

ESTUDOS SÔBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*. XXXVII — INFECÇÃO NATURAL DO SÍMIO *CALLITHRIX PENICILLATA JORDANI* (THOMAS, 1904) PELO *T. CRUZI*

Rosa Domingues Ribeiro ALBUQUERQUE ⁽¹⁾ e Mauro Pereira BARRETTO ⁽²⁾

RESUMO

Amostra de *T. cruzi* foi isolada, através do xenodiagnóstico, de um exemplar do símio *Callithrix penicillata jordani* (Thomas, 1904) capturado no Município de Uberaba, MG. Esta amostra mostrou-se patogênica para ratos e camundongos brancos jovens, infetando 100% dos animais inoculados com sangue de doadores parasitados ou com formas metacíclicas do intestino posterior de triatomíneos infetados. As formas sanguícolas, em camundongos, medem 21,57 μ de comprimento total médio e têm índice nuclear médio de 1,33. Em animais inoculados e examinados durante a fase aguda da infecção, observaram-se ninhos de leishmânias sobretudo no coração. A infecção dos camundongos foi relativamente grave, caracterizando-se por um período prepatente médio de 8,4 dias, parasitemia variável, mas muitas vezes bem elevada, duração da fase aguda relativamente longa e taxa de letalidade de 63,3%. A amostra em estudo confere aos animais que sobrevivem, alto grau de resistência contra reinfecções pela amostra Y do *T. cruzi*. Cultiva-se bem em meios NNN e de Warren. Infeta regularmente triatomíneos, dando os seguintes índices de infecção: *P. megistus* — 96,7%, *T. infestans* — 93,3%, *R. neglectus* — 86,7% e *R. prolixus* — 90,0%.

INTRODUÇÃO

Em trabalhos anteriores, CARVALHEIRO & BARRETTO ⁵ e ALBUQUERQUE & BARRETTO ³ discutem o problema da infecção natural dos símios americanos pelo *T. cruzi*, concluindo que as seguintes espécies ou subespécies podem ser consideradas como reservatórios do parasita em a natureza: *Alouatta senicola* (?) *stramineae* (Humboldt, 1812), *Ateles belzebuth hybridus* Geoffroy, 1829, *Ateles geoffroyi grisescens* Gray, 1865, *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758), *Cebus albifrons unicolor* Spix, 1823, *Cebus apella apella* (Linnaeus, 1758), *Cebus apella verutus* Elliot, 1910, *Cebus capucinus capuci-*

nus (Linnaeus, 1758), *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823), *Marikina leucopus* (Günther, 1876), *Saimiri sciureus sciureus* (Linnaeus, 1758), *Saimiri sciureus* (?) *macrodon* Elliot, 1857 e *Saimiri sciureus* (?) *nigriceps* Thomas, 1843.

No decurso de nossas investigações sôbre reservatórios silvestres do *T. cruzi* pudemos examinar um exemplar de *Callithrix penicillata jordani* (Thomas, 1904) que se mostrou infetado. Os resultados dos estudos da amostra isolada dêsse símio constituem objeto do presente trabalho.

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

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

O *C. penicillata jordani*, vulgarmente conhecido como sagüi ou sauim, é um pequeno símio que mede 22-24 cm de comprimento (cabeça e corpo) e que tem uma cauda mais longa, com 26-28 cm de comprimento. A cabeça é pardo-acinzentada, com uma mancha semicircular branca na fronte; as orelhas são pretas e nuas e trazem um longo tufo de pêlos pretos em forma de pincel, tufo êsse inserido na base do pavilhão auricular. O dorso é revestido de pêlos cinzentos-esbranquiçados, com base ocrácea, alternados com pêlos escuros que formam faixas transversais; o peito e o ventre são revestidos de pêlos cinzentos claros. Os membros são cinzentos claros ou amarelados e as mãos e pés são amarelados. A cauda é cinzenta escura, com anéis esbranquiçados^{4, 12}.

