

**DIMINUIÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DO  
*Dipetalogaster maximus* PELA INFECÇÃO DA  
CEPA Y DO *Trypanosoma cruzi* EM CONDIÇÕES DE  
JEJUM ABSOLUTO**

Renato Calixto Badauy,<sup>1</sup> Heloisa Helena Garcia da Silva<sup>1</sup> e Ionizete Garcia da Silva<sup>1</sup>

## RESUMO

Estudaram-se aspectos da relação interespecífica entre o *Dipetalogaster maximus* e a cepa Y do *Trypanosoma cruzi*, através do ciclo evolutivo e da resistência ao jejum. Os triatomíneos foram criados e separados em grupos de 60 insetos para cada experimento. Num grupo, ninfas de 1º estágio de *D. maximus* foram infectadas no 10º dia após a eclosão, com a cepa Y de *T. cruzi*, com a finalidade de esclarecer a relação interespecífica existente entre o inseto hospedeiro e o protozoário parasito. Não houve diferença significativa entre a duração média do ciclo evolutivo de triatomíneos não infectados (201,1 e 202,6 dias) e infectados pelo *T. cruzi* (204,8 e 204,2 dias). A sobrevivência média ao jejum absoluto de *D. maximus* infectados pelo *T. cruzi* foi de 79,2, 97,3, 146,5, 155,0 e 124,4 dias, respectivamente, aos 2º, 3º, 4º, 5º estádios e adultos, e de não infectados foi de 91,2, 117,6, 127,9, 136,4, 198,8 e 127,3 dias, respectivamente, aos 1º, 2º, 3º, 4º, 5º estádios e adultos. Os resultados mostram diminuição significativa da sobrevivência das ninfas infectadas de 2º, 3º e 5º estádios, o que poderá indicar uma típica relação de parasitismo do *T. cruzi* na luz do intestino do vetor, utilizando nutrientes vitais ao hospedeiro e diminuindo a sobrevivência quando em estado de jejum absoluto.

UNITERMOS: *Dipetalogaster maximus*. *Trypanosoma cruzi*. Biologia. Doença de Chagas.

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia, Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico.

Endereço para correspondência: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG, Caixa Postal 131, Goiânia, Goiás, CEP 74001-970. E-mail ionizete@iptsp.ufg.br

## INTRODUÇÃO

*Dipetalogaster maximus* é um triatomíneo de hábito silvestre. Distribui-se no México (Baixa Califórnia), em pedreiras, associado a vários lacertílios, como lagartixas, lagartos e camaleões, sendo que a sua ocorrência em ambiente antrópico é acidental (13, 14, 16). Demonstrou-se a infecção natural com tripanosomas similares ao *T. cruzi* em *D. maximus* (14) e, também, com diferentes cepas, a infecção experimental (14, 17, 18, 27, 28, 30, 31). *D. maximus* não apresenta importância epidemiológica no México, no entanto, tem sido de grande valor na investigação científica, como excelente meio de cultura *in vivo* para replicação de *T. cruzi* (7, 8, 9, 18, 19, 27, 28, 30, 31, 33). A cepa Y do *T. cruzi* foi estudada por vários autores e, em muitos casos, serviu de modelo experimental de laboratório (2, 5, 20, 28, 29, 30, 33). Vários pesquisadores têm utilizado *D. maximus* no xenodiagnóstico, por apresentar boa suscetibilidade ao *T. cruzi* (3, 7, 8, 9, 11, 12, 15, 21, 27, 31, 33, 34). Além disso, a espécie *D. maximus* foi recomendada como um modelo experimental para o xenodiagnóstico na VIII Reunião de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas (9).

Alguns aspectos da biologia de *D. maximus* e da cepa Y do *T. cruzi* já foram estudados (4, 10, 14, 17, 18, 22, 24), bem como aspectos da relação parasito-hospedeiro sob os enfoques hormonais (6), imunológicos (1, 6, 22), ciclo do *T. cruzi* (5, 6) e sua morfogênese (6).

