

## TRIPANOSOMÍDEOS DE MAMÍFEROS DA REGIÃO AMAZÔNICA

### IV — Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres da Estrada Belém-Brasília

Leonidas M. DEANE (1)

#### RESUMO

Pelo exame direto de sangue e xenodiagnóstico de 370 mamíferos silvestres capturados em matas marginais da Estrada Belém-Brasília no Estado do Pará, encontramos os seguintes hemoflagelados: tripanosomas do tipo *cruzi* em 80,2% dos morcegos da espécie *Phyllostomus hastatus* e em 36% dos gambás da espécie *Didelphis marsupialis*; tripanosomas do tipo *lewisi* em cotias, *Dasyprocta agouti* e numa paca, *Cuniculus paca*; tripanosomas do tipo *theileri* num veado, *Mazama simplicicornis*; *Trypanosoma legeri* em tamanduás, *Tamandua tetradactyla* e um *Trypanosoma* provisoriamente identificado como *T. mycetae* em guaribas, *Alouatta belzebul*, e num macaco-cuxiú *Chiropotes satanas*. Não achamos triatomíneos na casa onde capturamos morcegos, mas os abrigos silvestres destes não foram procurados. Mósca hematófaga e acarinos colhidos em morcegos infetados foram examinados com resultado negativo.

#### INTRODUÇÃO

Para construir a Estrada de Rodagem que liga Belém a Brasília foi necessário rasgar mais de 500 quilômetros de matas no Estado do Pará. Aproveitando as facilidades oferecidas por um Pôsto instalado em 1960, à margem da rodovia, pelo Instituto Evandro Chagas, Departamento Nacional de Endemias Rurais e Instituto Oswaldo Cruz, para colheita de material relacionado com arbovírus, efetuamos o exame de mamíferos silvestres de um trecho dessa estrada para a pesquisa do *Trypanosoma cruzi*, aliás em continuação ao inquérito que há anos vínhamos realizando sobre os reservatórios animais do agente da doença de Chagas em outras partes da Amazônia (DEANE<sup>6a</sup>). Essas pesquisas nos permitiram verificar não

só a prevalência de tripanosomas do tipo *cruzi*, mas também de outros hematozoários, nos citados animais.

Nesta nota apresentamos dados sobre a ocorrência de hemoflagelados evidenciada pela hemoscopia e pelo xenodiagnóstico e discutimos sua identificação específica.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Os animais examinados foram mamíferos capturados entre maio de 1960 e maio de 1962, no trecho da rodovia compreendido entre a cidade de São Miguel do Guamá e o sítio Ligação, a 150 e 447 quilômetros de Belém, respectivamente, a grande maioria

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo — Departamento de Parasitologia (Prof. A. D. F. Amaral); Instituto Evandro Chagas, Belém-Pará (Prof. Orlando R. Costa); e Departamento Nacional de Endemias Rurais — Circunscrição Pará (Dr. Luís M. Scalf)

(1) Professor Associado de Parasitologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil

tendo sido obtida nos arredores do Pôsto atrás citado e situado a 242 quilômetros de Belém.

Com exceção dos morcegos, que foram todos apanhados com rêdes no fôrro do Pôsto do Serviço Especial de Saúde Pública em São Miguel do Guamá, os outros animais foram, em sua maioria, aproveitados dentre os obtidos para pesquisa de arbovírus, em armadilhas espalhadas na mata e diàriamente visitadas por auxiliares dos Institutos Evandro Chagas e Oswaldo Cruz. Uns poucos animais foram abatidos a tiro. Os capturados vivos eram submetidos a xenodiagnóstico com cinco ninfas de *Rhodnius prolixus* criadas em laboratório, sangrados na orelha ou cauda para a confecção de duas gotas espessas e dois esfregaços de sangue, e posteriormente necropsiados para a confecção de esfregaços e cortes de vísceras — coração, fígado, baço e eventualmente outras — sendo ainda conservados pele e crânio para identificação específica. O mesmo se fazia com os animais capturados mortos, exceto o xenodiagnóstico. Os triatomíneos usados nos xenos eram examinados após 30 e 60 dias decorridos do repasto sanguíneo. O conteúdo intestinal dos positivos era inoculado intraperitonealmente em camundongos. Sômente fazíamos cortes histológicos das vísceras dos animais positivos ao exame direto de sangue ou ao xenodiagnóstico.

## RESULTADOS

Conforme se vê na Tabela I, examinamos ao todo 370 mamíferos silvestres pertencentes a 7 ordens e 21 espécies. Encontramos 107 exemplares infetados com tripanosomas pertencentes aos seguintes tipos ou espécies: tipo *cruzi*, tipo *lewisi*, tipo *theileri*, *Trypanosoma legeri* e *Trypanosoma mycetae*.

### a) *Trypanosomas* do tipo *cruzi*

Correspondem ao subgênero *Schizotrypanum* da classificação de HOARE<sup>10</sup>.