Como as demais formas do gênero, o *C. penicillata jordani* habita matas e capoeiras onde vive em pequenos bandos ou aos pares, movimentando-se com extrema agilidade nos ramos das árvores; a cauda não é prensil, servindo como que de contrapêso quando o animal se locomove ou se senta. Ao movimentar-se nas árvores, a procura de alimento ou brincando uns com os outros, os sagüis soltam gritos característicos, rapidamente repetidos. Quando não estão em movimento enrolam-se em forma de bola e dormem mesmo durante o dia. Alimentam-se de insetos e frutos, não desgostando de ovos de pássaros. Deixam-se pegar facilmente em armadilhas e domesticam-se em pouco tempo, sendo, por isso, muito procurados como animais de estimação^{4, 11}.

Sua distribuição geográfica compreende os Estados de Minas Gerais e Goiás, sendo por vezes encontrado na região nordeste do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra ora em estudo foi isolada de um exemplar de *Callithrix penicillata jordani*, capturado no Município de Uberaba, MG, mediante xenodiagnóstico e inoculação das formas metacíclicas em camundongos com 20 dias de idade. Uma vez isolada, a amostra foi mantida em camundongos mediante sub-inoculações de sangue colhido durante a fase aguda da infecção de doadores, sendo

os repiques feitos com intervalos de 14 dias. Nos repiques 1, 3 e 4 foram inoculados lotes maiores de animais para o estudo do comportamento da infecção.

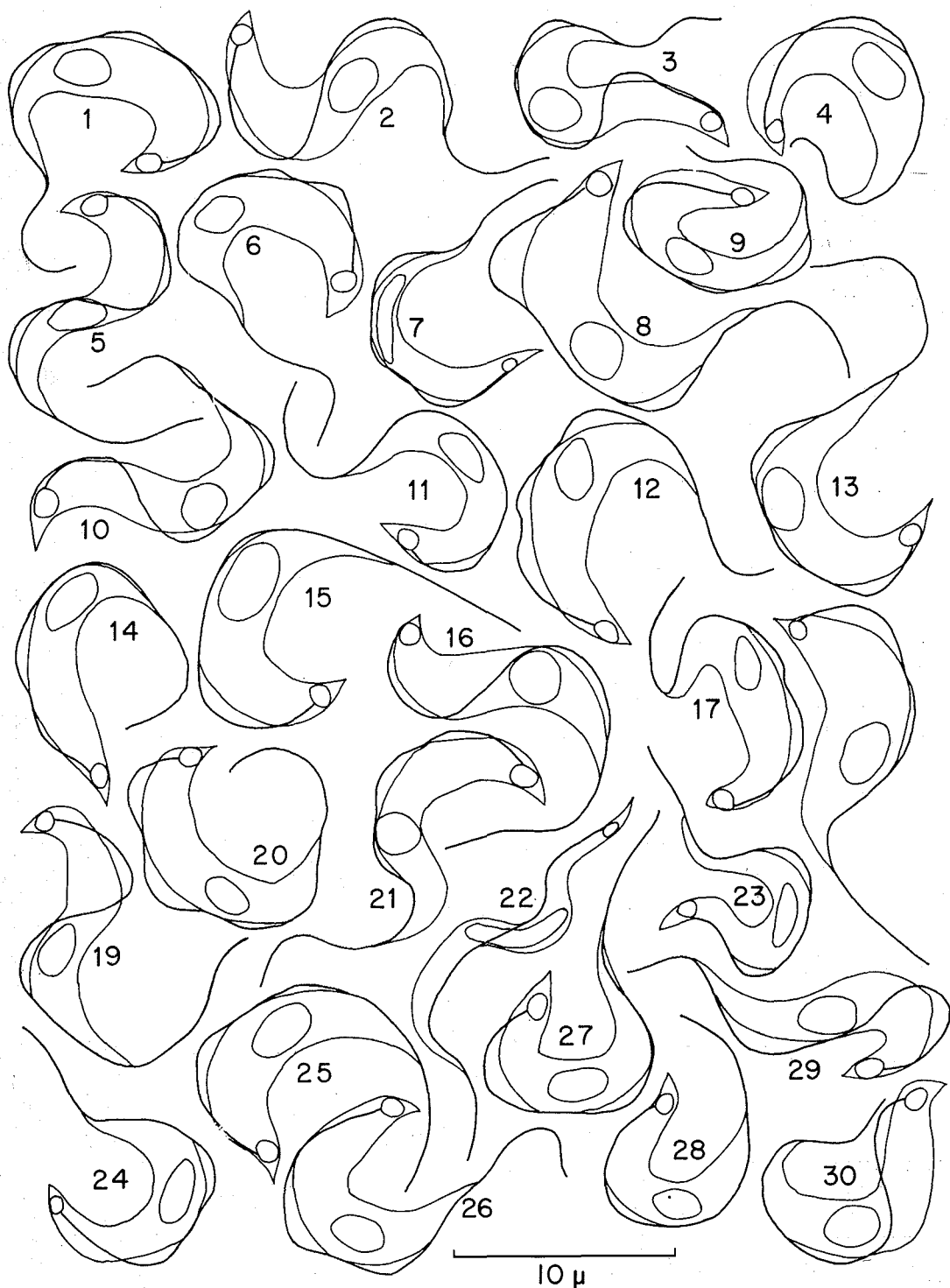
Os métodos usados para inoculação, controle da parasitemia, estudo morfológico das formas sanguícolas e tissulares, verificação da suscetibilidade de triatomíneos, desenvolvimento em meios artificiais de cultura e existência de imunidade cruzada foram aqueles descritos por ALBUQUERQUE & BARRETTO^{1, 2} e, por isso, nos abstermos de entrar em maiores detalhes a respeito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

