

ESTUDOS SÔBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*. XXXV — INFECÇÃO NATURAL DO FURÃO, *GALICTIS CUJA FURAX* (THOMAS, 1907) PELO *T. CRUZI*

Francisco FERRIOLLI FILHO ⁽¹⁾ e Mauro Pereira BARRETTO ⁽²⁾

RESUMO

Amostras de *Trypanosoma cruzi* foram isoladas, através do xenodiagnóstico, de dois exemplares de furão, *Galictis cuja furax* (THOMAS, 1907) capturados no Município de Morro Agudo, São Paulo. Estas amostras mostraram-se patogênicas para o camundongo branco jovem, infetando 100% dos animais inoculados com sangue de doador parasitado ou com tripanossomos metacíclicos de triatomíneos. Uma das amostras isoladas foi mantida em laboratório através de passagens alternadas em camundongos e triatomíneos e depois através de repiques de camundongo a camundongo. Os tripanossomos sanguícolas, nestes animais de experiência, medem $22,42 \pm 3,36 \mu$ de comprimento total médio e têm índice nuclear médio de 1,37. Nos camundongos sacrificados durante a fase aguda da infecção observaram-se escassos ninhos de leishmânias no coração. A infecção dos camundongos foi leve, com período prepatente médio de oito dias, com parasitemia baixa, com duração relativamente longa da fase aguda e com mortalidade nula. A amostra do furão confere aos animais que sobrevivem a uma infecção experimental, alto grau de resistência contra reinfeção pela amostra Y do *T. cruzi*. Cultiva-se bem em meios de McNeal-Novy e de Warren. Infeta triatomíneos dando os seguintes índices de infecção: *T. infestans* — 71,4%, *T. sordida* — 57,1%, *R. neglectus* — 60,7% e *P. megistus* — 89,3%.

INTRODUÇÃO

A infecção natural de um carnívoro da família *Mustelidae* foi, pela primeira vez, assinalada na Argentina por MAZZA & col.¹⁷ que encontraram o furão, *Galictis cuja cuja* (MOLINA, 1782), naturalmente infetado por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. Posteriormente, no mesmo país, MAZZA & SCHREIBER¹⁸ registraram a infecção natural de *Galictis cuja huronax* (THOMAS, 1921).

Outro mustélida também encontrado naturalmente infetado no Brasil e na Argentina

é a irara, pertencente ao gênero *Eira* H. SMITH, 1842. Segundo CABRERA³, este gênero contém uma única espécie com diversas subespécies: *E. barbara barbara* (LINNAEUS, 1758) do Brasil Oriental e Meridional, Paraguai e Norte da Argentina, *E. barbara madeirensis* (LÖNNBERG, 1913) do Brasil Ocidental, Equador e Peru, *E. barbara peruana* (NEHRING, 1886), do Peru e Bolívia, *E. barbara poliocephala* (TRAIL, 1821) do Baixo Amazonas, Guianas e Venezuela, e *E. barbara*

Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

(1) Departamento de Parasitologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

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

sinuensis (HUMBOLDT, 1812) do Oeste da Venezuela, Colômbia, Equador, Panamá e América Central.

Aceitando esse ponto de vista, a forma cuja infecção foi assinalada no Paraná por FERREIRA & DEANE⁸, RODRIGUES & MELLO¹⁹ e DEANE⁶ é a *E. barbara poliocephala* e o animal cuja infecção foi registrada na Argentina por MAZZA^{15, 16} e em Mato Grosso por DEANE⁷ é a *E. barbara barbara*.

BARRETTO² refere que teve a oportunidade de examinar 14 exemplares de *Galictis cuja furax* (THOMAS, 1907) e observar a infecção de dois desses exemplares, que foram capturados em Morro Agudo, São Paulo. Como o tripanossomo encontrado não foi suficientemente caracterizado, resolvemos retomar o estudo de uma das amostras, que vem sendo mantida através de passagens alternadas em camundongos e triatomíneos. No presente trabalho relatamos nossas verificações.

