

ESTUDOS SOBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*. XL — INFECÇÃO NATURAL DO SÍMIO, *CALLITHRIX ARGENTATA MELANURA* (GEOFFROY, 1812) PELO *T. CRUZI*

Rosa Domingues Ribeiro ALBUQUERQUE⁽¹⁾ e Mauro Pereira BARRETTO⁽¹⁾

RESUMO

Amostra de *T. cruzi* foi isolada, mediante xenodiagnóstico e subsequente inoculação em camundongos, de um exemplar de sagüi, *Callithrix argentata melanura* (Geoffroy, 1812) capturado no Município de Cuiabá, Mato Grosso. As formas sanguícolas observadas em camundongos jovens medem 18,97 μ de comprimento total médio e têm índice nuclear médio de 1,33. Em animais examinados durante a fase aguda da infecção, observaram-se leishmânias intratissulares, sobretudo no coração. A infecção dos camundongos foi grave, com período prepatente médio de 3,5 dias, com parasitemia relativamente elevada e atingindo altos níveis muito precocemente, e com taxa de letalidade de 96,7%. Provas de proteção mostram que a amostra em estudo confere aos camundongos que sobrevivem um alto grau de resistência contra reinfecções pela amostra Y. O tripansomoma cultiva-se bem e infeta regularmente triatomíneos, dando os seguintes índices de infecção: *T. infestans* — 66,7%, *R. neglectus* — 76,7%, *T. vitticeps* — 80,0% e *P. megistus* — 100,0%.

INTRODUÇÃO

Em trabalhos recentes, CARVALHEIRO & BARRETTO² e ALBUQUERQUE & BARRETTO^{3,4} analisam o problema da infecção natural dos símios americanos pelo *T. cruzi* e concluem que as seguintes espécies e subespécies de primatas podem ser consideradas como hospedeiros naturais do parasita: *Alouatta senicola? straminea* (Humboldt, 1812) da Venezuela, *Ateles belzebuth hybridus* Geoffroy, 1829 da Colômbia, *Ateles geoffroyi grisescens* Gray, 1865 da Colômbia, *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823) do Brasil, *Callithrix jacchus* (Lin., 1758) do Brasil, *Callithrix penicillata jordani* (Thomas, 1904) do Brasil, *Cebus albifrons unicolor* Spix, 1823 da Colômbia, *Cebus apella? apella* da Guiana Fran-

cesa, Venezuela e Colômbia, *Cebus apella versutus* Elliot, 1910 do Brasil, *Cebus capucinus* (Lin., 1758) da Colômbia, *Marikina leucopus* (Günther, 1876) da Colômbia, *Saimiri sciureus sciureus* (Lin., 1758) do Brasil e *Saimiri sciureus? macrodon* Elliot, 1907 (= *S. sciureus boliviensis auct.*) do Peru.

No decurso de nossas investigações sobre reservatórios silvestres do *T. cruzi* pudemos examinar um exemplar de *Callithrix argentata melanura* (Geoffroy, 1812) capturado nas proximidades de Cuiabá, Estado de Mato Grosso e dêle conseguimos isolar, mediante xenodiagnóstico, uma amostra de *T. cruzi*, cujos caracteres descrevemos adiante.

Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, em parte com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e do Conselho Nacional de Pesquisas.

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

O exemplar de *C. argentata melanura*, ainda jovem, mede cerca de 20 cm de comprimento e tem a cauda um pouco mais longa, com cerca de 22 cm. A coloração geral é castanha, escurecendo no dorso em direção à cauda. Face esparsamente pilosa. Fronte castanha com uma pequena mancha branca. Dorso escurecido, a zona escura estreitando-se na região lombar e alargando-se na garupa e na face externa das coxas. Face ventral amarelada. Membros anteriores castanhos, escurecendo em direção aos punhos. Membros posteriores castanhos escuros na face externa e amarelados na face interna. Mãos e pés castanhos escuros. Cauda enegrecida.

Como outras formas do gênero, habita capoeiras e cerrados, onde vive aos pares ou em pequenos grupos, movimentando-se com grande agilidade nos ramos das árvores. Tem hábitos alimentares onívoros e se deixa domesticar com facilidade. Sua distribuição geográfica, segundo AVILA-PIRES⁵, compreende o Oeste de Mato Grosso, Rondônia e áreas limítrofes da Bolívia.