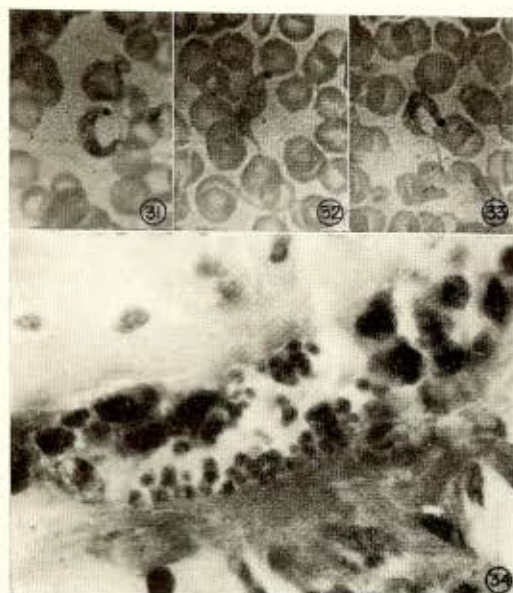
Morfologia das formas sanguícolas — Os tripanossomos encontrados no sangue de camundongos inoculados, embora de aspecto variável, são semelhantes ao *T. cruzi*, isto é, têm núcleo situado no terço médio do corpo, cinetoplasto volumoso, arredondado e subterminal, membrana ondulante delicada e com pequeno número de ondulações e flagelo livre curto.

Em esfregaços de sangue colhidos de diversos camundongos em diferentes fases da infecção, há nítida predominância de formas em C, de largura e comprimento médios; raramente são vistos tripanossomos mais largos (Figs. 18 e 32) mas não tão largos quanto os observados nas amostras isoladas do *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885), do *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758) da *Cavia aperea aperea* (Erxleben, 1777) e *Cebus apella versutus* Elliot, 1910, e estudadas por FERRIOLLI & BARRETTO^{7, 8, 9}, e por CARVALHEIRO & BARRETTO⁵. Por outro lado, são raras as formas longas e finas (Fig. 22) que predominam na amostra Y de origem humana, segundo FERRIOLLI & col.¹⁰ e que são também vistas na amostra isolada da *Marmosa agilis agilis* (Burmeister, 1854) e estudada por CORRÊA & BARRETTO⁶.

