológicas as cepas do flagelado são classificadas, de acordo com a morfologia dos tripomastigotas sanguíneos, em forma delgada, larga e muito larga (Brenner & Chiari, 1963). Brenner (1977) introduziu o termo "polar" para agrupar parasitos com características morfológicas, biológicas, imunológicas e bioquímicas bem distintas e utilizou as cepas "Y" e "CL" como representantes "tipos" e que apresentam, respectivamente, predomínio da forma delgada e da muito larga. As cinco cepas estudadas no presente trabalho tiveram comportamento morfológico semelhante às populações do tipo "CL", pois ocorreu predomínio da forma muito larga na fase final ou ao longo de todo o período de observação.

Por outro lado, os autores que realizaram abordagens morfológica-evolutivas do *T. cruzi* em infecções agudas de camundongos, incluindo o presente trabalho, mostraram que os parasitos sanguíneos exibem vários tipos diferentes de comportamento seqüencial. Apesar disto, conforme a Tabela I, a maioria das cepas de *T. cruzi* que circulam na natureza apresentam nítido predomínio da forma larga em toda a infecção ou, pelo menos, na maior parte dela, pois este fenômeno ocorreu com 34 (72,3%) das 47 cepas. Verifica-se, também, que apenas duas cepas (Y e Berenice) possuem predomínio da forma delgada nas duas fases da infecção aguda (Brenner & Chiari, 1963).

Por sua vez, das onze cepas de *T. cruzi* que têm a forma muito larga predominante, oito são procedentes do extremo sul do país. As cinco cepas por nós estudadas (originárias de quatro localidades diferentes de Santa Catarina) e as três descritas por Brenner & Chiari (1963), de pelo menos duas localidades do Rio Grande do Sul, exibiram este tipo de comportamento. Resultados idênticos obtivemos em gambás naturalmente infectados da Ilha de Santa Catarina, pois em dois animais examinados em vários dias sucessivos a forma muito larga foi dominante, constituindo de 70% a 100% dos parasitos contados. Esses dados sugerem que este padrão morfológico possa ser dominante em cepas de *T. cruzi* desta área do país e represente uma característica de distribuição regional localizada. Neste sentido, Andrade, Brodskin & Andrade (1983) mencionaram que cada área geográfica parece ter um mesmo tipo de cepa e Andrade (1974) demonstrou que as cepas isoladas da Bahia exibem predomínio da forma larga.

A identidade morfológica do *T. cruzi* parece ser um caráter intrínseco do parasito, pois o padrão morfológico-evolutivo da cepa é mantido em animais imunologicamente deficientes e em sistemas "in vitro" de cultura de células a 37°C (Urdaneta-Morales, 1983) ou, ainda, utilizando animais como filtros biológicos para determinadas formas do parasita (Pereira da Silva, 1959; Howells & Chiari, 1975). Segundo Urdaneta-Morales (1983) o pleomorfismo do *T. cruzi* não é dependente de anticorpos ou outros mecanismos imunes do hospedeiro e as variações na morfologia seqüencial dos tripomastigotas devem resultar de variações intrínsecas das cepas. A preservação da característica morfológica das cepas após vários anos de manutenção em laboratório foi observada por Belda Neto & Ribeiro (1983). Estes dados sugerem que a morfologia dos parasitos sanguíneos é uma característica constante que independe do hospedeiro e que pode servir como um importante marcador para classificar cepas de *T. cruzi*.

Correlações morfológicas e biológicas experimentais foram demonstradas em várias cepas de *T. cruzi*, com estreita associação entre prevalência da forma delgada e intensa reprodução do parasita na fase inicial de infecção (Brenner, 1965; Andrade, Carvalho & Figueira, 1970; Schlemper Jr., 1982). Idêntica correlação foi observada na cepa SC-1, pois ocorreu prevalência da forma delgada e elevada parasitemia na fase precoce de infecção. Além disso, as cepas que exibem inicialmente predomínio desta forma seguido de prevalência da muito larga são, geralmente, cepas de elevada virulência, com parasitemia sempre ascendente e 100% de mortalidade dos animais. Este curso da infecção foi demonstrado para as cepas CL e FL (Brenner, 1965), bem como por Carneiro (1982), com duas cepas. Igualmente, a cepa SC-1, que é de elevada virulência, apresenta morfologia dos parasitos e curso da infecção nos camundongos semelhantes aos determinados pelas cepas "tipo" CL, sugerindo a existência de correlação entre o comportamento morfológico-evolutivo dos

tripomastigotas sanguíneos e a curva de parasitemia. Aparentemente a parasitemia ascendente é dependente da penetração tissular das formas delgadas e acumulação gradual dos tripomastigotas muito largos na corrente sanguínea (Bertelli & Brener, 1980).