O furão, também conhecido no Brasil por cachorrinho-do-mato, é um mustélida pequeno, que, como os demais componentes da subfamília *Mustelinae*, apresenta o corpo alongado, os membros curtos e a cabeça achatada, o que lhe dá uma certa semelhança com a marta. Mede 45 a 55 cm de comprimento (cabeça e corpo) e a cauda tem de 15 a 20 cm. A pelagem macia é cinzenta amarelada, tornando-se escura, quase negra, na garganta, no peito, no ventre e nos membros; muito característica é uma faixa amarela que vai da frente, acima dos olhos, até os ombros²⁰. O furão vive tanto em campos mais ou menos cobertos quanto em matas, ou melhor, capoeiras. Não sobe em árvores, preferindo fazer seu ninho ou procurar abrigo nos espaços entre raízes, em buracos sob pedras ou em tocas no solo. De atividade predominantemente noturna, vive da caça de pequenos mamíferos e aves de cujo sangue se alimenta. Na zona rural também ataca aves domésticas, especialmente galinhas, produzindo grandes estragos, como assinala IHERING¹⁴.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra ora em estudo foi isolada mediante inoculação em camundongos jovens, das formas metacíclicas observadas no intestino posterior de triatomíneos usados no xe-

nodiagnóstico. Após o isolamento ela foi mantida, durante mais de um ano, através de passagens alternadas em triatomíneos e camundongos.

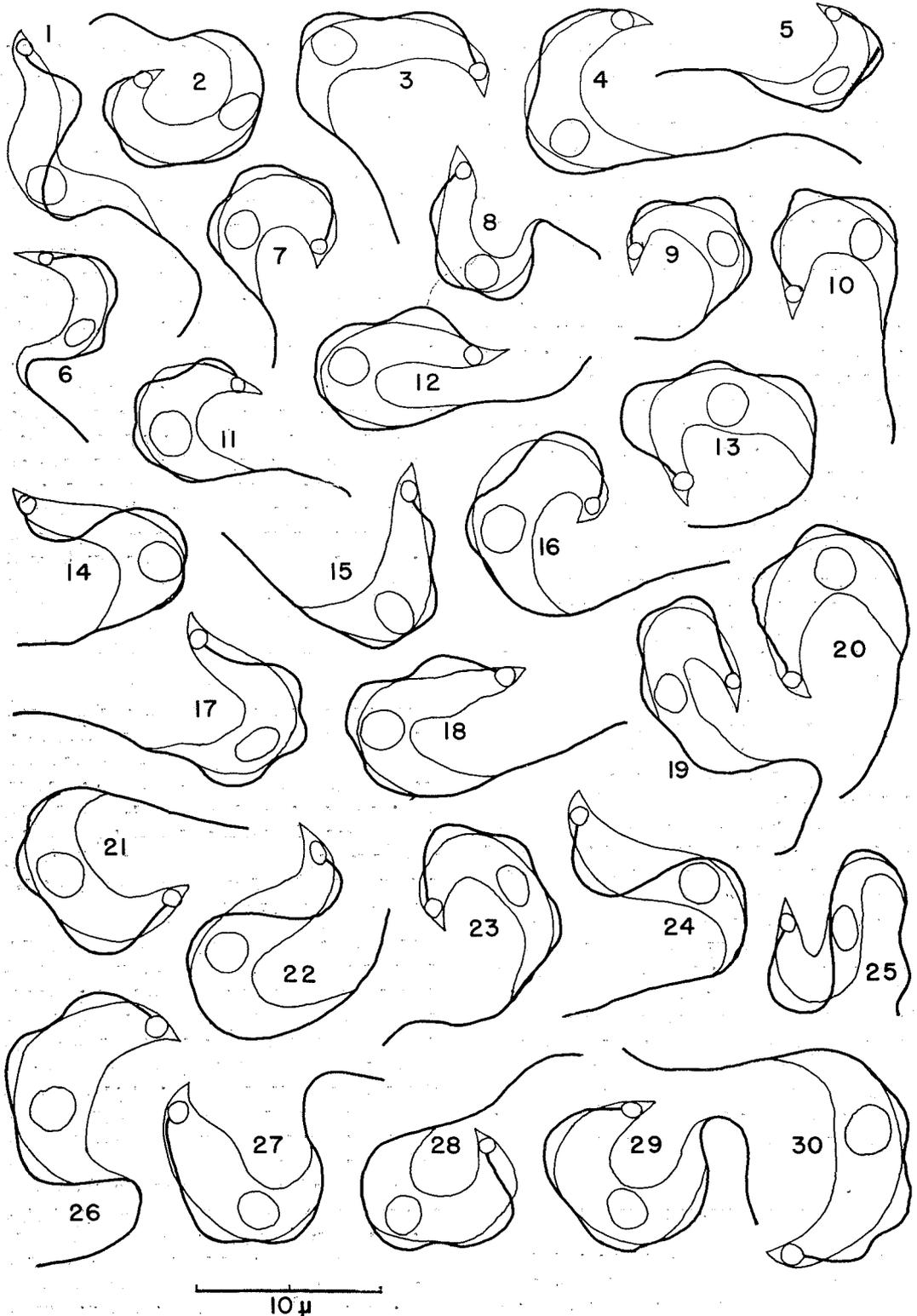
Para o presente estudo partimos de camundongos infetados e mantivemos a amostra nesses animais mediante repiques feitos com intervalos de 15-20 dias, inoculando intraperitonealmente 0,2 ml de sangue colhido durante a fase aguda de doadores. Nos repiques de números dois, quatro e seis, inoculamos lotes maiores de animais para o estudo dos caracteres da infecção.

