

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA SOBRE *TRYPANOSOMA* (*TRYPANOZOON*) *EVANSI* NO PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE. ESTUDO DE RESERVATÓRIOS

V. L. B. NUNES¹, E. T. OSHIRO¹, M. E. C. DORVAL¹, L. A. M. GARCIA², A. A. P. DASILVA³ & A. R. BOGLIOLO⁴

(1) Departamento de Patologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEP 79070-900, Campo Grande, MS; (2) Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, CEP 70910-900, Brasília, Distrito Federal; (3) Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, CEP 31270-910, Belo Horizonte, MG; (4) Departamento de Patologia, Faculdade de Ciências de Saúde, Universidade de Brasília, CEP 70910-700, Distrito Federal.

SUMÁRIO: Foi constatada a presença de infecções naturais por *Trypanosoma* (*Trypanozoon*) *evansi* (Steel, 1885) Balbiani 1888, em capivaras *Hydrochaeris hydrochaeris* na sub-região da Nhecolândia, no Pantanal sul-mato-grossense, Brasil. A infecção foi observada em 45% (n = 53) das capivaras examinadas, sendo que 13 apresentavam, por ocasião dos exames, sintomatologia compatível com "Mal de Cadeiras". Infecção por *T. evansi* foi, também, detectada em 25% (n = 16) dos quatis *Nasua nasua* examinados, sendo este o primeiro relato desse animal com infecção natural por *T. evansi*. O diagnóstico de *T. evansi* foi baseado na morfologia do parasita, comportamento em camundongos e ratos e em estudos de isoenzimas. Não foi constatada a ocorrência de *T. evansi* nos animais domésticos examinados.

PALAVRAS-CHAVE: *Trypanosoma evansi*, capivara, *Hydrochaeris hydrochaeris*, quati, *Nasua nasua*, isoenzimas, reservatórios.

INTRODUÇÃO

Considera-se que *T. evansi*, agente etiológico de "Mal de Cadeiras" em equinos tenha sido introduzido nas Américas através de animais domésticos infectados, importados do Velho Mundo (HOARE, 1972) e que as cepas do parasita, presentes no Novo Mundo, sejam provenientes da África Ocidental (GIBSON *et alii* 1980).

As primeiras citações da ocorrência de "Mal de Cadeiras" no Brasil datam do último século (LACERDA, 1885; WALLACE, 1889) e a presença da tripanosomíase já foi constatada em vários estados brasileiros (VITAL BRASIL, 1907; NEIVA & PENNA, 1916; KUBIAK & MOLFI, 1953). Em Mato Grosso do Sul relatos oficiais (PROENÇA, 1939; PEREIRA & ALMEIDA, 1941; LARANGEIRA *et alii*, 1983) e comunicações verbais de veterinários e fazendeiros dizem da presença da parasitose em equinos e capivaras, tanto em áreas do Pantanal como do planalto. Esse fato é de interesse para a região, uma vez que a economia do Estado se baseia na bovinocultura, onde os cavalos são indispensáveis ao manejo dos rebanhos, além de contribuírem diretamente na receita de exportações de carne.

É sabido que nas Américas, os focos de "Mal de Cadeiras" podem ser mantidos não só por animais domésticos, equinos, bovinos e cães como, também, por animais silvestres, tais como capivaras e morcegos (SHAW, 1977). Assim, o objetivo deste

trabalho foi o de se conhecer os reservatórios domésticos e silvestres de *T. evansi* em área do Pantanal sul-mato-grossense, região endêmica de "Mal de Cadeiras", bem como, o de caracterizar intrinsecamente as amostras deste parasito através da eletroforese de isoenzimas (GIBSON *et alii*, 1983; BOLD, 1988; STEVENS *et alii*, 1989).

MATERIAL E MÉTODOS

Área estudada: Os trabalhos de campo foram conduzidos na fazenda Nhumirim (18° 59'S., 56° 39'W), localizada no Pantanal sul-mato-grossense, na região da Nhecolândia, no município de Corumbá, de propriedade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.