TABELA I

Padrão morfológico evolutivo de tripomastigotas sanguíneos na fase aguda de camundongos infectados com 47 cepas de *Trypanosoma cruzi*

Autores	Cepas de <i>Trypanosoma cruzi</i>			Forma Predominante	
	Designação	Procedência	Nº	Fase Aguda Inicial	Fase Aguda Final
Brener & Chiari (1963)	Y; Berenice	São Paulo	2	delgada	delgada
Walton et al. (1958)		Estados Unidos	1	delgada	larga
Andrade et al. (1970)	Peruana	Peru	1	delgada	larga
Schlemper Jr. (1982)	VL-10; Ig-6	Minas Gerais	2	delgada	larga
Carneiro (1982)	167; 207	Minas Gerais	2	delgada	larga
Andrade et al. (1970)	São Felipe	Bahia	1	delgada = larga	larga
Andrade et al. (1970)	Colombiana	Colômbia	1	larga	larga
Brener & Chiari (1963)	ABC; PNM	Brasil	2	larga	larga
Andrade (1974)	Diversas	Bahia	16	larga	larga
Schlemper Jr. (1982)	VL-2; VL-3; VL-4; VL-7 VL-9; VL-11	Minas Gerais	6	larga	larga
Carneiro (1982)	229; 84	Minas Gerais	2	larga	larga
Carneiro (1982)	144	Minas Gerais	1	delgada	delgada = muito larga
Carneiro (1982)	147	Minas Gerais	1	delgada	muito larga
Urdaneta-Morales (1983)	Brasil	Brasil	1	delgada	muito larga
Brener (1965)	FL; CL; MR	Rio Grande do Sul	3	delgada	muito larga
Presente Trabalho	SC-1	Santa Catarina	1	delgada	muito larga
Presente Trabalho	SC-5; SC-7; SC-15; SC-20	Santa Catarina	4	muito larga	muito larga

Por sua vez, as cepas que apresentam predomínio da forma larga ou da muito larga desde a fase inicial de infecção geralmente exibem padrão único de curva de parasitemia, com ascensão lenta e gradual, picos máximos entre 20 e 30 dias, seguido de diminuição também lenta do número de tripomastigotas e com mortalidade muito variável. Este comportamento foi observado em inúmeras cepas de *T. cruzi* analisadas por vários autores (Brener, 1965; Andrade, 1974; Carneiro, 1982; Schlemper Jr., 1982), bem como pelas quatro cepas de média virulência estudadas no presente trabalho, que cursam sempre com predomínio da forma muito larga e também exibem este tipo de evolução parasitológica. Estes dados reforçam a existência de relação entre o padrão morfológico-evolutivo dos parasitos e o curso da infecção experimental.

Se o predomínio da forma muito larga tem alguma correlação com os aspectos epidemiológicos e clínicos da doença de Chagas na região sul do Brasil é um aspecto a ser investigado. Aparentemente, porém, o predomínio de parasitos muito largos, encontrado nas cepas do presente trabalho, pode ser um dos fatores responsáveis pelos elevados índices de infecção natural pelo *T. cruzi* (84,4%) em ninfas de *Panstrongylus megistus* silvestres na Ilha de Santa Catarina (Schlemper Jr. et al., 1984; Steindel et al., 1984). Da mesma maneira, a taxa de infecção pelo *T. cruzi* em *Triatoma infestans* domiciliado no Rio Grande do Sul é também bastante elevada, da ordem de 56,6% (Coutinho, Pinto & Barbosa, 1952). Observações de outros autores reforçam a participação desta forma do flagelado na infecção dos triatomíneos, pois os parasitos muito largos são mais adaptados para evoluírem nos vetores (Pereira da Silva, 1959; Howells & Chiari, 1975) e não penetram nos tecidos dos animais quando inoculados por via intravenosa, permanecendo circulando no sangue periférico por vários dias (Brener, 1969; Howells & Chiari, 1975). Esta forma é também pouco apta a infectar células de cultura de tecidos (Deane, Kloetzel & Milder, 1976; Bertelli & Brener, 1980), não é aglutinada por soro imune (Krettli & Brener, 1976) e é resistente à lise mediada por complemento (Krettli & Nussenzweig, 1977).

Os achados do presente trabalho sugerem a ampliação dos estudos morfológicos com cepas de *T. cruzi* de diferentes áreas do extremo sul do Brasil (Ishida et al., 1984) e recomendam a investigação de possíveis correlações com os aspectos regionais (clínicos e epidemiológicos) da doença de Chagas.

SUMMARY

The morphological patterns of blood trypomastigotes from five sylvatic *Trypanosoma cruzi* strains from Santa Catarina, South Brazil, were studied during the course of infection in experimentally infected mice. A predominance of stout trypomastigotes (> 70%) was observed during all over the acute phase in four strains of medium virulence. With the remaining strain, of high virulence, the slender forms predominating at the early infection stage were soon also replaced by stout forms.

Since almost all *T. cruzi* strains displaying predominance of this peculiar morphological pattern have been isolated in South Brazil (Rio Grande do Sul, Santa Catarina) and since there

are evidences pointing out to the existence of biological differences among these distinct blood parasites, the authors suggest further investigations of possible correlations between the morphological markers and clinical-epidemiological aspects of Chagas' disease.