Os métodos usados para inoculação, estudo morfológico das formas sanguícolas, seguimento da parasitemia, pesquisa de formas tisulares, verificação da suscetibilidade de triatomíneos, cultivabilidade e existência de imunidade cruzada foram os descritos por FERRIOLLI Filho & BARRETTO^{9, 10} e, por isso, deixamos de entrar em maiores detalhes sobre eles.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia das formas sanguícolas — Em esfregaços de sangue dos camundongos os tripanossomos se mostram com aspecto algo variável, mas com os caracteres gerais do *T. cruzi*, isto é, cinetoplasto grande, arredondado ou ovóide e subterminal, membrana ondulante delicada e com pequeno número de ondulações, flagelo relativamente curto e núcleo subcentral (Figs. 1-33).

Nesses esfregaços, feitos com sangue colhido de diferentes animais e em diversas fases da infecção aguda, há um predomínio nítido de formas C grandes e largas, à semelhança do que se observa nas infecções de ratos ou camundongos inoculados com as amostras isoladas do *Akodon arviculoides cursor* (WINGE, 1885), do *Rattus rattus* (LINNAEUS, 1758), do *Cebus apella versutus* ELLIOT, 1910 e da *Cavia aperea aperea* ERXLEBEN, 1777, segundo FERRIOLLI Filho & BARRETTO^{9, 10, 11} e CARVALHEIRO & BARRETTO⁴. A despeito do polimorfismo acentuado nunca observamos formas tão delgadas quanto as descritas por CORRÊA & BARRETTO⁵ na amostra isolada da *Marmosa agilis agilis* (BURMEISTER, 1854).