Inquérito parasitológico: Entre dezembro de 1984 e outubro de 1988 foram examinadas amostras de sangue de 255 animais domésticos: 52 equinos, 152 bovinos, 51 bubalinos e de 230 animais silvestres: 29 carnívoros (16 quatis e 13 raposas-do-mato), 31 artiodáctilos (porcos selvagens), 6 edentados (tatus), 9 marsupiais (5 gambás e 4 marmosas), 102 pequenos roedores e 53 capivaras (22 capturadas nos arredores da fazenda e 31 mantidas, para estudos, em condições de semicativeiro, nas proximidades da sede). Foram, também, examinadas amostras de sangue de cães com suspeita de "Mal de Cadeiras", atendidos em clínicas veterinárias de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. De cada animal, de acordo com o

Tabela 1 - Origem das amostras

AMOSTRA	TRIPANOSOMA	ORIGEM
ERS 5	<i>T. evansi</i>	Quati macho, adulto, aspecto saudável capturado na fazenda Nhumirim, município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. 18° 59' S. 56° 39' W. Isolada em 21 de setembro de 1988.
ERS 16	<i>T. evansi</i>	Quati fêmea, adulta, aspecto saudável capturada na fazenda Nhumirim, município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. 18° 59' S. 56° 39' W. Isolada em 22 de setembro de 1988.
ERS 23	<i>T. evansi</i>	Quati fêmea, adulta, aspecto saudável capturada na fazenda Nhumirim, município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. 18° 59' S. 56° 39' W. Isolada em 22 de setembro de 1988.
E 110	<i>T. evansi</i>	Capivara fêmea, jovem, aspecto saudável capturada na fazenda Nhumirim, município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. 18° 59' S. 56° 39' W. Isolada em 22 de setembro de 1985 (Stevens <i>et alii</i> 1989).
H	<i>T. evansi</i>	Cadela, 18 meses, aspecto doentio, proveniente de uma fazenda nas proximidades do Pantanal sul-mato-grossense. Isolada em 1986 (Stevens <i>et alii</i> 1989).
ERS 17	<i>T. cruzi</i>	Quati macho, aspecto saudável capturado na fazenda Nhumirim, município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. 18° 59' S. 56° 39' W. Isolada em 25 de outubro de 1988.
ERS 18	<i>T. cruzi</i>	Quati fêmea, aspecto saudável capturada na fazenda Nhumirim, município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. 18° 59' S. 56° 39' W. Isolada em 25 de outubro de 1988.

porte do mesmo, foram colhidos, em condições assépticas, de 1 a 5 ml de sangue. Para tanto utilizou-se punção cardíaca nos animais silvestres de pequeno porte, punção de veia femoral nos de médio porte e punção de veia jugular, quando de animais domésticos. As amostras foram processadas, imediatamente, para a pesquisa de tripanosoma, através de: centrifugação em tubos de microhematócrito, semeadura em meio 3N, enriquecido com BHI (infusão de cérebro e coração de bovino) e inoculação intraperitoneal em camundongos (0,5 ml) ou em ratos (1,0 ml). Quando de amostras provenientes de capivaras foram utilizados ratos esplenectomizados. A observação microscópica dos tubos de microhematócrito (WOO, 1969) foi realizada de imediato e os que apresentavam tripomastigotas foram quebrados junto à camada do creme leucocitário, para preparação de esfregaços delgados, corados pela técnica de Giemsa e observação morfológica do tripanosoma. Os animais experimentalmente inoculados foram transportados para Campo Grande e examinados duas ou mais vezes por semana, por um período mínimo de 30 dias, através de exame de sangue a fresco ou pela técnica do microhematócrito. A partir dos camundongos ou ratos que apresentaram tripanosomemia foram preparados esfregaços delgados de sangue, corados pela técnica de Giemsa para estudos morfológicos do tripanosoma.

Amostras de sangue com tripanosomas morfológicamente semelhantes ao *T. evansi*, após tratamento com 7,5% de glicerina e 5 µg/ml de heparina, foram criopreservadas em nitrogênio líquido e enviadas para o Departamento de Bioquímica, ICB, da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, para estudos de isoenzimas. Foram submetidas à eletroforese amostras provenientes de quati (*T. evansi* e *T. cruzi*) e comparadas com padrões de *T. evansi* anteriormente descritos (STEVENS *et alii*, 1989) (Tabela 1).