Key words: *Trypanosoma cruzi* – sylvatic strains – morphology of blood trypomastigotes – virulence – experimental Chagas' disease

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S.G., 1974. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano (Contribuição ao estudo da patologia geral da doença de Chagas em nosso meio). *Rev. Pat. Trop.*, 3 :65-121.
- ANDRADE, S.G.; CARVALHO, M.L. & FIGUEIRA, R.M., 1970. Caracterização morfo-biológica e histopatológica de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. *Gaz. Med. Bahia*, 70 :32-42.
- ANDRADE, V.; BRODSKIN, C. & ANDRADE, S.G., 1983. Correlation between isoenzyme patterns and biological behaviour of different strains of *Trypanosoma cruzi*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77 :796-799.
- BELDA NETO, F.M. & RIBEIRO, R.D., 1983. Composição morfológica dos tripomastigotas sanguíneos das sub-amostras Bolívia SN e Bolívia SD do *Trypanosoma cruzi*. X Reunião Anual Pesquisa Básica Doença de Chagas. Caxambu.
- BERTELLI, M.S.M. & BRENER, Z., 1980. Infection of tissue culture cells with bloodstream trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.*, 66 :992-997.
- BRENER, Z., 1965. Comparative studies of different strains of *Trypanosoma cruzi*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 59 :19-26.
- BRENER, Z., 1969. The behaviour of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* on the blood-stream of normal and immune mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 63 :215-220.
- BRENER, Z., 1977. Intraespecific variations in *Trypanosoma cruzi*: two types of parasite populations presenting distinct characteristics. *PAHO Sci. Publ.*, 347 :11-21.
- BRENER, Z. & CHIARI, E., 1963. Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 5 :220-224.
- CARNEIRO, M., 1982. Caracterização biológica de amostras de *Trypanosoma cruzi* de diferentes zimodemas e esquizodemas. Tese. UFMG. 90 pp.
- CHAGAS, C., 1909. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1 :159-218.
- COUTINHO, P. do P.; PINTO, O. da S. & BARBOSA, J.A., 1952. Contribuição ao conhecimento da distribuição dos triatomíneos domiciliários e seus índices de infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado do Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, 4 :211-226.
- DEANE, M.P.; KLOETZEL, J. & MILDER, R., 1976. Polymorphism of *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 18 :145-146.
- HOWELLS, R.E. & CHIARI, C.A., 1975. Observations on two strains of *Trypanosoma cruzi* in laboratory mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 69 :435-448.
- ISHIDA, M.M.I.; STEINDEL, M.; GARGIONI, R. & SCHLEMPER JR., B.R., 1984. Caracterização morfológica de tripomastigotas sanguíneos de *Trypanosoma cruzi* de origem silvestre de Santa Catarina. 36ª Reunião Anual Soc. Bras. Progr. Ciência, São Paulo, pág. 890-891.
- KRETTLI, A.U. & BRENER, Z., 1976. Protective effects of specific antibodies in *Trypanosoma cruzi* infections. *J. Immunol.*, 116 :755-760.
- KRETTLI, A.U. & NUSSENZWEIG, R.S., 1977. Presence of immuno-globulins on the surface of circulating trypomastigotes of *T. cruzi* resulting in activation of the alternative pathway of complement and lysis. *PAHO Sci. Publ.*, 347 :71-73.
- PEREIRA DA SILVA, L.H., 1959. Observações sobre o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 1 :99-118.
- SCHLEMPER JR., B.R., 1982. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes com diferentes formas clínicas da doença de Chagas. Tese. UFRJ. 131 pp.
- SCHLEMPER JR., B.R.; STEINDEL, M.; GARGIONI, R. & ISHIDA, M.M.I., 1983. Comportamento morfo-biológico de cepas silvestres do *T. cruzi* de Santa Catarina. X Reunião Anual Pesquisa Básica Doença de Chagas. Caxambu.
- SCHLEMPER JR., B.R.; ISHIDA, M.M.I.; STEINDEL, M. & GARGIONI, R., 1984. Elevados índices de infecção de triatomíneos silvestres e comportamento morfológico de cepas silvestres de *Trypanosoma cruzi* de Santa Catarina. XI Reunião Anual Pesquisa Básica Doença de Chagas, Caxambu.
- STEINDEL, M.; GARGIONI, R.; FARIAS, C.J.M.; OLIVEIRA, R. & SCHLEMPER JR., B.R., 1984. Reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* na Ilha de Santa Catarina. Resultados preliminares. XI Reunião Anual Pesquisa Básica Doença de Chagas. Caxambu.
- URDANETA-MORALES, S., 1983. Pleomorphism in trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* from blood and cell culture. *Tropenmed. Parasitol.*, 34 :225-228.
- WALTON, B.C.; BAUMAN, P.M.; DIAMOND, L.S. & HERMAN, C.M., 1958. The isolation and identification of *Trypanosoma cruzi* from Raccoons in Maryland. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 7 :603-610.