Desenhos de tripanossomos decalcados de imagens obtidas por microprojeção direta, com auxílio de um microprojektor Leitz, são apresentados nas Figs. 1-30. Os resultados da micrometria, efetuada com curvímetro, sobre tais desenhos, são resumidos no Quadro I.



Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguicolas de camundongos experimentalmente infectados com *T. cruzi*, do *Callithrix penicillata jordanii*



Figs. 31-33 — Microfotografias de tripanossomos sanguícolas de camundongos experimentalmente infetados com *T. cruzi*, do *Callithrix penicillata jordanii* (1.200 X). Fig. 34 — Microfotografia de leishmânias no coração de camundongos experimentalmente infetados com *T. cruzi*, do *Callithrix penicillata jordanii* (1.200 X)

Esses resultados, sobretudo o comprimento total médio, 21,57 μ , e o índice nuclear médio, 1,33, caem dentro dos limites de variação observados até agora em amostras de *T. cruzi* isoladas de animais silvestres, assim como dentro dos limites de variação de amostras isoladas de casos humanos da doença de Chagas, por FERRIOLLI & col.¹⁰.

Morfologia das formas tissulares — O exame de cortes de tecidos e órgãos de camundongos experimentalmente infetados e sacrificados durante a fase aguda da infecção, revelou a presença de ninhos de leishmânias relativamente frequentes em fibras cardíacas. Encontramos também leishmânias livres em impressões de órgãos, coradas pelo Giemsa.

As formas observadas têm a morfologia e as dimensões da leishmânias do *T. cruzi*.

Infecção de animais de laboratório — Devemos, de início, assinalar que a amostra isolada do sagüi mostrou-se patogênica tanto para camundongos como para ratos brancos jovens, infetando 100% dos animais inoculados quer com formas metacíclicas, quer com

QUADRO I

Resultados da micrometria realizada sobre tripanossomos do sangue periférico de camundongos experimentalmente infetados com a amostra do *Callithrix penicillata jordanii*

Especificação	Medidas em μ		
	mínima	máxima	média
Comprimento do flagelo	2,8	9,0	5,93
Distância NA	5,0	10,5	6,71
Distância PN	7,5	10,0	8,93
Comprimento do corpo	12,5	19,5	15,64
Comprimento total	18,0	26,0	21,57
Largura do corpo	1,2	4,0	2,62
Diâmetro do cinetoplasto	0,5	1,2	0,81
Relação PN/NA	0,85	1,82	1,33

QUADRO II

Caracteres gerais da infecção de camundongos infetados pela amostra de tripanossomo, do *Callithrix penicillata jordani*

N.º do animal	Período prepatente (dias)	Parasitemia máxima		Duração da fase aguda
		N.º/mm ³	Dias após inoculação	
CI-1	9	1064	39.º	Morreu no 48.º dia
CI-2	11	1925	41.º	Morreu no 50.º dia
CI-3	9	686	39.º	44 dias
CI-4	13	644	46.º	Morreu no 50.º dia
CI-5	13	371	48.º	42 dias
CI-6	9	2478	41.º	Morreu no 48.º dia
CI-7	11	1302	37.º	37 dias
CI-8	11	728	44.º	40 dias
CI-9	13	280	41.º	42 dias
CI-10	11	392	39.º	Morreu no 41.º dia
CIII-1	7	1603	35.º	44 dias
CIII-2	7	4452	30.º	Morreu no 32.º dia
CIII-3	7	1659	28.º	Morreu no 34.º dia
CIII-4	7	10318	42.º	44 dias
CIII-5	7	959	37.º	40 dias
CIII-6	7	623	30.º	40 dias
CIII-7	7	2604	28.º	Morreu no 32.º dia
CIII-8	7	420	28.º	44 dias
CIII-9	7	2884	37.º	37 dias
CIII-10	7	1526	28.º	Morreu no 32.º dia
CIV-1	7	385	19.º	Morreu no 20.º dia
CIV-2	7	2009	30.º	Morreu no 34.º dia
CIV-3	7	735	16.º	Morreu no 18.º dia
CIV-4	6	588	21.º	Morreu no 27.º dia
CIV-5	7	3206	33.º	37 dias
CIV-6	7	399	19.º	Morreu no 22.º dia
CIV-7	7	770	16.º	Morreu no 18.º dia
CIV-8	7	7707	19.º	Morreu no 20.º dia
CIV-9	9	1463	28.º	33 dias
CIV-10	7	672	19.º	Morreu no 20.º dia

