

## ATIVIDADE TERAPÊUTICA DO 5-NITRO-FURALDEÍDO-SEMICARBAZONA (NITROFURAZONA) EM ESQUEMAS DE DURAÇÃO PROLONGADA NA INFEÇÃO EXPERIMENTAL DO CAMUNDONGO PELO *TRYPANOSOMA CRUZI*

Z. BRENER

### RESUMO

A presença de um ciclo sanguíneo do *T. cruzi* e a existência de drogas capazes de destruir um grande número ou a totalidade das formas circulantes do parasito, sugere a possibilidade teórica de erradicação desse tripanosoma através da manutenção de uma concentração ativa da substância tripanosomicida por tempo suficientemente longo no sangue, a fim de que a eliminação contínua das formas sanguíneas leve à exaustão do parasitismo.

A fim de testar essa possibilidade foi usado o 5-nitro-2-furaldeído-semicarbazona (nitrofurazona), administrado por via oral na dose de 100 mg/kg durante 53 dias consecutivos. Em 65 camundongos assim tratados os métodos laboratoriais de controle empregados (exame de sangue fresco, subinoculação, xenodiagnóstico, cultura e exame histológico do coração), realizados 1 a 2 meses após o tratamento, demonstraram a persistência da infecção em apenas 3 animais. Cinco animais tratados a partir do dia seguinte à inoculação e posteriormente reinoculados apresentaram típica fase aguda da infecção indicando ausência de imunidade por desaparecimento da infecção.

Em 10 camundongos que receberam apenas 20 doses da droga a persistência de tripanosomas foi assinalada em 8 animais.

### INTRODUÇÃO

Apesar da existência de vários medicamentos ativos contra as formas sanguíneas do *T. cruzi*, não se obteve ainda uma droga capaz de curar com regularidade a doença de Chagas experimental ou humana. Entre os compostos usados destacam-se o Bayer 7602 (Ac) ou 3024 (I.C.I.), o Bayer 9736 (As), o sulfato de carbidium, a primaquina, alguns nitrofuranos e, mais recentemente, o aminonucleosídeo da Stilomicina isolado ou associado com a primaquina (MAZZA, COSSIO & ZUCCARDI<sup>5</sup>; MAZZA, BASSO & BASSO<sup>4</sup>; GOODWIN, GOSS & LOCK<sup>3</sup>; PIZZ<sup>9</sup>; FERNANDES, PEREIRA & PEREIRA DA SILVA<sup>2</sup>; MORAES, LOPES FARIA & FERNANDES<sup>6</sup>; PACK-CHANIAN<sup>7</sup>).

No presente trabalho estudamos a ação do 5-nitro-2-furaldeído-semicarbazona (PACK-CHANIAN<sup>7</sup>) administrado segundo esquemas de duração prolongada, na infecção experimental do camundongo pelo *T. cruzi*.

### MATERIAL E MÉTODOS

*Inoculação dos animais* — Camundongos albinos pesando 18-20 g eram inoculados, por via intraperitoneal, com cerca de 70.000 tripanosomas da amostra Y (PEREIRA DA SILVA & NUSSENZWEIG<sup>11</sup>). Para obtenção do inóculo, camundongos eram sangrados no 8.º dia de infecção, sendo a contagem de

tripanosomas feita segundo a técnica descrita por PIZZI<sup>11</sup> com algumas modificações.

*Tratamento* — A nitrofurazona apresenta-se sob a forma de um pó amarelado pouco solúvel na água e no éter, mas solúvel em álcool e propileno-glicol. A administração era feita sempre por via oral por meio de sonda estomacal ligada a seringa, sendo a droga suspensa em água destilada na presença de goma arábica.