MATERIAL E MÉTODOS

A partir de triatomíneos infetados no xenodiagnóstico a amostra ora em estudo foi inoculada em camundongos brancos com cerca de 20 dias de idade. Todos os animais se infetaram e a partir deles a amostra foi mantida regularmente por subinoculações de sangue por via peritoneal.

Como elementos de identificação do tripanossomo estudado levamos em consideração os caracteres morfológicos, os dados biométricos, a patogenicidade para animais de laboratório, a presença de formas em leishmânias nos tecidos desses animais, a infetividade para triatomíneos, o desenvolvimento e meios de cultura e os resultados das provas de imunidade cruzada. Deixamos de entrar em maiores detalhes a respeito das técnicas usadas visto que elas foram descritas em trabalhos anteriores de ALBUQUERQUE & BARRETTO^{1, 2}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia dos elementos sanguícolas — A observação dos caracteres morfológicos e a

obtenção de dados biométricos foram realizadas em esfregaços de sangue de camundongos experimentalmente infetados. Os tripanossomos observados apresentam aspecto variável mas, têm sempre os caracteres do *T. cruzi*, isto é, tamanho médio, cinetoplasto grande, arredondado ou ovóide e de localização terminal ou subterminal, membrana ondulante delicada e com poucas ondulações, núcleo ovóide ou reniforme situado no terço médio do corpo, geralmente mais próximo da extremidade anterior.

Examinando ao acaso esfregaços de sangue de vários camundongos em diferentes fases da infecção notamos acentuado polimorfismo dos tripanossomos. Mas, apesar desse polimorfismo, só excepcionalissimamente encontramos formas quase tão largas quanto as observadas nas amostras estudadas por FERRIOLLI & BARRETTO^{7, 8, 9} e por CARVALHEIRO & BARRETTO⁶ e isoladas do *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885), do *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758), da *Cavia aperca aperca* Erxleben, 1777 e do *Cebus apella verusutus* Elliot, 1910.

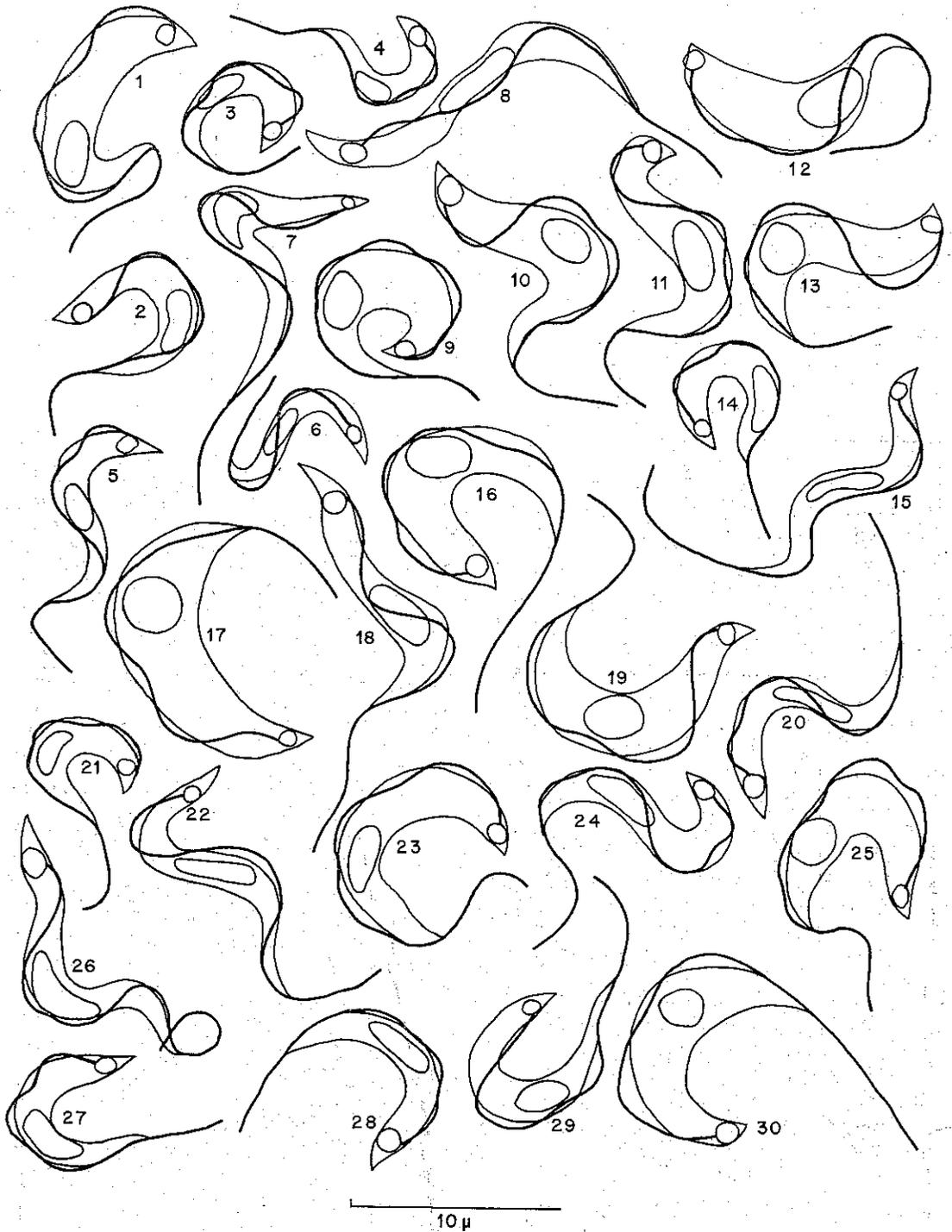
A micrometria efetuada com curvímeter sobre desenhos decalcados de imagens obtidas por projeção de 30 tripanossomos (Figs. 1-30) tomados ao acaso, deu os resultados sumariados no Quadro I.