Eletroforese de enzimas: As amostras foram degeladas e inoculadas em camundongos Balb/C e posteriormente em camundongos Swiss. Para as amostras isoladas de capivara foram utilizados animais irradiados (600 rad). As parasitemias foram determinadas pelo exame a fresco de sangue retirado da

cauda, usando o método "matching" (HERBERT & LUMSDEN, 1976). Os tripanosomas foram separados do sangue, através de cromatografia por troca iônica em coluna de DEAE celulose (LANHAM & GODFREY, 1970). Os organismos isolados foram lavados em PSG 1000g, 4°C por 15 minutos e o "pellet" obtido ressuspendido em igual volume de água destilada contendo 1mM ácido E-amino-n-caproico, 1 mM de dithiothreitol e 1 mM EDTA. A ressuspensão foi congelada e descongelada 3 vezes em nitrogênio líquido e centrifugada a 10.000 g, 4°C, 45 minutos. O sobrenadante contendo as enzimas solúveis foi submetido à eletroforese horizontal em gel de amido de camada fina.

Foram estudadas 7 enzimas: EC 2.6.1.2, alanina aminotransferase (ALAT); EC 5.3.1.9, glicose fosfato isomerase (GPI); EC 2.7.5.1, fosfoglicomutase (PGM); EC 1.1.1.40, enzima málica (ME); EC 1.1.1.37, malate desidrogenase (MDH); EC 1.1.1.44, fosfogliconato desidrogenase (6 PGD) e EC 1.1.1.49, glicose 6-fosfato-desidrogenase (G6PD) (BOGLIOLO, 1983).

RESULTADOS

Inquérito parasitológico: Infecção por *T. evansi* foi observada em 45% (n = 53) das capivaras examinadas. O índice de prevalência foi de 58% (n = 31) entre as capivaras em semicativeiro e de 27% (n = 22) entre as capturadas nos arredores da fazenda.

Infecção natural por *T. evansi* foi, também, detectada em 25% (n = 16) dos quatis examinados (NUNES & OSHIRO, 1990; OSHIRO *et alii*, 1990).

Não foi constatada a presença de *T. evansi* nos animais domésticos examinados.

Na detecção das infecções houve nítida concordância entre os resultados obtidos, através de centrifugação em tubos de microhematócrito, e a inoculação em animais de laboratório.

Comportamento em camundongos e ratos: Ratos não esplenectomizados e camundongos, inoculados com amostras de *T. evansi*, provenientes de capivara apresentaram parasitemias flutuantes que, raramente, ocasionaram a morte dos mesmos. Em ratos esplenectomizados, no entanto, as infecções determinaram parasitemias crescentes que culminaram com a morte dos animais em um período de, no máximo 2 meses. As amostras oriundas de quati mostraram maior virulência para camundongo, que as de capivara, porém, menor que as de cães, as quais determinaram, em pouco tempo, parasitemias fulminantes.

Morfologia: Esfregaços delgados de sangue mostraram que os tripanosomas pertenciam ao subgênero *Trypanozoon*, de acordo com as descrições de HOARE (1972). Cerca de 30% dos tripanosomas isolados de capivara e de quati apresentaram discinetoplastia, enquanto que nos demais o cinetoplasto era bem visível. Os tripanosomas provenientes de cães, mostraram discinetoplastia na maioria das formas.

Eletroforese de enzimas: Das 37 enzimas estudadas até o momento (GIBSON *et alii*, 1980; BOID, 1988; STEVENS *et alii*, 1989) somente 9 apresentaram polimorfismo em *T. evansi*. Destas, 4 foram aqui analisadas (ALAT, ME, PGM e G6PD), além de outras 3 que se mostraram monomórficas em estudos anteriores (GPI, MDH e 6PGD). Este é o primeiro relato de

Tabela 2 - Padrão enzimático

amostra	ME	GPI	G6PD	PGM	MDH	6PGD	ALAT
H	2	1	1	2	1	1	2
E 110	2	1	1	2	1	1	2
ER 05	2	1	1	2	1	1	2
ERS 16	2	1	1	2	-	-	-
ERS 23	2	1	2	2	1	1	2