Os seguintes esquemas de administração da droga foram usados:

a) em 65 animais a nitrofurazona, na dose de 100 mg/kg, foi administrada durante 53 dias consecutivos a partir do 4.º dia de infecção. Em todos os animais o exame de sangue a fresco, feito antes do início da medicação, revelou tripanosomas no sangue circulante.

b) Em 15 animais a droga foi administrada na mesma dose de 100 mg/kg durante 53 dias consecutivos, sendo a medicação iniciada no dia seguinte à inoculação. Em 10 animais tomados como controles e infectados com o mesmo inóculo a parasitemia foi assinalada a partir do 5.º dia de doença, tendo a infecção decurso normal que terminou com a morte dos camundongos.

c) Em 15 animais a nitrofurazona foi dada na dose de 100 mg/kg durante 20 dias consecutivos, a partir do 4.º dia de inoculação. Também neste grupo a presença de parasitos foi demonstrada pelo exame de sangue a fresco de todos os animais, realizado antes do início do tratamento.

#### CONTRÔLE DA ATIVIDADE TERAPEUTICA

*Exame de sangue a fresco* — A partir do dia seguinte ao início da medicação foram feitos exames de sangue a fresco entre lâmina e lamínula com sangue colhido da cauda do animal. Os exames eram feitos diariamente ou em dias alternados, sendo examinados no mínimo 100 campos microscópicos com médio aumento. Esses exames se estenderam até a 10.ª semana após a inoculação.

*Subinoculação* — Camundongos tratados foram sacrificados em épocas variáveis en-

tre 1 e 2 meses após o fim do tratamento. Os animais eram anestesiados e, de cada um, cerca de 0,4-0,6 ml de sangue citratado eram colhidos por secção da veia axilar e injetados intraperitonealmente em dois outros camundongos pesando 14-16 g. Exames de sangue a fresco desses animais eram feitos diariamente uma ou duas vezes por dia, a partir do 5.º dia após a inoculação, até os 30 dias quando os exames passavam a ser feitos em dias alternados. A pesquisa microscópica de parasitos se estendia até pelo menos a 6.ª semana após a inoculação.

*Cultura* — Nos animais sacrificados para a subinoculação, parte do sangue colhido era semeado em meio de ágar-sangue, tomando-se o cuidado de também semear sangue de camundongos controles não tratados. Em algumas ocasiões fragmentos de coração e baço foram também semeados para pesquisa ulterior de flagelados.

*Xenodiagnóstico* — Em 20 camundongos tratados foi feito o xenodiagnóstico. Os animais eram anestesiados, imobilizados e deixados sugar por 4 ninfas de triatomíneos até a sua morte por anemia. A pesquisa de formas metacíclicas no conteúdo retal dos "barbeiros" era feita entre 45 a 50 dias após o repasto sanguíneo.

*Reinoculação* — Em alguns camundongos tratados com 53 doses foi feita a reinoculação de formas sanguícolas do *T. cruzi* após 10 semanas de exame a fresco repetidamente negativo. A fim de acompanhar o decurso da infecção foram feitas contagens diárias de tripanosomas segundo a técnica de PIZZI<sup>11</sup> ligeiramente modificada.

*Exame histológico* — Em todos os animais sacrificados foram feitos exames de cortes histológicos do coração corados pela hematoxilina-eosina para pesquisa de "ninhos de leishmânia". Em alguns animais, fragmentos do intestino delgado, estômago e baço foram também examinados para pesquisa de parasitos.

#### RESULTADOS

No Quadro I estão expostos os resultados obtidos em 45 camundongos tratados a partir do 4.º dia de inoculação com 100 mg/kg

**BRENER, Z. — Atividade terapêutica do 5-nitro-furaldeído-semicarbazona (nitrofurazona) em esquemas de duração prolongada na infecção experimental do camundongo pelo Trypanosoma cruzi. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 3(1):43-49, 1961.**

QUADRO I

Resultados obtidos em 45 camundongos tratados com 100 mg/kg de nitrofurazona, por via oral, durante 53 dias consecutivos. Em apenas dois animais foi possível comprovar, nos exames realizados 1 a 2 meses após o tratamento, a persistência da infecção chagásica.