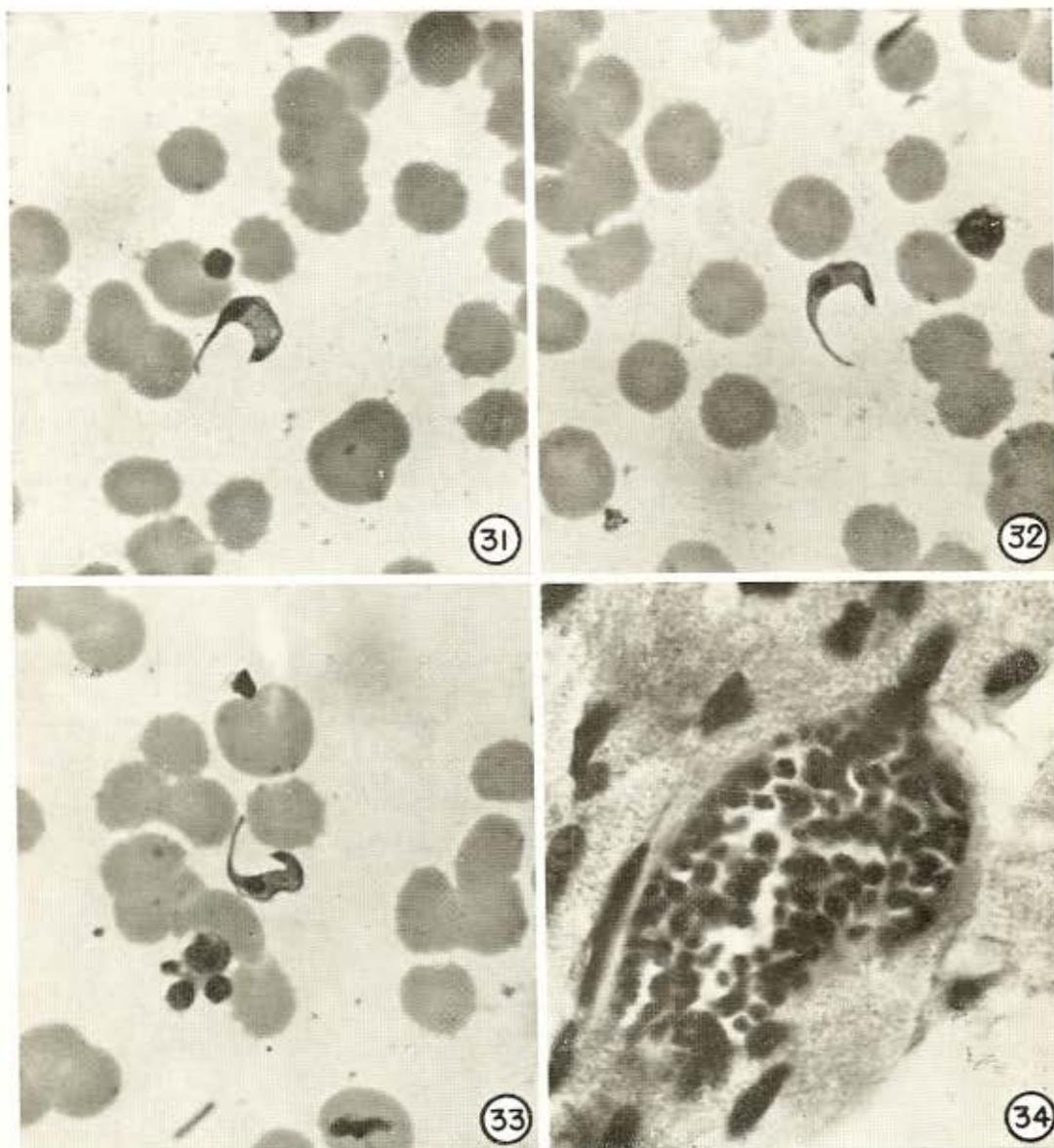


Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguícolas de camundongos infectados com a amostra isolada do furão, *G. cuja furax*

Nas Figs. 1-30 apresentamos desenhos de tripanossomos obtidos de imagens projetadas por um microprojeter Leitz. Os resultados das medidas, tomadas com curvímeter, sobre esses flagelados, são sumariados no Quadro I.

Esses resultados, particularmente o comprimento total médio, 22,42 μ , e o índice nuclear

médio, 1,37, caem dentro dos limites de variação que tem sido observados para amostras de *T. cruzi* isoladas de animais silvestres. Por outro lado, o índice nuclear médio cae dentro dos limites de variação de amostras isoladas do homem, embora o comprimento total médio seja um pouco maior que o limite su-



Figs. 31-33 — Microfotografias de tripanossomos sanguícolas de camundongos infetados com a amostra isolada do furão, *G. cuja furax*, 1.200 X. Fig. 34 — Ninho de leishmânias em fibra cardíaca de camundongo infetado com a amostra isolada do furão, *G. cuja furax*, 1.200 X.

perior assinalado para essas amostras por FERRIOLLI Filho & col.¹².