tripanosomos sanguícolas. Como a infecção, de início, mostrou-se mais regular em camundongos, resolvemos estudar o comportamento da amostra nesses animais.

Como dissemos, uma vez isolada, a amostra foi mantida em camundongos com 20 dias de idade, através de subinoculações intra-peritoneais de sangue citratado colhido de doadores com infecção aguda.

Para estudo do comportamento da infecção, destinamos 30 camundongos dentre os inoculados no primeiro, terceiro e quarto repiques. No Quadro II sumariamos os resultados de nossas observações.

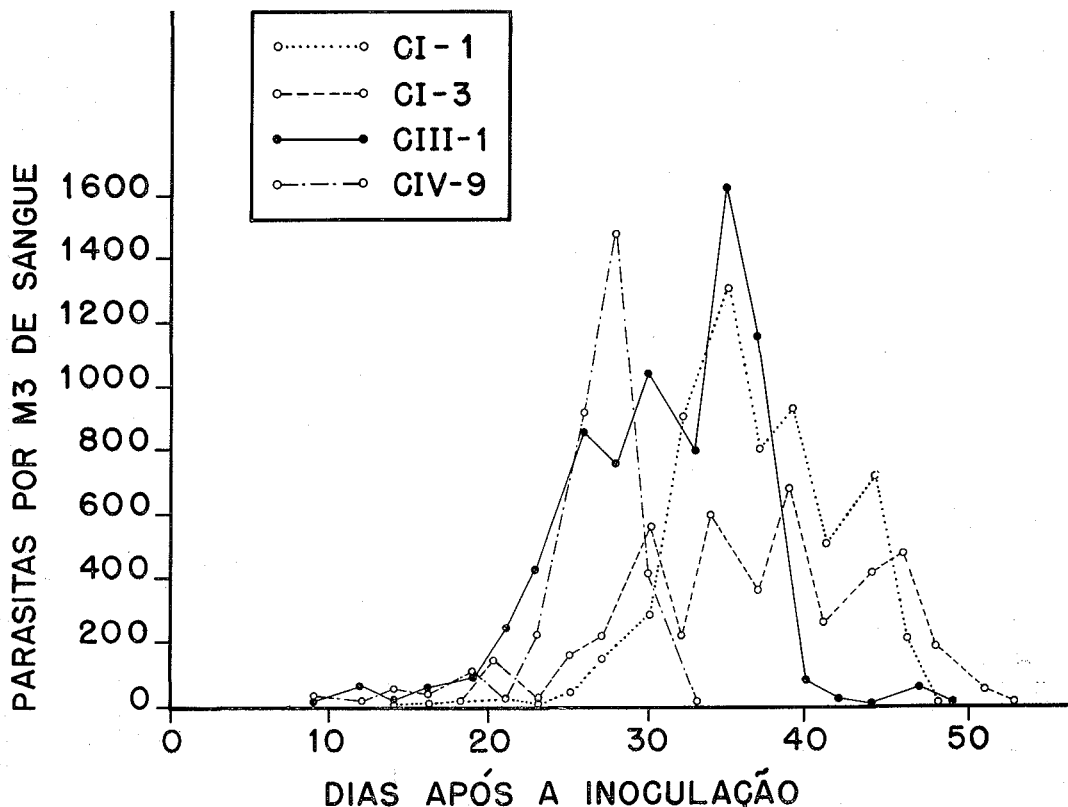
O exame desse quadro indica que o período prepatente variou dentre 6 e 13 dias, com média de 8,4 dias. Releva assinalar que a duração desse período foi maior no primeiro repique que no terceiro e quarto.

