

**ESTUDOS SOBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO
TRYPANOSOMA CRUZI. LVIII – INFECÇÃO NATURAL DO RATO,
AKODON LASIOTIS (LUND, 1841) PELO *T. CRUZI***

Rosa Domingues RIBEIRO (1) e Mauro Pereira BARRETTO (2)

RESUMO

Amostra de *T. cruzi*, através de xenodiagnóstico e subsequente inoculação em camundongos brancos jovens, foi isolada de um exemplar de rato silvestre, *Akodon lasiotis* (Lund, 1841), capturado no Município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. Os tripanossomos sanguícolas, em camundongos, medem $21,73 \mu$ de comprimento total médio e $1,90 \mu$ de largura média e têm índice nuclear médio de 1,07. Essa amostra é patogênica para camundongos, infectando 100% dos animais inoculados quer com sangue de doadores com infecção aguda, quer com fezes de triatomíneos infectados. A infecção dos camundongos é benígna, com período prepatente médio de 7,0 dias, baixas parasitemias, pequena taxa de letalidade de 10,0% e escasso parasitismo tecidual. A amostra confere aos camundongos que sobrevivem boa resistência contra reinfecções pela amostra Y isolada do homem. Cultiva-se facilmente em meios semi-sólidos e líquidos e infecta bem várias espécies de triatomíneos experimentadas.

INTRODUÇÃO

O problema da infecção de roedores pelo *T. cruzi* foi abordado em trabalho recente de BARRETTO & RIBEIRO⁴ e, por isso, deixamos de entrar em maiores detalhes a respeito.

Durante nossos estudos sobre reservatórios silvestres do *T. cruzi*, tivemos a oportunidade de examinar um exemplar do rato silvestre, *Akodon lasiotis* (Lund, 1841), capturado em Ribeirão Preto, SP, Brasil e encontrar nele um tripanossomo cujo estudo constitui objeto do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra que estudamos foi isolada através de xenodiagnóstico e subsequente inoculação de tripanossomos metacíclicos de triatomíneos em camundongos e ratos brancos jovens.

Foi depois mantida em camundongos, animal que se mostrou mais suscetível, mediante inoculações intraperitoneais de sangue de doadores com infecção aguda, feitas com intervalos de 30 dias.

Os métodos usados para o estudo da morfologia, biologia e patogenicidade da referida amostra foram os descritos por ALBUQUERQUE & BARRETTO^{1, 2} e, por isso, deixamos de nos alongar sobre o assunto.