Morfologia das formas tissulares — O exame de cortes de tecidos e órgãos de camundongos sacrificados durante a fase aguda da infecção mostrou a presença de ninho de leishmânias no coração (Fig. 34). O parasitismo é pouco acentuado, observando-se uma ou outra fibra parasitada. As leishmânias têm as dimensões e a estrutura típicas do *T. cruzi*. Não se observaram leishmânias em impressões de órgãos.

Infecção de camundongos — Para o estudo do comportamento da infecção foram destinados 30 camundongos entre os inoculados no segundo, quarto e sexto repiques. Esses animais foram observados até o 60º dia após a inoculação e os dados obtidos são sumariados no Quadro II.

O exame desse quadro evidencia que o período prepatente da infecção variou entre 7 e 12 dias, com média de 8 dias. Não houve tendência nítida de diminuição ou aumento do período prepatente nas passagens sucessivas.

A parasitemia, embora variável de animal para animal, foi quase sempre baixa. Em apenas quatro camundongos, os de números

FII-6, FII-7, FII-10 e FIV-1, ela superou o nível de 500 flagelados por mm³ de sangue, no acme da infecção. Não houve tendência para elevação ou decréscimo dos níveis parasitários máximos nas passagens sucessivas. Os pontos máximo das curvas parasitemicas foram atingidas entre o 15.º e o 38.º dias após a inoculação. Assim, o comportamento da parasitemia foi semelhante àquele observado por ALBUQUERQUE & BARRETTO¹ e por FUNAYAMA & BARRETTO¹³ em ratos inoculados com amostras isoladas respectivamente do *Nectomys squamipes squamipes* (BRANTS, 1827) e do *Oryzomys capito laticeps* (LUND, 1841) e ao observado por FERRIOLLI Filho & BARRETTO¹¹ em camundongos infetados com a amostra isolada da *Cavia aperea aperea* ERXLEBEN, 1777.

A duração da fase aguda variou entre 27 e 57 dias. Todos os camundongos infetados sobreviveram. Tal fato, aliado à baixa parasitemia, mostra a pequena virulência da amostra para esses animais de laboratório.

Os tipos de curvas parasitemicas variaram muito de animal para animal, mesmo dentro de um dado lote. Com maior frequência observamos curvas completamente irregulares do tipo FII-3 apresentado no Gráfico I. Tam-

QUADRO I

Resultados de mensurações feitas sobre tripanossomos sanguícolas de camundongos inoculados com amostra do *Galictis cuja furax*

	Medidas em μ		
	mínima	máxima	média
Comprimento do flagelo	3,21	10,26	6,75 \pm 1,93
Distância NA	4,49	11,53	6,58 \pm 1,30
Distância NP	6,15	10,90	9,06 \pm 0,34
Comprimento do corpo	11,92	20,51	15,67 \pm 1,89
Comprimento total	15,67	26,92	22,42 \pm 3,36
Largura do corpo	2,31	4,49	3,16 \pm 0,19
Diâmetro do cinetoplasto	0,64	1,03	0,84 \pm 0,14
Índice nuclear (NP/NA)	0,78	1,89	1,37