A parasitemia mostrou-se variável, mesmo entre animais de um dado lote. Os níveis parasitêmicos máximos ora foram relativamente baixos, ora médios, ora altos; no conjunto variaram entre 280 e 10318 flagelados por mm^3 . Não houve diferenças quanto aos níveis parasitêmicos máximos, entre os animais dos repiques sucessivos. A parasitemia máxima foi atingida entre o 16.^o e o 48.^o dia. De modo geral, no primeiro repique, a parasitemia máxima foi atingida mais tardiamente, isto coincidindo, até certo ponto, com a maior duração do período prepatente da infecção nos animais desse lote.

A duração da fase aguda, nos 13 camundongos que sobreviveram, variou entre 33 e 44 dias, não havendo diferenças entre os animais dos diferentes lotes.

A taxa de letalidade foi relativamente alta, 63,3% dos animais inoculados vindo a fale-

GRÁFICO I



Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos infectados com *T. cruzi*, do *Callithrix penicillata jordani*

cer entre o 15.º e o 50.º dia após a inoculação. Alguns animais morreram durante a fase aguda; outros quando a parasitemia já estava em declínio e outros quando a fase aguda já havia sido superada. Não se observou relação entre a frequência da morte e a intensidade da parasitemia.

Assim, por exemplo, o camundongo CI-4 que teve uma parasitemia máxima de apenas 644 flagelados por mm³ de sangue, morreu no 50.º dia, depois de praticamente superada a fase aguda; pelo contrário, o camundongo CIII-4, que teve uma parasitemia máxima de 10.318 flagelados por mm³ de sangue no 42.º dia após a inoculação, sobreviveu após uma fase aguda que durou 44 dias.

Os tipos de curvas parasitêmicas variaram muito, mesmo em animais de um dado lote. De modo geral, elas caem dentro dos tipos descritos por CORRÊA & BARRETTO⁶ e FERRIOLLI & BARRETTO^{8,9}. Com maior frequência observamos o tipo irregular (Gráfico I, CI-3), quer em camundongos que sobreviveram, quer naqueles que vieram a falecer; com muito menor frequência observamos as curvas com ascensão regular e queda irregular (Gráfico I, CI-1) ou com ascensão irregular e queda regular (Gráfico I, CIII-1); em uma só ocasião observamos curva com ascensão e queda regulares (Gráfico I, CIV-9).

Os caracteres da infecção caem, assim, dentro dos limites de variação que temos observado em camundongos ou ratos infetados com amostras várias de *T. cruzi* isoladas de outros animais silvestres.

Infetividade para triatomíneos — Para verificar a suscetibilidade de triatomíneos à amostra em estudo, usamos 120 ninfas em quinto estágio das seguintes espécies: *P. megistus*, *T. infestans*, *R. neglectus* e *R. prolixus*. Esses triatomíneos foram alimentados em camundongos com infecção aguda e examinados 30 dias depois. Os resultados desse exame são sumariados no Quadro III.

Tais resultados indicam que em tôdas as quatro espécies de triatomíneos experimentadas o tripanossomo do sagüi se desenvol-

QUADRO III

Suscetibilidade de triatomíneos à amostra de tripanossomo isolada do *Callithrix penicillata jordani*

Espécie	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		N.º	%
<i>P. megistus</i>	30	29	96,7
<i>T. infestans</i>	30	28	93,3
<i>R. neglectus</i>	30	26	86,7
<i>R. prolixus</i>	30	27	90,0

veu bem, parecendo, porém, que o *P. megistus* seja o mais suscetível, uma vez que seu índice de infecção superou os demais.