Nº	Exame a fresco (4º dia)	Exame de sangue a fresco (Semanas após tratamento)										Cultura (sangue)	Pesquisa de parasitos (músculo cardíaco)	Subinoculação em camundongos (exame de sangue a fresco)							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Semanas após inoculação							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					1	2	3	4	5	6
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
42	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

de nitrofurazona administrados durante 53 dias consecutivos. Em apenas 2 animais a subinoculação foi positiva, tendo sido negativos os demais exames.

No Quadro II estão expostos os resultados do xenodiagnóstico em 20 camundongos tratados, a partir do 4.º dia de inoculação, com 53 doses consecutivas de 100 mg/kg de nitrofurazona. Em 19 animais o xenodiagnóstico e os demais métodos laboratoriais resultaram negativos e em apenas 1 camundongo o xenodiagnóstico foi positivo.

Em 15 camundongos medicados também com 100 mg/kg da droga durante 53 dias, mas nos quais a medicação foi iniciada no dia seguinte à inoculação, o exame de sangue a fresco foi repetidamente negativo durante todo o tempo de observação. Cinco camundongos desse grupo foram reinoculados, 50 dias após o fim do tratamento, com 80.000 tripanosomas por via intraperitoneal. Foram feitas contagens diárias dos tripanosomas no sangue periférico, observando-se o

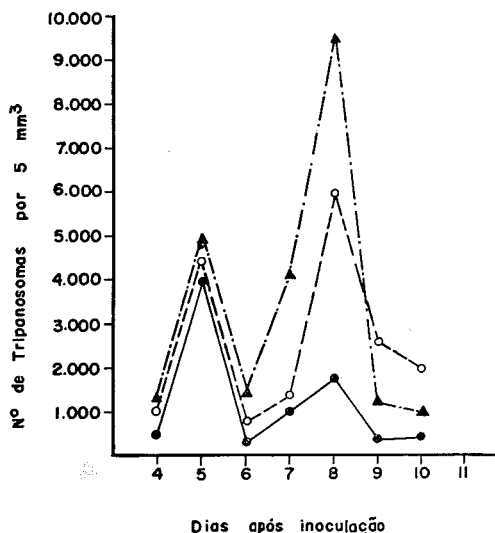


Fig. 1 — Resultado da reinoculação em 3 camundongos tratados com nitrofurazona (100 mg/kg, via oral), a partir do dia seguinte à inoculação deu origem a típica fase aguda.

QUADRO II

Resultados obtidos em 20 camundongos tratados com nitrofurazona na dose de 100 mg/kg, por via oral, durante 53 dias consecutivos. Em apenas um animal o xenodiagnóstico foi positivo.

Nº	Exame a fresco (4º dia)	Exame de sangue a fresco (Semanas após tratamento)										Xeno-diagnóstico	Cultura		Pesquisa de parasitos (músculo cardíaco)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		baço	coração		
1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

aparecimento de nítida fase aguda com grande número de tripanosomas circulantes. Na fig. 1 estão expostas as curvas de parasitemia obtidas em 3 dos animais tratados e reinoculados.

Finalmente, no Quadro III, estão representados os resultados da subinoculação de sangue dos 10 animais tratados com apenas 20 doses contínuas de 100 mg/kg de nitrofurazona. Como se pode observar, em apenas dois dos animais sacrificados a subinoculação foi negativa, resultando positiva nos demais.

tem, atualmente, drogas capazes de destruir um grande número ou a totalidade das formas circulantes do *T. cruzi* sugerem a possibilidade teórica de erradicação do parasito se se conseguir manter uma concentração ativa da droga no sangue por tempo suficientemente longo a fim de que a eliminação contínua das formas sanguícolas leve à exaustão da infecção.

No presente trabalho essa possibilidade foi investigada com o emprêgo da nitrofurazona. Essa droga apresenta, para êsse tipo de investigação, as seguintes vantagens: co-

QUADRO III

Resultados obtidos em 10 camundongos tratados com 20 doses consecutivas de nitrofurazona na dose de 100 mg/kg, via oral. Observar que em 8 dos 10 animais houve persistência da infecção chagásica.