A classificação das enzimas, ME, GPI, PGM, MDH, 6PGD, e ALAT seguem a nomenclatura de GIBSON *et alii*, 1980 e STEVENS *et alii*, 1989. A nomenclatura de G6PD segue a adotada por BOID, 1988.

caracterização de *T. evansi* em isolados de quati. Os resultados aqui obtidos indicam que todas as amostras de *T. evansi* estudadas até o momento no Pantanal-sul-mato-grossense apresentam o mesmo padrão isoenzimático para todas as enzimas estudadas. A única exceção ocorreu com a amostra ERS 23 que apresentou diferença no padrão de G6PD (Figura 1). Amostras de *T. cruzi* isoladas de quati apresentaram padrão eletroforético distinto para todas as enzimas, exceto PGM, como esperado. A homogeneidade no padrão eletroforético para as enzimas analisadas foi observada para *T. evansi* isolados não só de quati como também de cão e de capivara (Tabela 2).

Interessante observar que os perfis aqui descritos coincidem com os zimodemas observados em *T. evansi* isolados na Colômbia, no Kênia (STEVENS *et alii*, 1989) e no Sudão (BOID, 1988).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A importância da infecção por *T. evansi* em capivara decorre, não só da possibilidade desse roedor comportar-se como reservatório natural do parasita, podendo ocorrer disseminação posterior para outros animais, domésticos e silvestres (MIGONE, 1910; MORALES *et alii*, 1976), como também, da patogenicidade do tripanosoma para o próprio animal (CLARK & DUNN, 1933; OJASTI, 1973). Esse fato foi, também constatado neste trabalho, uma vez que, entre 24 capivaras parasitadas, 13 apresentavam caquexia e andar cambaleante, sinais estes compatíveis com as descrições clínicas para o "Mal de Cadeiras". Deve-se, ainda, acrescentar que dos 11 animais parasitados que não mostravam, por ocasião dos exames, qualquer alteração clínica sugestiva da tripanosomíase, um foi a óbito, cerca de 3 meses após o diagnóstico da infecção, apresentando, então, sinais sugestivos da parasitose. Tratava-se de um animal mantido, para estudos, em condições de semicativeiro e que não recebera tratamento contra a tripanosomíase. Assim sendo, nas regiões endêmicas para *T. evansi*, onde estão sendo desenvolvidos projetos sobre biologia e manejo de capivara (ALHO, *et alii* 1987), é conveniente que os animais sejam examinados periodicamente para o tripanosoma e tratados, quando necessário, uma vez que a presença do parasita pode interferir com os trabalhos em andamento.

O maior índice de prevalência em animais em semicativeiro leva a crer que a aglomeração dos mesmos deva favorecer a transmissão do parasita. Já que existe interesse, tanto na preservação, como na exploração econômica da capivara, os

mecanismos de transmissão de *T. evansi* entre as mesmas devem ser elucidados, a fim de que medidas efetivas de controle possam ser tomadas.

Por outro lado, o encontro de infecções naturais em quatis, requer estudos para esclarecer, não só os mecanismos de transmissão de *T. evansi* entre os mesmos, como, também, seu papel como reservatório do parasita e sua importância na cadeia epidemiológica da tripanosomíase. Faz-se necessário, também, o exame de quatis provenientes de outras áreas do Estado, notadamente o planalto sul-mato-grossense que é, também, região endêmica para o "Mal de Cadeiras".

Considerando que na área estudada, capivaras são vistas junto a animais domésticos, tanto nas pastagens, como nas coleções hídricas, o não encontro de *T. evansi* em equinos, bovinos e bubalinos merece observações, cuidadosas e aprofundadas, de ordem epidemiológica, principalmente no que se refere à especificação e comportamento de possíveis vetores, tais como, tabanídeos, moscas e morcegos hematófagos (HOARE, 1972).

A concordância entre os resultados obtidos através da inoculação em animais de laboratório e da centrifugação em tubos de microhematócrito, leva os autores a sugerir maior utilização da última técnica para o diagnóstico de infecções por *T. evansi*, tanto em animais silvestres como, também, em domésticos. Deve-se acrescentar que a técnica do microhematócrito, além de sensível para o diagnóstico de tripanosomíases, apresenta ainda outras vantagens, tais como, rapidez de operação, baixo custo e possibilidade de utilização em condições de campo. Para evitar falsos resultados negativos, que poderiam ocorrer em casos de parasitemias baixas, é aconselhável a leitura de 6 tubos para cada amostra de sangue examinada.