Cultivabilidade — Inoculando algumas gotas de sangue de camundongos com infecção aguda, em tubos de cultura com meios de McNeal-Novy e de Warren, obtivemos bom crescimento inicial do tripanossomo de sagüi. Esse tripanossomo foi, depois, facilmente mantido em culturas, fazendo-se repiques com intervalos de 15 dias.

Provas de proteção — Buscando verificar se uma infecção prévia com a amostra em estudos confere imunidade contra reinfecção por amostra virulenta de *T. cruzi*, assim procedemos: 10 camundongos que se achavam na fase crônica da infecção pela amostra isolada do sagüi foram reinoculadas com a amostra Y; como testemunhas inoculamos 10 camundongos limpos, cuja idade e peso eram equivalentes aos dos do lote anterior.

O exame desses camundongos mostrou que todos os animais testemunhas adquiriram a infecção, vindo alguns a morrer entre o 15.º e o 20.º dia após a inoculação; dos camundongos previamente infetados com a amostra do sagüi, apenas um teve discreta parasitemia, permanecendo negativos todos os demais.

CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos das formas sanguícolas, aliados ao parasitismo tissular, a patogenicidade para camundongos, a infetividade para triatomíneos e aos resultados das provas de proteção, levam-nos a identificar o tripanossomo do sagüi, ora em estudos, como *T. cruzi* e a considerar mais êsse símio como hospedeiro natural do agente etiológico da tripanossomose americana.

Nada podemos adiantar sobre o papel do sagüi na cadeia epidemiológica da infecção visto que, até agora, só conseguimos examinar três exemplares do referido símio.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. XXXVII — Natural infection of the monkey, Callithrix penicillata jordani (Thomas, 1904) by T. cruzi

A strain of *T. cruzi* was isolated, through xenodiagnosis, from a specimen of *Callithrix penicillata jordani* (Thomas, 1904), captured at Uberaba, State of Minas Gerais, Brazil. The strain is pathogenic for baby white rats and mice, infecting 100 per cent of the animals inoculated with blood of infected donors or with metacyclic trypanosomes from triatomines. Blood parasites in experimentally infected mice have a mean total length of 21.57 μ and a mean nuclear index of 1.33. Nidi of leishmaniae were seen in tissue sections, specially in the heart of mice examined during the acute phase of the infection. The infection of mice was relatively severe with a mortality rate of 63.3 per cent. Cross immunity tests showed that mice recovered from the infection by the monkey strain had a high resistance against reinfection by the Y strain of *T. cruzi*. The monkey strain is easily cultivated in blood-agar medium and in Warren's liquid medium. It infected four species of triatomines tested, giving the following infection rates: *P. megistus* — 96.7 per cent, *T. infestans* — 93.3 per cent, *R. neglectus* — 86.7 per cent, and *R. prolixus* — 90.0 per cent.

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 squamipes squamipes* (Brants, 1827) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:239-237, 1968.
2. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXX: Infecção natural do cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1824) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 28:457-468, 1968.
3. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXII — Infecção natural do símio, *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:115-122, 1969.
4. CABRERA, A. & YEPES, J. — *Mamíferos Sud-Americanos*. Buenos Aires, Cia. Argentina de Editôres, 1940, 370 p.
5. 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.
6. 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.
7. 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. 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, 1965.
9. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVI — Infecção natural da preá, *Cavia aperea ape-*

ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVII — Infecção natural do simio *Callithrix penicillata jordani* (THOMAS, 1904) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:394-402, 1969.

- rea 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 vectores 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. IHERING, R. — *Da Vida dos nossos Animais*. São Leopoldo, Roterud & Co., 1934.
12. VIEIRA, C. C. — Os simios do Estado de São Paulo. *Papéis Avulsos, Dept.º Zoologia* (São Paulo) 4:1-31, 1944.

Recebido para publicação em 12/6/1969.