QUADRO II

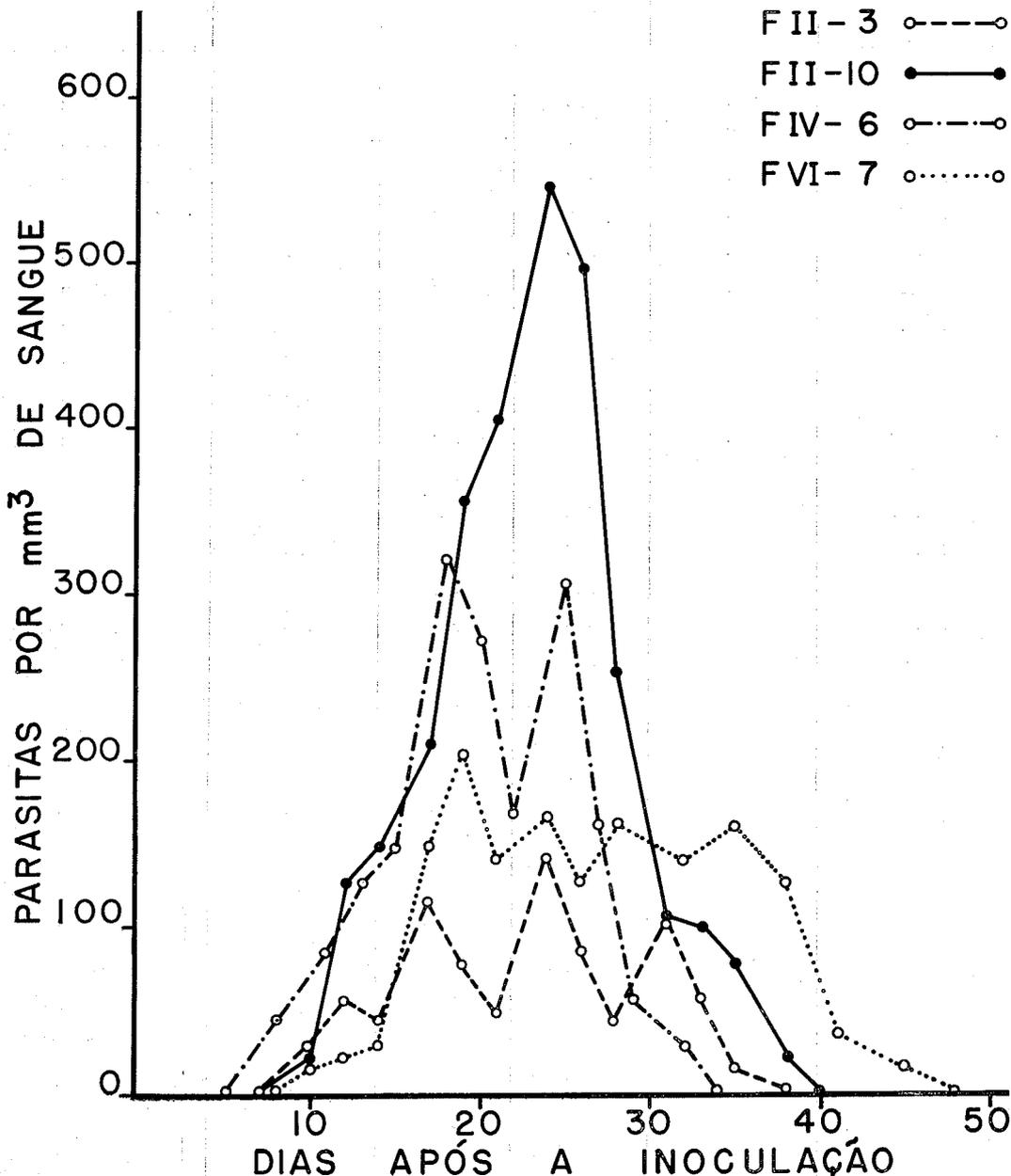
Caracteres gerais da infecção experimental de camundongos pelo tripanossomo do *Galictis cuja furax*

N.º do animal	Período prepa- tente (dias)	Parasitemia máxima		Duração da fase aguda	Observações
		N.º/mm ³	Dia após a inoculação		
FII-1	7	495	21º	45	sobreviveu
FII-2	10	147	24º	38	sobreviveu
FII-3	7	140	24º	38	sobreviveu
FII-4	7	126	24º	31	sobreviveu
FII-5	7	140	21º	57	sobreviveu
FII-6	7	686	31º	40	sobreviveu
FII-7	10	966	24º	42	sobreviveu
FII-8	5	210	19º	31	sobreviveu
FII-9	5	385	31º	54	sobreviveu
FII-10	7	546	24º	40	sobreviveu
FIV-1	5	539	25º	39	sobreviveu
FIV-2	8	140	22º	32	sobreviveu
FIV-3	8	336	22º	36	sobreviveu
FIV-4	5	217	25º	39	sobreviveu
FIV-5	5	196	15º	36	sobreviveu
FIV-6	5	322	18º	34	sobreviveu
FIV-7	8	126	18º	32	sobreviveu
FIV-9	8	175	18º	27	sobreviveu
FVI-1	12	126	38º	51	sobreviveu
FVI-2	8	245	24º	38	sobreviveu
FVI-3	10	301	32º	51	sobreviveu
FVI-4	10	154	17º	38	sobreviveu
FVI-5	8	245	24º	45	sobreviveu
FVI-6	10	196	26º	35	sobreviveu
FVI-7	8	203	19º	48	sobreviveu
FVI-8	10	343	21º	41	sobreviveu
FVI-9	12	364	17º	38	sobreviveu
FVI-10	10	266	24º	38	sobreviveu
FVI-11	8	175	32º	45	sobreviveu
FVI-12	10	175	24º	45	sobreviveu