As medidas apresentadas nesse quadro, em particular o comprimento total médio e o índice nuclear médio, caem dentro dos limites de variação observados em amostras isoladas do homem e de animais silvestres, segundo FERRIOLLI & col.¹⁰

Formas tissulares — Examinando cortes histológicos de camundongos mortos durante a fase aguda da infecção, pudemos verificar a presença de leishmânias principalmente em fibras cardíacas. As formas observadas têm a morfologia e as dimensões das leishmânias do *T. cruzi*.

Infecção de animais — Como dissemos, uma vez isolada a amostra foi mantida em camundongos com 20 dias de idade, através de subinoculações intraperitoneais de sangue colhido de doadores com infecção aguda.

Para estudo do comportamento da amostra destinamos 30 camundongos dentre os constituintes dos lotes inoculados no terceiro, quinto e sétimo repiques. Nesses camundongos fi-

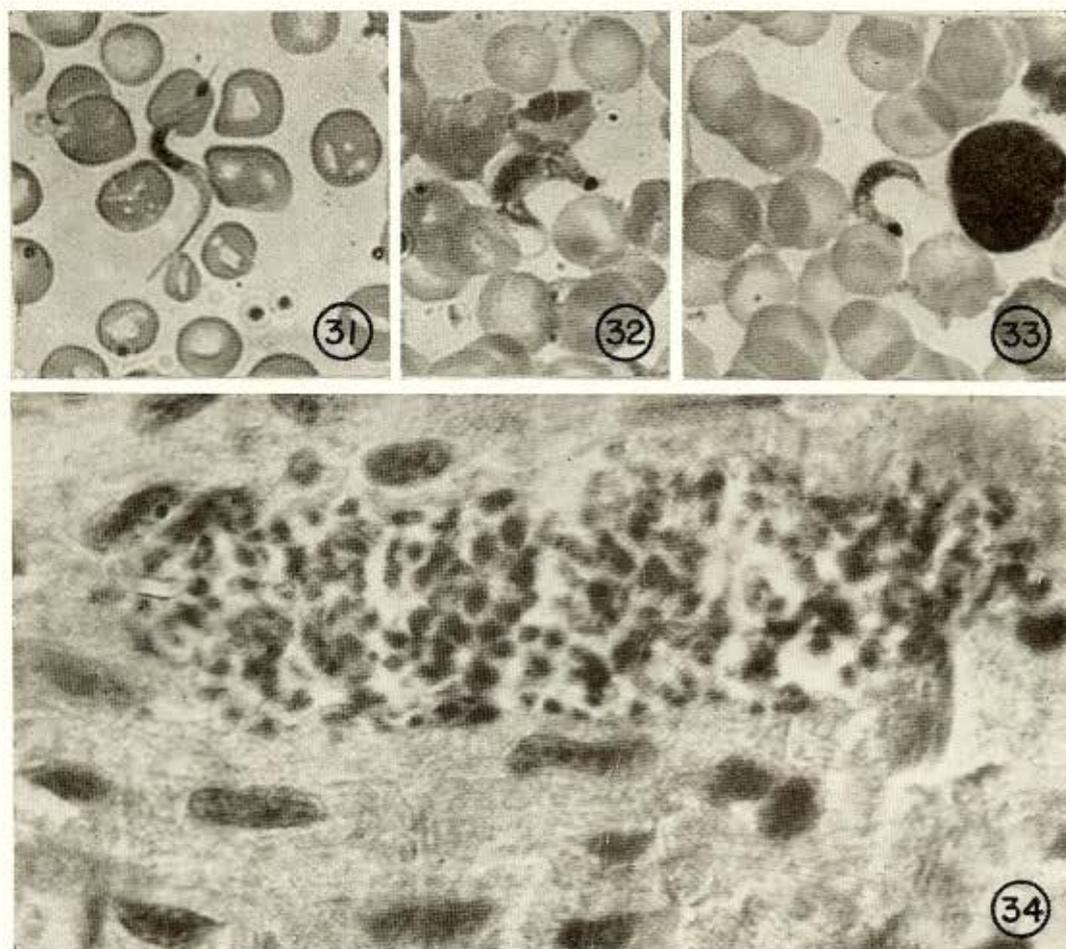


Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguícolas de camundongos infectados com a amostra de *T. cruzi* isolada do *Callithrix argentata melanura*

QUADRO I

Resultados de mensurações feitas sôbre tripanossomos sanguícolas de camundongos inoculados com a amostra isolada do *Callithrix argentata melanura*

Distâncias	Medidas em micra		
	mínima	máxima	média
Comprimento do flagelo	3,0	9,0	5,26
Distância NA	4,0	9,5	5,82
Distância NP	5,0	10,5	7,79
Comprimento do corpo	9,0	18,5	13,61
Comprimento total	12,8	23,5	18,97
Largura do corpo	1,0	3,3	2,04
Diâmetro do cinetoplasto	0,5	1,3	0,77
Índice nuclear NP/NA	0,68	2,28	1,33



Figs. 31-33 — Microfotografias de tripanossomos sanguícolas de camundongos infetados com a amostra de *T. cruzi* isolada do *Callithrix argentata melanura* (1200 X). Fig. 34 — Microfotografia de leishmânias em coração de camundongos infetado com a amostra de *T. cruzi* isolada do *Callithrix argentata melanura* (1220 X)

QUADRO II

Caracteres da infecção experimental de camundongos inoculados com o tripanossomo isolado do *Callithrix argentata melanura*