Neste trabalho propõe-se um estudo comparativo do ciclo de vida de *D. maximus* entre triatomíneos infectados e não infectados com a cepa Y do *T. cruzi*, bem como sua sobrevivência ao jejum absoluto, para se conhecer a relação nutricional interespecífica existente entre o inseto e o protozoário.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os triatomíneos originaram-se de ovos colhidos da colônia de *D. maximus* mantida há 16 anos no Laboratório de Biologia, Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. Esta criação foi iniciada a partir de espécimes provenientes da Universidade Federal do Paraná.

Os ovos foram coletados num mesmo dia e colocados em placas de Petri, forradas com papel-filtro, para a incubação. Estas foram colocadas em câmara climatizada e observadas diariamente para a determinação do período de incubação.

Os triatomíneos foram criados de acordo com técnica já definida (23), numa câmara biológica, mantida à temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 5\%$ , com aproximadamente 12 horas de fotofase (32).

Após a eclosão, as ninfas foram individualizadas em frascos de polietileno transparente, medindo 3,8 cm de diâmetro por 7 cm de altura e separadas em dois grupos de 60 triatomíneos para cada experimento. Um grupo foi infectado com a cepa Y do *T.cruzi*, no décimo dia após a eclosão das ninfas.

A alimentação de triatomíneos infectados e não infectados foi em galinhas, oferecida às ninfas de 1º estágio, dez dias após a eclosão das mesmas, e para os 2º, 3º, 4º e 5º estádios, com intervalos de 12, 16, 20, 25 dias, após a ecdise, respectivamente. Os adultos foram alimentados em intervalos de vinte dias.

Os triatomíneos foram infectados a partir de camundongos isogênicos, da linhagem A/Sn, inoculados intraperitonealmente com cerca de 100 mil formas da cepa Y do *T.cruzi*. No oitavo dia após a inoculação realizou-se a contagem do número de tripanosomas a partir de um corte apical na cauda do camundongo. Colheram-se 5µ de sangue, com auxílio de um micropipetador automático, que foram transferidos para uma lâmina coberta com uma lamínula de 22x22 mm sendo, imediatamente, examinados ao microscópio com 400X, quantificando-se o número de tripanosomas na lâmina (5, 26). Após a determinação da parasitemia, os camundongos foram imobilizados em uma tela de náilon, para alimentar os triatomíneos (2, 6). O xenodiagnóstico foi realizado no 1º estágio de *D.maximus* após contagem dos tripanosomas. Nos estádios subseqüentes, as leituras foram realizadas imediatamente após a alimentação do triatomíneo em galinha, pela técnica das dejeções espontâneas (25, 27).

Os frascos utilizados para a criação dos triatomíneos eram de polietileno, cilíndricos e transparentes (3,8 x 7cm), com tampas perfuradas no centro, e a elas colada uma tela fina (23), com cerca de 250 malhas por centímetro quadrado (23). O fundo do frasco era forrado com papel-filtro, e, no seu interior, colocou-se um pedaço de cartolina, perpendicularmente à malha, para facilitar a alimentação. Estes recipientes foram devidamente codificados para cada um dos dois grupos de triatomíneos, acondicionados em uma bandeja de plástico e colocados na câmara biológica (23, 26).

Os estádios ninfais e sua duração foram determinados através das exúvias, recolhidas durante as observações diárias.

Os triatomíneos, utilizados nos experimentos de sobrevivência ao jejum absoluto, foram criados de forma semelhante aos outros experimentos. Individualizaram-se 20 ninfas de cada estágio e 20 adultos de *D.maximus* não infectados e a mesma quantidade para infectados com a cepa Y do *T.cruzi*, em frascos de polietileno transparentes de 3,8 cm de diâmetro x 7 cm de altura, logo após a ecdise. Os triatomíneos permaneceram nos tubos até a morte por completa inanição.