Considerando que as amostras isoladas de capivara determinaram parasitemias flutuantes em camundongos e em ratos não esplenectomizados, os autores recomendam o exame diário dos animais experimentalmente inoculados para o diagnóstico da infecção e a utilização de camundongos irradiados, quando se fizer necessária a obtenção de massa parasitária.

As diferenças de comportamento dos tripanosomas isolados, com relação à virulência para animais de laboratório, não puderam ser correlacionadas com diferenças genéticas, uma vez que todas as amostras apresentaram perfis eletroforéticos semelhantes, para o grupo de enzimas estudado. Um único polimorfismo foi encontrado para a G6PD, constituindo-se no primeiro descrito na América do Sul. GIBSON *et alii*, 1980 não encontraram nenhuma diferença em amostras de *T. evansi* isoladas de capivaras, cães e cavalos na Colômbia. Entretanto, variações isoenzimáticas foram observadas em isolados de camelos em Java e Indonésia (BOID, 1985), no Kênia (GIBSON *et alii*, 1983) e no Sudão (BOID, 1988).

Os perfis eletroforéticos (zimodema) de *T. evansi* encontrados neste estudo em quatis, coincidem com os anteriormente descritos em isolados de capivaras e cães no Brasil (STEVENS *et alii*, 1989), e em isolados de camelos no Velho Mundo (op. cit.). Isto leva a crer que *T. evansi* encontrado no Pantanal seja o mesmo de outras regiões do mundo. Esse fato é mais uma evidência de que as cepas de *T. evansi*, encontradas nas Américas, sejam originárias do Velho Mundo. Esta baixa

variabilidade genética em *T. evansi* e alta divergência em relação a outras espécies de tripanosomatídeo (*T. cruzi*), poderá ser explorada em termos de rápida identificação do parasito em futuros estudos epidemiológicos mais abrangentes, bem como no desenvolvimento de sondas que possam identificar os prováveis vetores e outros reservatórios de *T. evansi*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o auxílio e apoio financeiro recebidos para a realização deste trabalho, às seguintes instituições: CPAP-EMBRAPA-Corumbá, UFMS, FINER FAPEMIG e FUB.

SUMMARY

Natural infections of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* (Steel, 1885) Balbiani 1888 were verified in capybaras, *Hydrochaeris hydrochaeris*, in the Nhicolândia subregion of the South Mato Grosso Pantanal, Brazil. The infection was observed in 45% (n = 53) of the capybaras examined; 13 showed clinical symptoms compatible with "Mal de Cadeiras". *T. evansi* infection was also verified in 25% (n = 16) of the coatis, *Nasua nasua* examined; this is the first record of *T. evansi* in this species. The diagnosis of *T. evansi* was based on parasite morphology, behaviour in mice and rats and in isoenzyme studies. *T. evansi* was not found in the domestic animals examined.

KEY WORDS: *Trypanosoma evansi*, capybara, *Hydrochaeris hydrochaeris*, coati, *Nasua nasua*, isoenzyme