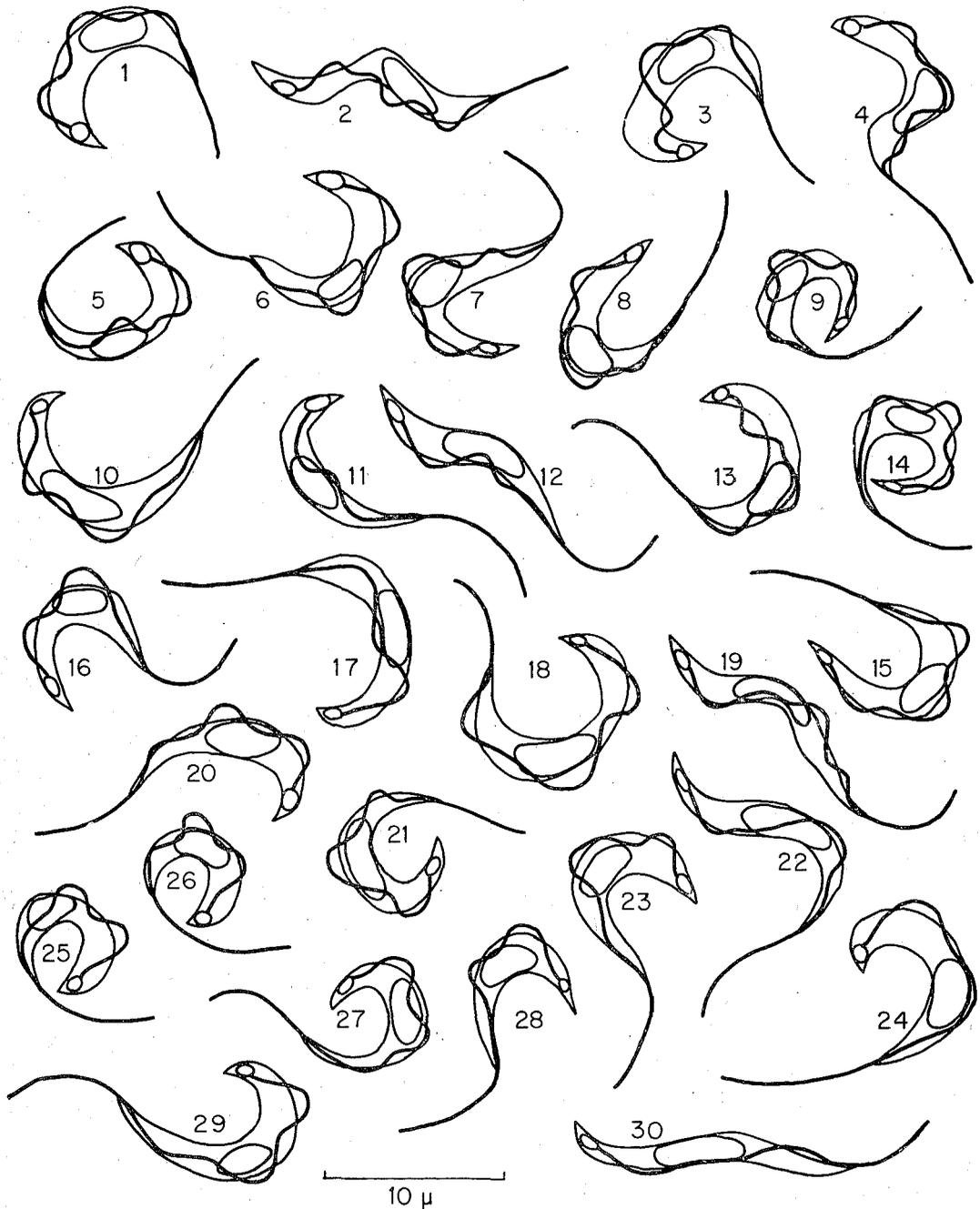
RESULTADOS E DISCUSSÃO

MORFOLOGIA DOS TRIPANOSSOMOS SANGUÍCOLAS

Em esfregaços de sangue de camundongos os tripanossomos se apresentam com aspecto algo variável, mas com os caracteres gerais do *T. cruzi*.

Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

(1) Departamento de Ciências Patológicas, Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil



Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguícolas de camundongos inoculados com a amostra isolada de *Akodon lasiotis*.

A observação de esfregaços de sangue, obtidos de camundongos diversos em diferentes fases da infecção, revela, uma nítida predominância de formas em C, com largura e comprimento moderados. Às vezes encontramos algumas formas delgadas ou largas, mas nunca tão delgadas quanto as vistas por FUNAYAMA & BARRETTO⁷ na amostra isolada do morcego, *Desmodus rotundus rotundus*,

nem tão largas quanto as observadas por FUNAYAMA & BARRETTO⁸ na amostra isolada do símio, *Alouatta caraya*.

Nas Figs. 1-30 apresentamos desenhos de tripanossomos sanguícolas observados ao acaso em diversas preparações. Os resultados de micrometria efetuada sobre esses desenhos são resumidos no Quadro I.

QUADRO I

Resultados da micrometria realizada sobre tripanossomos de sangue periférico de camundongos infectados com a amostra isolada do *Akodon lasiotis*

| | Medidas em μ | | |
|--------------------------|------------------|--------|-------|
| | Mínima | Máxima | Média |
| Comprimento do flagelo | 4,4 | 8,9 | 6,00 |
| Distância NA | 5,6 | 10,0 | 7,57 |
| Distância PN | 6,1 | 10,0 | 8,16 |
| Comprimento do corpo | 13,3 | 19,4 | 15,73 |
| Comprimento total | 19,4 | 25,0 | 21,73 |
| Largura do corpo | 1,5 | 2,5 | 1,90 |
| Diâmetro do cinetoplasto | 0,7 | 1,3 | 0,94 |
| Relação PN/NA | 0,84 | 1,7 | 1,07 |

As medidas médias referidas nesse quadro, em particular o comprimento total, a largura e o índice nuclear, caem dentro dos limites de variação observados por FERRIOLLI & col.⁶ e por BELDA⁵ em amostras de *T. cruzi* isoladas de casos humanos da doença de Chagas.

PATOGENICIDADE PARA ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Índice de infecção — A amostra ora em estudos infecta ratos e camundongos brancos jovens, quando usamos como inóculo quer formas metacíclicas de fezes de triatomíneos, quer formas sanguícolas de animais infectados.

A infecção de camundongos se consegue mais facilmente, principalmente quando se usa

como inóculo sangue de outros camundongos com infecção aguda. Nestas circunstâncias o índice de infecção é de 100%.

Caracteres da infecção — Para estudar o comportamento da infecção, destinamos 30 camundongos com 20 dias de idade, inoculados com sangue de doadores, e pertencentes aos segundo, terceiro e sexto repiques. No Quadro II, sumariamos os resultados de nossas observações.

A análise desse quadro mostra que o período prepatente variou de cinco a nove dias com média de 7,0 dias. Releva assinalar que não houve tendência para modificação da duração desse período nos repiques sucessivos.