bém foram freqüentes as curvas com dois picos, sendo o primeiro mais elevado que o segundo (Gráfico I, FIV-6). Outro tipo menos freqüentemente observado é o FVI-7 apresentado no Gráfico I: ascensão regular até

atingir o ponto máximo, manutenção em "plateau" irregular durante algum tempo e depois queda. O tipo de curva com ascensão e queda regulares foi ocasionalmente observado (Gráfico I, FII-10).

Gráfico I



Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos infectados com *T. cruzi* isolado do furão, *G. cuja furax*.

Injetividade para triatomíneos — Examinamos um total de 112 ninfas de triatomíneos pertencentes a quatro espécies: *T. infestans*, *T. sordida*, *R. neglectus* e *P. megistus*, ninfas essas que foram alimentadas em camundongos com infecção aguda. A pesquisa de tripanossomos metacíclicos no conteúdo do intestino posterior obtido por dissecação desses triatomíneos, um mês após a alimentação, deu os resultados sumariados no Quadro III.

QUADRO III

Suscetibilidade de quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo do *Galictis cuja furax*

Espécies	Exemplares alimentados	Exemplares infetados	
		N.º	%
<i>T. infestans</i>	28	20	71,4
<i>T. sordida</i>	28	16	57,1
<i>R. neglectus</i>	28	17	60,7
<i>P. megistus</i>	28	25	89,3

Tais resultados mostram que, à semelhança do que ocorre com a maioria das amostras do *T. cruzi* até agora isoladas de animais silvestres, a amostra do furão infetou maior proporção de exemplares de *P. megistus*.

Cultivabilidade — A sementeira em meio de ágar-sangue, de gotas de sangue de camundongos infetados foi seguida de bom crescimento inicial. Uma vez isolada em cultura, a amostra do furão vem sendo mantida, com bom crescimento, em meio de McNeal-Novy e em meio líquido de Warren, mediante repiques quinzenais.

Imunidade cruzada — Procurando verificar se uma infecção prévia pela amostra de tripanossomo do furão confere resistência a camundongos contra posterior infecção por amostra virulenta de *T. cruzi*, reinoculamos com a amostra Y dez camundongos que passaram para a fase crônica, usando como inóculo 0,2 ml de sangue obtido por punção cardíaca de doadores com infecção aguda pela referida amostra Y. Como testemunhas

inoculamos, na mesma ocasião e com inóculo idêntico, dez camundongos limpos, com idade e peso equivalentes aos dos do lote anterior.

Seis dias após a inoculação todos os animais do lote testemunha já apresentavam parasitemia elevada, vindo a morrer dentro de 15 dias. Todos os camundongos com infecção prévia pela amostra de tripanossomo do furão continuaram negativos em repetidos exames a fresco.

CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos e biológicos, aliados aos resultados das provas de imunidade cruzada, levam-nos a identificar o flagelado do furão, *Galictis cuja furax* (THOMAS, 1907) como *T. cruzi* e a considerar êsse mustélida como mais um hospedeiro natural do agente etiológico da doença de Chagas.

Pouco podemos adiantar a respeito do papel do furão na cadeia epidemiológica da tripanossomose americana porque, até agora, só conseguimos encontrar dois animais infetados entre 14 que examinamos. Nada podemos dizer sobre os transmissores porque, até agora, não tivemos a oportunidade de encontrar triatomíneos em tocas de furão.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. XXXV — Natural infection of the mustelid, Galictis cuja furax (Thomas, 1907) by T. cruzi

Strains of *T. cruzi* were isolated, though xenodiagnosis, from two specimens of *Galictis cuja furax* (Thomas, 1907) trapped at Morro, Agudo, State of São Paulo, Brazil. These strains are pathogenic for baby mice, infecting one hundred per cent of animals inoculated with blood parasites or metacyclic trypanosomes from triatomines. One of the strains was maintained in the laboratory alternate passages in mice and triatomines and later by passages from mice to mice.