N.º do animal	Período prepatente (dias)	Parasitemia máxima		Fase aguda em dias	Observações
		N.º mm ³	Dia		
CIII — 1	3	413	6.º	—	Morreu no 12.º dia
CIII — 2	4	1806	15.º	23 dias	
CIII — 3	4	1834	8.º	—	Morreu no 12.º dia
CIII — 4	4	399	8.º	—	Morreu no 13.º dia
CIII — 5	4	1560	13.º	—	Morreu no 14.º dia
CIII — 6	4	3430	13.º	—	Morreu no 14.º dia
CIII — 7	5	1428	13.º	—	Morreu no 14.º dia
CIII — 8	4	791	10.º	—	Morreu no 15.º dia
CIII — 9	6	2184	13.º	—	Morreu no 14.º dia
CIII — 10	4	1785	8.º	—	Morreu no 12.º dia
CV — 1	3	1813	10.º	—	Morreu no 10.º dia
CV — 2	3	1498	8.º	—	Morreu no 11.º dia
CV — 3	3	2639	8.º	—	Morreu no 11.º dia
CV — 4	3	651	6.º	—	Morreu no 11.º dia
CV — 5	3	2205	10.º	—	Morreu no 11.º dia
CV — 6	3	2149	10.º	—	Morreu no 11.º dia
CV — 7	3	906	12.º	—	Morreu no 14.º dia
CV — 8	4	1799	12.º	—	Morreu no 14.º dia
CV — 9	3	1519	10.º	—	Morreu no 11.º dia
CV — 10	3	2709	8.º	—	Morreu no 9.º dia
CVII — 1	4	1407	14.º	—	Morreu no 16.º dia
CVII — 2	3	1456	14.º	—	Morreu no 16.º dia
CVII — 3	3	1617	7.º	—	Morreu no 13.º dia
CVII — 4	4	1821	7.º	—	Morreu no 13.º dia
CVII — 5	3	777	14.º	—	Morreu no 16.º dia
CVII — 6	4	1274	7.º	—	Morreu no 17.º dia
CVII — 7	3	2065	7.º	—	Morreu no 14.º dia
CVII — 8	3	4669	14.º	—	Morreu no 15.º dia
CVII — 9	3	2772	7.º	—	Morreu no 13.º dia
CVII — 10	3	3437	7.º	—	Morreu no 13.º dia

zemos a pesquisa de tripanossomos a partir do segundo dia após a inoculação; desde o momento em que verificamos a presença de flagelados sanguícolas passamos a fazer contagens trissemanais destes. No quadro II resumiamos os resultados de nossas observações.

O exame deste quadro mostra que o período pré-patente foi muito curto, variando entre três e seis dias, com média de 3,5 dias. Vale assinalar que não houve tendência de aumento ou diminuição do período prepatente nos repiques sucessivos. Assim, a amostra ora em estudo se assemelha àquelas isoladas do *Cerdocyon thous azarue* (Wied, 1824) por ALBUQUERQUE & BARRETTO² e do *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy 1810) por FUNAYAMA & BARRETTO¹¹.

A parasitemia mostrou-se relativamente elevada embora variasse de animal a animal, mesmo de um dado lote; em 80% dos camundongos ela ultrapassou o número de 1.000 tripanossomos por mm³ de sangue. Os níveis parasitários máximos, que oscilaram entre 399 e 4.669 parasitas por mm³ de sangue, foram precocemente atingidos entre o 6.º e o 15.º dias após a inoculação.

Não podemos analisar a duração da fase aguda porque todos os camundongos exceto um, morreram precocemente, quando ainda tinham parasitas mais ou menos numerosos no sangue circulante. No único animal cuja infecção evoluiu para a cronicidade, a parasitemia máxima foi atingida no 15.º dia após a inoculação e a fase aguda durou 23 dias. Nos que tiveram êxito letal, a data da morte,