A parasitemia foi sempre muito baixa, só ultrapassando o nível de 500 parasitas por

QUADRO II

Caracteres gerais da infecção do camundongo pela amostra de tripanossomo do *Akodon lasiotes*

| N.º do animal | Período pre-patente (dias) | Parasitemia máxima | | Fase aguda (dias) | Observações |
|---------------|----------------------------|---------------------|------|-------------------|--------------------|
| | | N.º/mm ³ | Dia | | |
| CII — 1 | 7 | 280 | 26.º | 45 | Sobreviveu |
| CII — 2 | 7 | 329 | 31.º | 47 | " |
| CII — 3 | 7 | 385 | 24.º | 45 | " |
| CII — 4 | 5 | 483 | 35.º | 49 | " |
| CII — 5 | 7 | 315 | 33.º | 47 | " |
| CII — 6 | 9 | 427 | 31.º | 43 | " |
| CII — 7 | 7 | 301 | 28.º | 42 | " |
| CIII — 1 | 7 | 343 | 26.º | 40 | " |
| CIII — 2 | 5 | 364 | 28.º | 49 | " |
| CIII — 3 | 7 | 455 | 30.º | 42 | " |
| CIII — 4 | 7 | 315 | 19.º | 47 | " |
| CIII — 5 | 7 | 385 | 28.º | 44 | " |
| CIII — 6 | 7 | 595 | 30.º | 47 | " |
| CIII — 7 | 5 | 413 | 28.º | 53 | " |
| CIII — 8 | 7 | 350 | 23.º | 42 | " |
| CIII — 9 | 7 | 420 | 28.º | 47 | " |
| CVI — 1 | 9 | 350 | 25.º | 37 | " |
| CVI — 2 | 7 | 343 | 21.º | 39 | " |
| CVI — 3 | 6 | 560 | 21.º | — | Morreu no 21.º dia |
| CVI — 4 | 7 | 238 | 25.º | 37 | Sobreviveu |
| CVI — 5 | 7 | 280 | 30.º | 45 | " |
| CVI — 6 | 7 | 385 | 28.º | 39 | " |
| CVI — 7 | 7 | 560 | 23.º | — | Morreu no 25.º dia |
| CVI — 8 | 9 | 245 | 21.º | 37 | Sobreviveu |
| CVI — 9 | 7 | 434 | 28.º | 45 | " |
| CVI — 10 | 7 | 511 | 21.º | — | Morreu no 21.º dia |
| CVI — 11 | 9 | 455 | 28.º | 40 | Sobreviveu |
| CVI — 12 | 7 | 203 | 30.º | 35 | " |
| CVI — 13 | 7 | 245 | 23.º | 37 | " |
| CVI — 14 | 7 | 350 | 25.º | 39 | " |

mm³ de sangue, no ápice da infecção, em quatro animais, isto é, em 25% dos casos. A parasitemia máxima foi atingida entre 35 a 53 dias.

A taxa de letalidade foi baixa, apenas 10% dos camundongos vindo a morrer entre o 21.º e 25.º dias após a inoculação, coincidindo da data da morte com a da parasitemia mais elevada.

As curvas parasitêmicas variaram de animal para animal; em geral, mostraram-se irregulares.

Parasitismo tecidual — O parasitismo tecidual foi sempre muito baixo; encontramos

esparsos ninhos de leishmânias em cortes do coração de animais mortos na fase aguda da infecção.

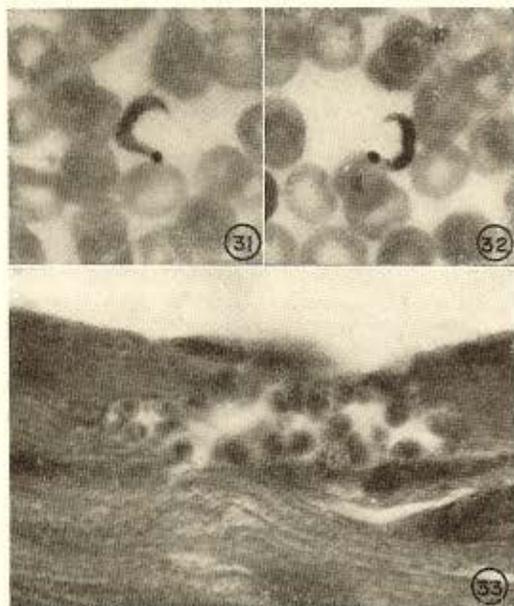
IMUNIDADE CRUZADA

Dez camundongos, cuja infecção pela amostra ora em estudos evoluiu para a cronicidade, foram reinoculados, cada um com 0,2 ml de sangue de doadores com infecção aguda pela amostra Y, usando-se a via peritoneal para a inoculação. Dez camundongos limpos, com idade e peso equivalentes aos dos do lote anterior receberam o mesmo inóculo e foram usados como testemunhas.