Para a determinação dos períodos de incubação, ninfal e de jejum, foram calculadas as médias e seus respectivos erros-padrão. O teste *t* e a

análise de regressão foram aplicados para verificar a relação interespecífica entre *D.maximus* e o *T.cruzi*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ovos de *D.maximus* são postos de forma livre e isolada; são de cor amarelada na ocasião da postura e tornam-se avermelhados durante a incubação, intensificando-se bastante no final da embriogênese.

O período médio de incubação dos ovos de *D.maximus* foi de  $29,5 \pm 0,2$  dias. Este período foi similar aos encontrados na literatura (4, 24), obtidos à temperatura ambiente, com períodos variando entre 27 e 33 dias, e de 32 e 28 dias, respectivamente, às temperaturas de 25 e 30°C (21).

As durações médias dos estádios ninfais e do período ninfal encontram-se na Tabela 1. Verificou-se que não houve diferença significativa no desenvolvimento de *D.maximus* não infectados e infectados pelo *T.cruzi*. Não houve mortalidade de *D.maximus* durante o seu desenvolvimento.

À temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , o ciclo evolutivo de *D. maximus* teve duração média de 201,8 e 204,7 dias, respectivamente para machos não infectados e infectados; e de 202,5 e 204,2 dias, para fêmeas não infectadas e infectadas pelo *T.cruzi*. Esses dados foram similares aos citados na literatura pertinente (24) nos quais uma duração média do ciclo evolutivo de *D.maximus*, à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , foi de 205,9 e 205,1 dias, respectivamente, para machos e fêmeas.

O *T.cruzi* não interferiu no desenvolvimento de *D.maximus*, pois não se constatou diferença significativa entre os grupos de triatomíneos infectados e não infectados.

Neste trabalho as durações dos estádios ninfais de *D.maximus* foram inferiores às encontradas por outro autor (4), sendo esta diferença mais acentuada nos últimos estádios. Talvez isso tenha acontecido em função de se ter utilizado neste trabalho uma câmara biológica, na qual a temperatura, a umidade e o fotofase eram controladas. Este autor trabalhou em temperatura ambiente com variações entre 22,4 e 27,2°C.

Tabela 1. Duração média, em dias, dos estádios ninfais e do período ninfal, para machos e fêmeas, de *Dipetalogaster maximus* não infectados e infectados com a cepa Y do *Trypanosoma cruzi*

Estádio	NÃO INFECTADOS		INFECTADOS	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
1 <sup>o</sup>	22,05±0,05a	22,05±0,05a	21,70±0,10a	21,65±0,11a
2 <sup>o</sup>	24,80±0,09a	24,85±0,11a	26,35±0,13a	26,10±0,12a
3 <sup>o</sup>	31,40±0,13a	31,85±0,17a	31,65±0,28a	31,35±0,17a
4 <sup>o</sup>	39,55±0,27a	40,30±0,48a	38,95±0,21a	39,95±0,29a
5 <sup>o</sup>	53,70±0,53a	53,95±0,41a	56,10±0,60a	55,15±0,68a
P. NINFAL	171,50±0,66a	173,05±0,63a	174,75±0,73a	174,20±0,94a

Obs.: As médias seguidas da mesma letra não apresentam diferenças significativas entre si, pelo teste *t* e análise de regressão, ao nível de 5%. P.=período. ± =erro-padrão da média.

Tabela 2. Sobrevivência média de ninfas e adultos de *Dipetalogaster maximus* não infectados e infectados com a cepa Y do *Trypanosoma cruzi*, submetidos ao jejum absoluto (dias)

ESTÁDIO	NÃO INFECTADOS	INFECTADOS
1 <sup>o</sup>	91,20 ± 2,34	-
2 <sup>o</sup>	117,65 ± 3,58a	79,20 ± 3,95b
3 <sup>o</sup>	127,90 ± 4,40a	97,30 ± 4,09b
4 <sup>o</sup>	136,40 ± 10,45a	146,55 ± 4,91a
5 <sup>o</sup>	198,85 ± 9,85a	155,25 ± 3,29b
ADULTOS	127,35 ± 5,52a	124,35 ± 6,52a

Obs.: As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste *t*, ao nível de 5%.