Nº	Exame a fresco (4º dia)	Exame de sangue a fresco (Semanas após o tratamento)						Subinoculação em camundongos (Exame de sangue a fresco) Semanas após a inoculação						
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
5	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
6	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
7	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
8	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
9	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
10	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—

DISCUSSÃO

Certos aspectos do ciclo evolutivo do *T. cruzi* fazem supor que tôdas ou pelo menos a grande maioria das formas flageladas libertadas dos tecidos circulam por algum tempo no sangue antes de penetrarem em novas células. A possibilidade de que tripanosomas oriundos dos tecidos possam penetrar por contigüidade em novas células, sem cumprir um ciclo sanguíneo, existe, mas ainda não foi cabalmente comprovada. A presença do ciclo sanguíneo e o fato de que exis-

mo demonstrou PACKCHANIAN<sup>7</sup>, a nitrofurazona apresenta nítida ação supressiva destruindo as formas circulantes; aplicada em dose única, a droga ainda está presente no sangue circulante de camundongos após 24 horas (PACKCHANIAN<sup>7</sup>); estudos levados a efeito por PAUL & col.<sup>8</sup> demonstraram que a nitrofurazona, como vários outros nitrofuranos, não se acumula ao nível dos tecidos, pois é rapidamente degradada por todos eles com exceção do sangue; a droga apresenta baixa toxicidade e, aparentemente, discreta ação cumulativa, já que a mortalidade, após

50 doses consecutivas de 100 mg/kg (equivalente a 1/5 do LD50), foi apenas de 12,5%.

Os resultados apresentados tendem a confirmar o raciocínio aqui exposto, já que, entre todos os animais tratados, apenas em 3 foi possível assinalar a persistência dos tripanosomas. Uma objeção aparente quanto à cura dos animais seria a possibilidade da persistência de "ninhos de leishmânia" viáveis, nos tecidos, por um prazo superior àquele da observação por nós realizada. O desconhecimento de certos dados biológicos essenciais do ciclo vital do parasito leva-nos a considerar êsse fato, embora êle nos pareça pouco provável.

A possibilidade de os métodos laboratoriais de controle empregados apresentarem uma sensibilidade insuficiente para detectar infecções com um número pequeno de parasitos também pode ser argüida, mas é preciso lembrar que, em nossa experiência, empregando inúmeras drogas ativas em tipos diferentes de esquemas, êsses métodos foram repetidamente capazes de demonstrar a persistência da infecção. O fato de que reinoculações, levadas a efeito em animais nos quais o tratamento foi iniciado no dia seguinte à inoculação, tenham produzido infecções tipicamente agudas fala a favor de um não desenvolvimento da imunidade por desaparecimento da infecção. Em animais que foram tratados a partir do 4.º dia de infecção, quando os tripanosomas já se apresentam em número razoável no sangue, as reinoculações foram sempre positivas embora não se tenham obtido altas parasitemias; êstes casos sugerem a persistência de anticorpos protetores.

A ação direta sobre as formas intracelulares parece-nos também pouco provável em vista dos fracos resultados obtidos com o esquema de 20 doses.

Na experiência de PACKCHANIAN<sup>7</sup>, a nitrofurazona mostrou-se dotada somente de poder supressivo, sem erradicar a infecção. Embora até 42 doses do medicamento tenham sido aplicadas, não há dados seguros sobre a continuidade na administração do medicamento. Segundo PACKCHANIAN<sup>7</sup> — "each drug was administered intra-peritoneally in its highest tolerance dose once or

twice daily until all the untreated control animals were dead. Daily or weekly therapy of the surviving mice was continued using the same dosage until the animals died or until the acute fatal infection was diverted to a chronic or a latent form".

Considerando os resultados obtidos, seria altamente desejável o emprêgo de esquemas de longa duração com outras drogas ativas contra as formas circulantes.

Tendo em vista a existência de estudos farmacológicos detalhados em relação à nitrofurazona (KRANTZ & EVANS) e o fato de que êsse composto já tem sido empregado em indivíduos com tripanosomíase africana (EVANS, NIEMEGERES & PACKCHANIAN<sup>1</sup>), justifica-se, ao nosso ver, o seu uso em casos humanos de doença de Chagas.