QUADRO III

Infectividade para quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo isolada do *Akodon lasiotes*

| Espécie | Exemplares alimentados | Exemplares positivos | |
|---------------------|------------------------|----------------------|------|
| | | N.º | % |
| <i>P. megistus</i> | 30 | 27 | 90,0 |
| <i>T. vitticeps</i> | 30 | 23 | 76,7 |
| <i>T. infestans</i> | 30 | 24 | 80,0 |
| <i>R. neglectus</i> | 30 | 25 | 83,3 |



Figs. 31 a 33 — Microfotos de formas observadas em camundongos inoculados com a amostra de *T. cruzi* isolada de *Akodon lasiotes*.

Figs. 31 e 32 — Tripanossomos sanguícolas (1.200 x).

Fig. 33 — Formas em leishmânia no coração (1.200 x).

Seis dias após a inoculação, todos os testemunhas apresentaram parasitemia elevada, vindo todos a morrer na segunda ou terceira semana após a inoculação. Dos camundongos com infecção crônica pela amostra *Akodon*, quatro não apresentaram parasitas no sangue circulante em exames de sangue sucessivos; os demais exibiram discretíssima parasitemia, mas nenhum morreu da infecção.

INFECTIVIDADE PARA TRIATOMINEOS

Um total de 120 ninfas em quinto estágio, pertencentes a quatro espécies, *P. megistus*, *T. infestans*, *T. vitticeps* e *R. neglectus*, foram alimentadas em camundongos com infecção aguda. Examinando, 30 dias depois, o conteúdo intestinal, obtido por dissecação desses triatomíneos, obtivemos os resultados sumariados no Quadro III.

Esses dados indicam que todos os triatomíneos se mostraram bem susceptíveis, sendo o maior índice de infecção, 90%, registrado

para o *P. megistus*, à semelhança do que acontece no caso da maioria das amostras de *T. cruzi* isoladas de animais silvestres.

CULTIVABILIDADE

Semeando algumas gotas de sangue de camundongos com infecção aguda em meios NNN e de Warren, conseguimos o isolamento, em cultura, da amostra *Akodon*; o crescimento inicial foi muito bom, a despeito dos pequenos inóculos devidos à baixa parasitemia dos doadores.

Uma vez isolada, a amostra foi mantida, com bom crescimento, mediante repiques mensais.

CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos, biológicos e patogênicos do flagelado ora estudado levamos, com base nos critérios estabelecidos por BARRETTO³, a identificar esse flagelado como *T. cruzi* e considerar o rato silvestre, *Akodon lasiotes*, como um hospedeiro natural do agente etiológico de tripanossomose americana.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. LVIII — Natural infection of the rat, Akodon lasiotes (Lund, 1841) by T. cruzi

A strain of *T. cruzi* was isolated through xenodiagnosis and subsequent inoculation into

baby white mice, from a specimen of *Akodon lasiotis* trapped at Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Blood trypanosomes in mice have a mean total length of 21.73 μ , a mean width of 1.90 μ , and mean nuclear index of 1.07.

This strain is pathogenic for baby mice infecting one hundred per cent of animals inoculated either with blood trypanosomes from donors or with metacyclic trypanosomes from triatomines. The infection of mice is light, with large prepatent period, low parasitemia, small lethality rate, and scanty leishmanial forms in the heart.

Previous infection of the mice by the rat strain gives a good resistance against reinfection by the Y strain of *T. cruzi*.

The rat strain is easily cultivated in NNN and Warren media, and infects regulary various species of triatomines tested.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXVI. Infecção natural do rato d'água, *Nectomys squamipes squamipes* (Brants, 1827) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:229-237, 1968.
2. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXX. Infecção natural do Cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous azares* (Wied, 1824) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 28:457-468, 1968a.
3. BARRETTO, M. P. — Trypanossomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* e sua identificação com o agente etiológico da doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:305-315, 1965.
4. BARRETTO, M. P. & RIBEIRO, R. D. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LV. Infecção natural do rato, *Holochilus brasiliensis leucogaster* (Brandt, 1835) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16:270-275, 1974.
5. BELDA Neto, F. M. — Estudos sobre a existência da correlação entre os dados biométricos e o grau de patogenicidade de amostras humanas do *Trypanosoma cruzi*, 1909. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* (em publicação).
6. FERRIOLLI Filho, F.; BARRETTO, M. P. & CARVALHEIRO, J. R. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV. Variação dos dados biométricos obtidos em amostras de *T. cruzi*, isoladas de casos humanos da doença de Chagas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 2:1-8, 1968.
7. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVIII. Infecção natural do morcego, *Desmodus rotundus* (Geoffroy, 1810) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 30:13-19, 1970.
8. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XLII. Infecção natural do símio, *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:257-265, 1970a.

Recebido para publicação em 15/10/1974.