Blood trypanosomes in experimentally infected mice have a mean total length of $22.42 \pm 3.36 \mu$ and a mean nuclear index of 1.37. Scanty leishmanial forms were seen in heart sections of mice killed during the

acute phase of the infection. The infection was mild, with low parasitemia and no mortality. Cross immunity tests showed that mice recovered from an infection by the mustelid strain had a high resistance against reinfection by the Y strain of *T. cruzi*. The mustelid strain was easily cultivated in blood agar medium and in Warren's liquid medium. It infected regularly four species of triatomines tested, giving the following infection indices: *T. infestans* — 71.4 per cent, *T. sordida* — 57.1 per cent, *R. neglectus* — 60.7 per cent and *P. megistus* — 89.3 per cent.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores 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. BARRETTO, M. P. — Aspectos da epidemiologia da tripanossomose americana, infecção com focos naturais, com especial referência a região Noroeste do Estado de São Paulo. Tese. Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, 1966.
3. CABRERA, A. — Catálogo de los mamíferos de America del Sur (Metatheria — Unguiculata — Carnivora). *Rev. Mus. Arg. Ci. Nat. Bernardino Rivadavia* 4:1-307, 1957.
4. 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.
5. CORRÊA, F. M. A. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. III — Infecção natural do marsupial *Marmosa agilis agilis* por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6: 157-166, 1964.
6. DEANE, L. M. — Tripanossomídeos de mamíferos da Região Amazônica. I — Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres no Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:15-28, 1961.
7. DEANE, L. M. — Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Rev. Brasil. Malar. Doenças Trop.* 16:27-30, 1964.
8. FERREIRA, L. C. & DEANE, C. M. — Novo depositário silvestre do *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909), a irara: *Tayra barbada* (L.). *Brasil Med.* 52:1159-1161, 1938.
9. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VI — Infecção natural do roedor *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:72-81, 1965.
10. 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, 1965.
11. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XIV — 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.
12. 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.
13. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXIV — Infecção natural do rato, *Oryzomys capito Laticeps* (Lund, 1841) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* (Em publicação).
14. IHERING, R. — *Da Vida dos nossos Animais*. São Leopoldo, Rotermund & Co., 1934.
15. MAZZA, S. — La enfermedad de Chagas en la República Argentina. VI Cong. Nac. Med. (Cordoba) 3:9-20, 1939.
16. MAZZA, S. — Otros mamíferos infectados naturalmente por *Schizotrypanum cruzi*, o *cruzi*-similes en provincias de Jujuy y Salta. *Mepa* 45:119-134, 1940.
17. MAZZA, S.; MYARA, S. J. & SANJURJO, H. S. — Comprobación de animales domésticos y de nuevas especies de mamíferos silvestres portadores de *Schizotrypanum cruzi* en los alrededores de la ciudad de Mendoza. 9.º Reun. Soc. Argent. Pat. Reg. 1:548-559, 1936.

FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXV — Infecção natural do furão, *Galiotis cuja furax* (Thomas, 1907) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:264-273, 1969.

18. MAZZA, S. & SCHEIBER, F. — Hallazgo en el Dep. Gral. Obligado, Sta. Fe, de otra especie de mustelido naturalmente infectado com *S. cruzi*; de *T. infestans* infestados en nidos de comadrejas; de *T. platensis* infestados em nidos de psitacidos Y de *P. coreodes* sin infestación en nidos de dendrocolaptidos. *Mepra* 34:17-35, 1938.
19. RODRIGUES, B. A. & MELLO, G. B. — Contribuição ao estudo da tripanossomiase americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 37: 77-94, 1942.
20. VIEIRA, C. — Carnívoros do Estado de São Paulo. *Arq. Zool.* (São Paulo) 5:135-175, 1946-1948.

Recebido para publicação em 3/2/1969.