A relação interespecífica entre o *D.maximus* e o *T.cruzi* pode ser caracterizada como a de hospedeiro-parasita, como foi demonstrada na experimentação de sobrevivência ao jejum absoluto, na qual o tripanosoma diminuiu significativamente a longevidade do triatomíneo, nos 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> estádios. Isso pode significar que o tripanosoma, além de viver e reproduzir na luz intestinal, servindo-se do metabolismo, durante a digestão sangüínea do inseto, pode retirar nutrientes vitais do hospedeiro quando este estiver em jejum, diminuindo-lhe a sobrevivência. Na relação parasito-hospedeiro, a literatura pertinente(6) mostra uma interação harmônica quando o triatomíneo

está alimentado durante as fases do ciclo, incluindo a morfogênese (6) do *T.cruzi*; ou ainda favorável quando estão presentes, no intestino, microrganismos simbiotes, sugerindo um fenômeno de mutualismo e simbiote-vetor (6, 22). Isso não possibilita comparação com o presente trabalho, em que se utilizou o parâmetro jejum. Com relação à população parasitária de *T.cruzi* na luz intestinal do triatomíneo, vários fatores (6, 22, 35) são relacionados como favoráveis, como volume de sangue, as diferenças fisiológicas no microambiente do tubo digestivo entre as espécies de triatomíneos e as condições de temperatura. Uma situação mais característica da relação parasito-hospedeiro foi mostrada pela resposta imunológica (1) do triatomíneo ao *T.cruzi*, mas não se incluiu o estado de jejum que foi um dos parâmetros utilizados no estudo.

#### SUMMARY

Aspects of biological interaction between *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Reduviidae) and the *Trypanosoma cruzi* strain Y (Kinetoplastida, Trypanosomatidae)

Aspects of *Dipetalogaster maximus* biology were studied in *Trypanosoma cruzi* (strain Y) infected and parasite-free insects in order to understand the interspecific relationship between host insect and the protozoan parasite. Sixty first instar nymphs, infected with *T. cruzi* ten days after hatch, and sixty parasite free first instar nymphs were reared at 28<sup>o</sup> ± 1<sup>o</sup>C and 70 ± 5% humidity. Medium period of nymphal development including 30 days of egg incubation was 201.1 and 204.8 days for uninfected and infected males and 202.5 and 204.2 days for uninfected and infected females. Medium time survival after starving was 79.2; 97.3; 146.5; 155.0; and 124.2 days for 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> instar nymphs and adults and 91.2; 117.6; 127.9; 136.4; 198.8 and 127.3 days for uninfected 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup> and adults. The results show significant decrease on the survival of infected nymphs of 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> and 5<sup>o</sup> instars. This may indicate a typical *T. cruzi* parasitism relationship in the vector's intestine which may utilize vital nutrients to the host, thus decreasing survival when in a state of absolute fast.

KEYWORDS: *Dipetalogaster maximus*. *Trypanosoma cruzi*. Biology. Chagas' disease.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Azambuja, P; Mello, C.B.; Feder, D. & Garcia, E.S. Influência do sistema de defesa celular e humoral dos triatomíneos no desenvolvimento de *Trypanosoma cruzi*. In: Carcavallo, R.U.; Girón, I.G.; Jurberg, J. & Lent, H. Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas. Ed.Fiocruz, II:709-733, 1998.