BIBLIOGRAFIA

- ALHO, C. J. R.; CAMPOS, Z. M. S. & GONÇALVES, H. C. (1987). Ecologia de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) Rodentia do Pantanal. I. Habitats, densidades e tamanho de grupo. *Rev. Brasil. Biol.*, 47:87-97.
- BOGLIOLO, A. R. (1983). Comparative behavioural and life cycle studies on different zymodemes of *Trypanosoma cruzi*. PhD thesis, 353 pp, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK.
- BOID, R. & MLECHE, W. C. H. (1985). Isoenzyme analysis of stocks of trypanosomes isolated from cattle in Indonesia. *Rev. Vet. Sci.*, 39: 388-89.
- BOID, R. (1988). Isoenzyme characterization of 15 stocks of *Trypanosoma evansi* in the Sudan. *Trop. Med. Parasit.* 39: 45-50.
- CLARK, H. C. & DUNN, L. H. (1933). Animal susceptibility to *Trypanosoma hippicum*, the equine trypanosome of Panama. *Amer. J. Trop. Med.*, 13: 273-78.
- GIBSON, W. C.; MARSHALL, T. F. de C. & GODFREY, D. G. (1980). Numerical analysis of enzyme polymorphism: A new approach to the epidemiology and taxonomy of trypanosomes of the Subgenus *Trypanozoon*. *Advances in Parasitology*, 18: 137-42.
- GIBSON, W. C.; WILSON, A. J. & MALOO, S. K. (1983). Characterization of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* from camels in Kenya using isoenzyme electrophoresis. *Rev. Vet. Sci.* 34: 114-18.
- HERBERT, W. C. & LUMSDEN, W. H. R. (1976). *Trypanosoma brucei*: A rapid "matching" method for estimating the host's parasitaemia. *Exp. Parasitol.*, 40: 427-31.
- HOARE, C. A. (1972). The trypanosomes of mammals - A zoological monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- KUBIACK, G. V. L. & MOLFI, A. (1953). Ocorrência do "Mal de Cadeiras" no Paraná (Brasil). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 8(1): 7-26.
- LACERDA, J. B. (1885). Peste de Cadeiras o epizootia de Marajó. Suas analogias com o beriberi. Lombaerts & Cia. Rio de Janeiro.
- LANHAM, S. M. & GODFREY, D. G. (1970). Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. *Exp. Parasit.*, 28: 521-34.
- LARANGEIRA, N. L.; PINTO, J. A. N.; RIBEIRO, H. S.; LIMA, M. M.; PAIVA, F. & MELO, H. J. H. (1983). Infecção natural por *Trypanosoma evansi* Evans, 1880 em suínos (*Sus scrofa domestica*) In: Congresso Brasileiro de Parasitologia. Porto Alegre 7: 19.
- MIGONE, L. E. (1910). Le rôle des carpinchos comme réservoir de virus dans la conservation du Mal de Cadeiras. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 3: 524-25.
- MORALES, G. A.; WELLS, E. A. & ANGEL, D. (1976). The capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as a reservoir host for *Trypanosoma evansi*. *Journal of wild life disease*, 12: 572-74.
- NEIVA, A. & PENNA, B. (1916). Viagem científica pelo norte da Bahia; sudoeste do Pernambuco; sul do Piauí e de norte a sul de Goiás. *Mem. Inst. Osw. Cruz. Rio de Janeiro*, 8(3): 74-224.
- NUNES, V. L. B. & OSHIRO, E. T. (1990). *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* in the coati from the Pantanal region of Mato Grosso do Sul state, Brazil. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.* 84: 692.
- OJASTI, I. (1973). Estudio biológico del chiguire o capibara. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas.
- OSHIRO, E. T.; NUNES, V. L. B.; GARCIA, L. A. M.; BOGLIOLO, A. R. & SILVA PEREIRA, A. A. (1990). Characterization of *Trypanosoma evansi* from coatis (*Nasua nasua*). *Mem. Inst. Osw. Cruz. Rio de Janeiro*, 85: 139.
- PEREIRA, C. & ALMEIDA, W. F. de (1941). Observações sobre parasitologia humana e veterinária em Mato Grosso. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 36(3): 301-09.
- PROENÇA, M. C. (1939). Apontamentos sobre a epizootologia da peste de cadeiras em Mato Grosso. *Rev. Mil. de Med. Vet.*, 11(19): 1413-21.
- SHAW, J. J. (1977). The epizootiology of American Surra with special reference to the Lower Amazon Region. *Protozoology*, 3: 119-28.
- STEVENS, J. R.; NUNES, V. L. B.; LANHAM, S. M. & OSHIRO, E. T. (1989). Isoenzyme characterization of *Trypanosoma evansi* isolated from capybaras and dogs in Brazil. *Acta Tropica*, 46: 213-22.
- VITAL, B. (1907). Mal de Cadeiras em São Paulo. São Paulo. *Rev. Med.*, 10(1): 2-4.
- WALLACE, A. R. (1889). A narrative of travels on the Amazon and Rio Negro with an account of the native tribes, and observations on the climate, geology and natural history of the Amazon valley. London: Ward. & Lock.
- WOO, P. T. K. (1969). The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Can. J. Zool.*, 47: 921-23.

(Received 7 April 1993)