#### SUMMARY

*Therapeutic activity of 5-nitro-2-furaldehyde-semicarbazone (nitrofurazone) in protracted schemes upon mice experimentally infected through Trypanosoma cruzi.*

Considering the existence, in the life cycle of *T. cruzi*, of circulating blood forms, and their susceptibility to certain drugs, an attempt was made to treat experimental Chagas disease following a long-term schedule of drug administration. A complete exhaustion of the parasite strain was expected to occur, despite the inefficacy of the drug against the tissue forms.

Nitrofurazone (5-nitro-2-furaldehyde semicarbazone) was given orally in doses of 100 mg/kg. Fifty three running doses, beginning on the 4<sup>th</sup> day of infection, were given to 65 mice, 87.5% of which survived and were sacrificed 1 to 2 months after treatment. The laboratory methods used for assessing the drug activity (microscopical blood examination, blood inoculation from the treated mice to young uninfected ones, xenodiagnosis, culture, histological examination) revealed the presence of trypanosomes in only 3 of the treated animals. Reinoculation of 5 infected mice that had been treated since the next day after inoculation resulted in typical acute infection, which indicates a complete absence of immunity.

REFERÊNCIAS

1. EVANS, F.; NIEMEGERERS, K. & PACKCHANIAN, A. — Nitrofurazone therapy of *Trypanosoma gambiense* sleeping sickness in man. Am. J. trop. Med. & Hyg. 6:665-678, 1957.
2. FERNANDES, J. F.; PEREIRA, J. P. M. & PEREIRA DA SILVA, L. H. — Nucleotide and polynucleotide synthesis in *Trypanosoma cruzi*. IV. Effect of the aminonucleoside of Stylomycin on mouse infections. Exptl. Parasit. 8:496-501, 1959.
3. GOODWIN, L. G.; GOSS, M. D. & LOCK, J. A. — The chemotherapeutic action of phenanthridine compounds. III. Carbidium ethanesulphonate. Brit. J. Pharmacol. & Chemoth. 5:287-305, 1950.
4. MAZZA, S.; BASSO, G. & BASSO, R. — Ensayos terapêuticos del producto 9736 (As) Bayer y de su acción comparada con el 7602 (Ac) Bayer en la enfermedad de Chagas. Mis. Est. Patol. reg. argent. 61:3-81, 1942.
5. MAZZA, S.; CASSIO, R. & ZUCCARDI, E. — Primer caso agudo grave de enfermedad de Chagas comprobado en Tucuman y su tratamiento con Bayer 7602 (Ac). Mis. Est. Est. Patol. reg. argent. 32:3-18, 1937.
6. MORAES, G. E. S.; LOPES FARIA, J. & FERNANDES, J. F. — Nucleotide and polynucleotide synthesis in *Trypanosoma cruzi*. V. Effects of primaquine, stylomycin derivatives and analogs, on experimentally infected mice. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 2:147-154, 1960.
7. PACKCHANIAN, A. — Chemotherapy of experimental Chagas disease with nitro-furan compounds. Antib. & Chemoth. 1:13-23, 1957.
8. PAUL, M. F.; PAUL, H. E.; BENDER, R. C.; KOPKO, F.; HARRINGTON, C. M.; ELLS, V. R. & BUZARD, J. A. — Studies on the distribution and excretion of certain nitrofurans. Antib. & Chemoth. 10:287-302, 1960.
9. PIZZI, T. — Effect of primaquine on experimental *Trypanosoma cruzi* infection. Proc. Soc. exper. Biol. & Med. 78:643-644, 1951.
10. PIZZI, T. — Inmunología de la enfermedad de Chagas. Universidade de Chile, Santiago, 1957.
11. SILVA, L. H. P. da & NUSSENZWEIG, V. — Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. Folia clin. & biol. 20:191-208, 1953.

Recebido para publicação em 5 novembro 1960.