2. Barbosa, C.A.L. Estudo da infectividade da cepa Y de *Trypanosoma cruzi* mantida por longo período em meio de cultura, após passagem em triatomíneos. *Rev.Pat.Trop.*, 18: 159-165, 1989.
3. Barretto, A.C.; Marsden, P.D.; Cuba, C.C. & Alvarenga, N.J. Estudo preliminar sobre o emprego de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae) na técnica do xenodiagnóstico em forma crônica da doença de Chagas. *Rev.Inst.Med.trop., São Paulo*, 20:183-189, 1978.
4. Barretto, A.C.; Prata, A.R.; Marsden, P.D.; Cuba, C.C. & Trigueira, C.P. Aspectos biológicos e criação em massa de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae). *Rev. Inst.Med.Trop. São Paulo*, 23:18-27, 1981.
5. Brener, Z. *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Belo Horizonte, Tese de Livre Docência -Livre. Faculdade de Odontologia e Farmácia de Minas Gerais, 1961. 99 p.
6. Brener, Z. *O parasito: relações hospedeiro-parasito*. In: Brener, Z. & Andrade, Z. *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Guanabara Koogan. 2-41, 1979.
7. Castro, C.N. Estudo longitudinal da parasitemia na doença de Chagas e sua correlação com a evolução clínica. *Rev.Pat.Trop.*, 24:323-432, 1995.
8. Castro, C.N.; Alves, M.T. & Macedo, V.O. Importância da repetição do xenodiagnóstico para avaliação da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.* 16:98-103, 1983.
9. Chiari, E. Padronização do xenodiagnóstico. *Rev.Soc.Bras.Med. Trop.*, 25(supl III):40-42, 1992.
10. Costa, J.M.; Cunha, V.; Jurberg, J. Estudo bionômico de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894)(Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): III. Dinâmica populacional. *Mem. Inst.Oswaldo Cruz*, 87(supl.I): 73-80, 1992.
11. Cuba, C.A.C.; Alvarenga, N.J.; Barretto, A.C.; Marsden, P.D. & Chiarini, C. Nuevos estudios comparativos entre *Dipetalogaster maximus* e *Triatoma infestans* en xenodiagnóstico de la infección chagásica crónica humana. *Rev.Inst.Med.Trop., São Paulo*, 20:145-151, 1978.
12. Cuba, C.A.C.; Alvarenga, N.J.; Barretto, A.C.; Marsden, P.D. & Gama, M.P. *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Triatominae) for xenodiagnosis of patients with serologically detectable *Trypanosoma cruzi* infections. *Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg.*, 73:524-527, 1979.
13. Lent, H & Wygodzinsky, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull.Am.Mus.Nat.Hist.*, 163:127-520, 1979.
14. Luz, C.M.; Romero, G.A.S. & Marsden, P.D. Comprimento total de duas populações de *Dipetalogaster maximus*. *Rev.Soc.Bras. Med.Trop.*, 28:57, 1995.
15. Marsden, P.D.; Barretto, A.C.; Cuba, C.A.C.; Gama, M.B. & Akers, J. Improvements in routine xenodiagnosis with first instar *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae). *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 28:649-652, 1979.
16. Marsden, P.D.; Cuba, C.C.; Alvarenga, N.J & Barretto, A.C. Report on a field collection of *Dipetalogaster maximus*. *Rev.Inst.Med.Trop.São Paulo*, 21:202-206, 1981.
17. Meireles, D.J.; Kasten, F.L.; Garcia-Zapata, M.T.A. & Marsden, P.D. No change in one biological parameter for *Dipetalogaster maximus* after 20 years of laboratory colonisation. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, 28:53, 1995.
18. Nakano, R.; Badauy, R.C.; Santos, L.G.P. dos; Souza, R.C.S.; Bernardini, M.C.; Antunes, S.M.; Rocha, A.P. & Silva, I.G. Criação em grande escala de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Hemiptera, Reduviidae), em condições de laboratório e aspectos da fecundidade, fertilidade e longevidade. *Rev. Pat.Trop.*, 23:46, 1994.