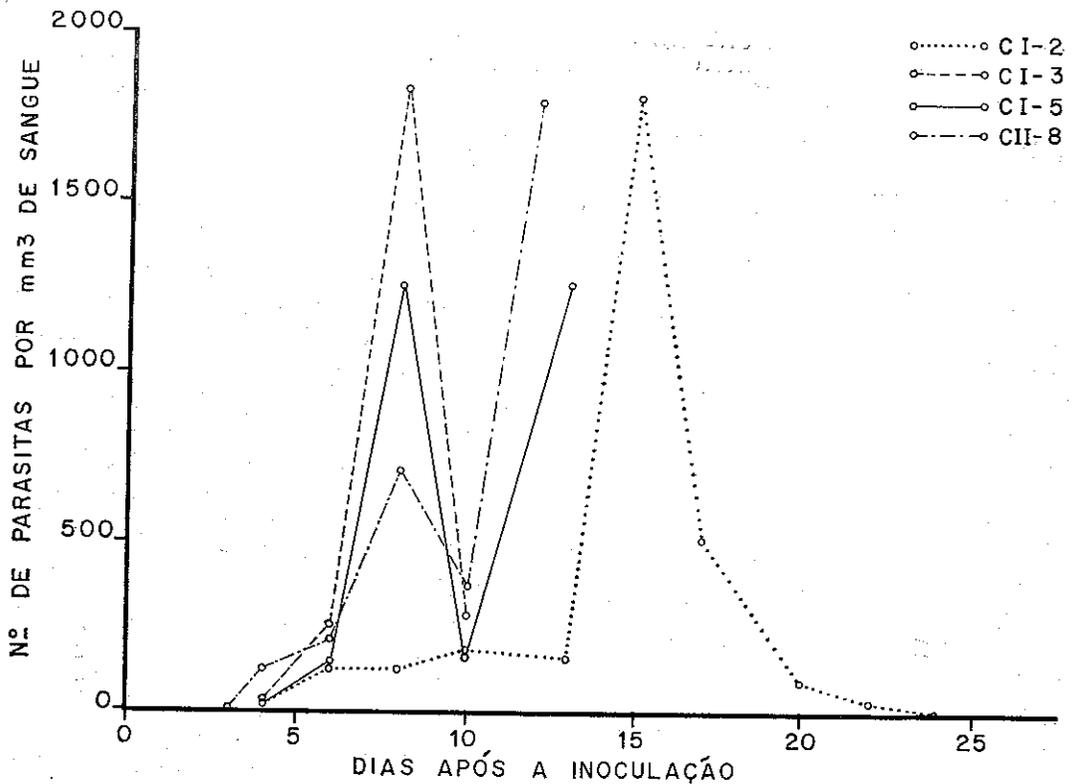


Gráfico I — Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos infectados com a amostra de *T. cruzi* isolada do *Callithrix argentata melanura*

QUADRO III

Suscetibilidade de quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo do *Callithrix argentata melanura*

Triatomíneos	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		N.º	%
<i>Triatoma infestans</i>	30	20	66,7
<i>Panstrongylus megistus</i>	30	30	100,0
<i>Triatoma vitticeps</i>	30	24	80,0
<i>Rhodnius neglectus</i>	30	23	76,7

em alguns casos, coincidiu com a da parasitemia máxima; em outros a morte sobreveio quando a parasitemia já se achava em declínio; finalmente em outros a morte ocorreu quando a parasitemia se achava em uma segunda fase ascensional. No Gráfico I apresentamos os três tipos de curvas observados.

A curta duração do período prepatente, a precocidade da parasitemia máxima, os altos níveis parasitêmicos e a taxa de letalidade que atingiu 96,7% indicam que a amostra ora em estudo é muito patogênica para o camundongo, comportando-se de maneira idêntica à amostra isolada do morcêgo *Desmodus*

rotundus rotundus (Geoffroy, 1810) e estudada por FUNAYAMA & BARRETTO¹¹.

Infetividade para triatomíneos — Procurando verificar a suscetibilidade de triatomíneos frente à amostra estudada, usamos lotes de 30 ninfas em quinto estágio de cada uma das seguintes espécies: *P. megistus*, *T. infestans*, *T. vitticeps* e *R. neglectus*. As ninfas foram divididas em lotes equivalentes, contendo cada um o mesmo número de exemplares de cada espécie, e alimentadas em camundongos com infecção aguda. Os resultados obtidos da pesquisa da infecção pelo exame do conteúdo do tubo digestivo são resumidos no Quadro III.

Estes resultados indicam que a amostra ora em estudos se desenvolve bem nos triatomíneos, já que, além de infetar grande número de insetos, produz infecções intensas, com numerosos flagelados no conteúdo do intestino posterior.

Como acontece com outras amostras de tripanossomos isolados de animais silvestres, o *P. megistus* foi a espécie que se mostrou mais suscetível, com um índice de infecção de 100%.

Provas de proteção — Entre os numerosos camundongos que temos inoculado conseguimos apenas seis sobreviventes com os quais realizamos as provas de proteção. Êses camundongos, três meses após o término da fase aguda, foram reinoculados com 0,5 ml de sangue de camundongos infetados com a amostra Y e exibindo altas parasitemias. De todos os animais reinoculados, apenas um veio a exibir uma discreta parasitemia; os demais mantiveram-se negativos. Seis camundongos testemunhas, com idade e peso equivalentes aos do lote precedente, foram inoculados com o mesmo inóculo; todos tiveram infecção grave, vindo dois a morrer no decurso da experiência.