19. Ryckman, R.E. & Ryckman, A.E. Epizootiology of *Trypanosoma cruzi* in Mexico (Hemiptera, Reduviidae) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *J.Med.Ent.*, 4:180-188, 1967.
20. Santos, A.H.; Silva, I.G. da & Batista, J.D. Suscetibilidade da cepa Y de *Trypanosoma cruzi* em diferentes espécies de triatomíneos. *Rev.Goiana Med.*, 39:17-22, 1993/1994.
21. Santos, A.H. dos; Silva, I.G. da; Rassi, A. Estudo comparativo entre o xenodiagnóstico natural e o artificial, em chagásicos crônicos. *Rev.Soc.Bras.Med. Trop.*, 28:367-373, 1995.
22. SHERLOCK, I.A. *Vetores*. In: Brener, Z. & Andrade, Z. *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Guanabara Koogan, 42-88, 1979.
23. Silva, I.G. da Influência da temperatura na biologia de triatomíneos. I. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae). *Rev.Goiana Med.*, 31:1-37, 1985.
24. Silva, I.G. da Influência da temperatura na biologia de triatomíneos. XIII. *Dipetalogaster maximus* Uhler, 1894 (Hemiptera, Reduviidae). *Anais Soc.Ent.Bras.*, 19:111-119, 1990a.
25. SILVA, I.G. da Nova técnica para leitura do xenodiagnóstico. *Rev.Goiana Med.*, 36:35-40, 1990b.
26. Silva, I.G. da & Ferreira, I.R. Influência da fonte sanguínea na multiplicação do *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma infestans* (Klug, 1834) e *Rhodnius neglectus* Lent, 1954. *Rev.Goiana Med.*, 36:41-48, 1990.
27. Silva, I.G. da; Luquetti, A.O & Silva, H.H.G. da Importância do método de obtenção das dejeções espontâneas dos triatomíneos na avaliação da suscetibilidade triatomínica para o *Trypanosoma cruzi*. *Rev.Soc.Bras.Med. Trop.*, 26: 19-24, 1993.
28. Silva, I.G. da; Nakano, H.; Silva, H.H.G. da; Nakano, R. Estudo da suscetibilidade de diferentes espécies de triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) ao *Trypanosoma cruzi*(Kinetoplastida, Trypanosomatidae). *An.Soc.Ent.Bras.*, 23: 495-511, 1994b.
29. Silva, I.G. da & Salha, L.A. Aspecto da suscetibilidade dos triatomíneos ao *Trypanosoma cruzi* na busca de um modelo experimental. *Rev.Pat.Trop.*, 23:93-100, 1994.
30. Silva, I.G. da; Santos, L.P.G. dos; Nakano, R. & Badauy, R.C. Capacidade de replicação da cepa Y de *Trypanosoma cruzi* em diferentes espécies de triatomíneos. *Rev.Pat.Trop.*, 23:197-204, 1994a.
31. Silva, I.G. da; Santos, A.H. dos & Rassi, A. Viabilidade do xenodiagnóstico artificial para exames de rotina em laboratório em substituição ao método tradicional. *Rev.Soc. Bras.Med.Trop.*, 28: 97, 1995a.
32. Silva, I.G. da & Silva, H.H.G. da Influência da temperatura na biologia de triatomíneos. II. *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev.Pat.Trop.*, 34:29-37, 1988.
33. Silva, I.G. da & Silva, H.H.G. da Suscetibilidade de 11 espécies de triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) à cepa Y de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). *Rev. Bras.Ent.*, 37:459-463, 1993.
34. Silva, I.G. da; Silva, H.H.G. da; Ostermayer, A.L. & Rezende, J.M. de Positividade do xenodiagnóstico de acordo com a faixa etária, o sexo e a forma clínica da doença de Chagas. *Rev.Pat.Trop.*, 24:193-197, 1995b.
35. Zeledón, R. Host-parasite relationship in the vector. Symposium on *New approaches in American Trypanosomiasis Research*. Ed. Pan American Health Organization, 9-13, 1976.