Tais resultados demonstram que uma infecção prévia pelo tripanossomo do macaco ora em estudos, confere alto grau de resistência contra a reinfeção por amostra altamente virulenta de origem humana.

Cultivabilidade — A semeadura de algumas gotas de sangue de camundongo infetado, em meios de McNeal-Novy e de Warren, levou a bom crescimento inicial. Depois de as-

sim isolada a amostra de tripanossomo tem sido mantida, mediante repiques quinzenais ou trisemanais, sempre com bom crescimento.

CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos e biométricos dos tripanossomos sanguíneos, a patogenicidade para camundongos, a multiplicação intracelular sob a forma de leishmânias, a infetividade para triatomíneos e os resultados das provas de proteção nos levam a identificar o tripanossomo do sagüi, *Callithrix argentata melanura* (Geoffroy, 1812) como *T. cruzi* e a adicionar êste símio à lista já grande de hospedeiros naturais do agente etiológico da doença de Chagas. Nada podemos adiantar sobre o papel do sagüi na epidemiologia da tripanossomose americana porque, até agora, só conseguimos examinar um exemplar do referido símio.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. XL — Natural infection of the monkey, Callithrix argentata melanura (Geoffroy, 1812) by T. cruzi.

A strain of *T. cruzi* was isolated, through xenodiagnosis and subsequent inoculation into baby white mice, from a monkey, *Callithrix argentata melanura* (Geoffroy, 1812), captured at Cuiaba, State of Mato Grosso, Brazil. Blood trypanosomes in experimentally infected baby white mice have a mean total length of 18.97 μ and a mean nuclear index of 1.33. Numerous leishmanial forms are seen in tissue sections, specially in cardiac fibers. The infection in mice is severe, with short (mean 3.5 days) pre-patent period, high parasitemia and mortality rate of 96.7 per cent. Protection tests showed that mice recovered from an infection by the monkey strain have a high resistance against reinfection by the Y strain of *T. cruzi*. The monkey strain is easily cultivated *in vitro*, and infects regularly triatomines, giving the following infection indices: *T. infestans* — 66.7 per cent, *R. neglectus* — 76.7 per cent, *T. vitticeps* — 80 per cent and *P. megistus* — 100 per cent.

ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XL — Infecção natural do simio, *Callithrix argentata melanura* (GEOFFROY, 1812) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:121-128, 1970.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXVI — Infecção natural do rato-d'água, *Nectomys squamipès squamipès* (Branst, 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 vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXX — Infecção natural da cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous azarae* (Wied 1824) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 28:457-468, 1968a.
3. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXII — Infecção natural do simio, *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:115-122, 1969.
4. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVII — Infecção natural do simio *Callithrix penicillata jordani* (Thomas, 1904) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* (Em publicação).
5. AVILA-PIRES, F. D. — Taxonomia e zoogeografia do gênero *Callithrix* Erxleben, 1777 (*Primates, Callithricidae*). *Rev. Brasil. Biol.* 29:49-64, 1969.
6. CARVALHEIRO, J. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XIII — Infecção natural do macaco, *Cebus apella versutus* Elliot, 1910 por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 26: 101-114, 1966.
7. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VI — Infecção natural do roedor *Akodon arviculoides cursör* (Winge, 1885) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:72-81, 1965.
8. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. IX — Infecção natural do *Rattus rattus* (Lin., 1758) por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:169-179, 1965a.
9. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVI — Infecção natural da preá, *Cavia aperea aperea* Erxleben, 1777 por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:267-276, 1966.
10. FERRIOLLI Filho, F.; BARRETTO, M. P. & CARVALHEIRO, J. R. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV — Variação dos dados biométricos obtidos em amostras do *T. cruzi* isoladas de casos humanos da doença de Chagas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 2: 1-8, 1968.
11. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVIII — Infecção natural do morçêgo, *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* (Em publicação).

Recebido para publicação em 1/10/1969.