Encontramo-los em quirópteros e marsupiais. Os morcegos examinados pertenciam todos a uma única espécie, *Phyllostomus hastatus*. São grandes filostomídeos, que se alimentam de insetos, frutos, partes florais

e pequenos vertebrados. Dos 106 exemplares examinados, 85 mostraram-se infetados, ou 80,2%. O xenodiagnóstico foi mais sensível, revelando 82 infecções em 102 morcegos ou 80,4%, mas a proporção de positivos ao exame direto de sangue foi também muito elevada — 55 dos 104 examinados, ou 52,9%. No sangue dos morcegos os tripanosomas são indistinguíveis do *Trypanosoma cruzi* e diferentes do *T. vespertilionis* pela posição quase central do núcleo. Não conseguimos distingui-los dos esquizotripanos que achamos anteriormente em duas outras espécies de morcegos dos arredores de Belém, *Carollia perspicillata* e *Choeronycteris minor* (DEANE<sup>5</sup>). Não encontramos formas em leishmânia nas impressões ou cortes das vísceras de 56 dos *P. hastatus* parasitados. Obtivemo-las, entretanto, em cultivo de tecido e DIAS<sup>8</sup> as assinalou, embora raramente, em tecidos de morcegos desta mesma espécie. A facilidade com que as nossas cepas provenientes de *P. hastatus* evoluem nos barbeiros e o aspecto dos flagelados desenvolvidos nestes insetos são caracteres adicionais que as aproximam do *T. cruzi*. Não conseguimos, entretanto, infetar nenhum dos 86 camundongos de 20 a 30 dias de idade, inoculados com o conteúdo intestinal de barbeiro dos xenodiagnósticos positivos.

Precisamos ressaltar que, não obstante os flagelados destes morcegos evoluírem bem em triatomíneos, não encontramos tais insetos no local de captura dos *P. hastatus* (fôrro do Pôsto do Serviço Especial de Saúde Pública), onde havia centenas deles. Convém, aliás, lembrar que não existem triatomíneos domésticos nessa região. Não podemos, entretanto, afastar a hipótese de transmissão por triatomíneos, pois como no prédio citado todos os morcegos eram adultos e quase todos machos, provavelmente criavam-se alhures, em abrigos silvestres, talvez ôcos de árvores, etc. que não examinamos e que poderiam eventualmente albergar barbeiros. Mas também não podemos eliminar a possibilidade de efetuar-se a transmissão por intermédio de outros artrópodes ou até diretamente. Encarando a primeira eventualidade, examinamos, com resultado negativo para flagelados, môscas pupíparas e acarídeos, que parasitavam 16 dos *P. hastatus* infetados. Investigando a possibilidade de transmissão direta pelo coito examinamos os

TABELA I

Tripanosomas encontrados pela hemoscopia direta e por xenodiagnóstico com triatomíneos, em mamíferos silvestres apanhados ao longo da rodovia Belém-Brasília (entre 150 e 447 km de Belém), no Estado do Pará, 1960 a 1962

Mamíferos		Hemoscopia					Xenodiagnóstico			Total						
Nome científico	Nome vulgar	Examinados	Positivos					Examinados	Positivos		Examinados	Positivos				
			T. tipo <i>cruzi</i>	T. tipo <i>lewisii</i>	T. tipo <i>theileri</i>	T. <i>legeri</i>	T. <i>mycetæ</i>		T. tipo <i>cruzi</i>	T. <i>legeri</i>		T. tipo <i>cruzi</i>	T. tipo <i>lewisii</i>	T. tipo <i>theileri</i>	T. <i>legeri</i>	T. <i>mycetæ</i>
<b>CHIROPTERA</b>																
<i>Phyllostomus hastatus</i> .....	morcêgo	104	55	—	—	—	—	102	82	—	106	85	—	—	—	—
<b>MARSUPIALIA</b>																
<i>Didelphis marsupialis</i> .....	mucura *	25	2	—	—	—	—	24	9	—	25	9	—	—	—	—
<i>Philander opossum</i> .....	cuica	4	—	—	—	—	—	4	—	—	5	—	—	—	—	—
<i>Metachirus nudicaudatus</i> .....	cuica	3	—	—	—	—	—	3	—	—	3	—	—	—	—	—
<i>Marmosa cinerea</i> .....	cuica	15	—	—	—	—	—	13	—	—	15	—	—	—	—	—
<b>EDENTATA</b>																
<i>Tamandua tetradactyla</i> .....	tamanduá	2	—	—	—	2	—	1	—	1	2	—	—	—	2	—
<i>Cyclopes didactylus</i> .....	tamanduá-1	1	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—
<b>RODENTIA</b>																
<i>Nectomys squamipes</i> .....	rato-d'água	13	—	—	—	—	—	12	—	—	13	—	—	—	—	—
<i>Proechimys guyannensis oris</i> .....	rato sauiá	90	—	—	—	—	—	94	—	—	99	—	—	—	—	—
<i>Dasyprocta aguti</i> .....	cotia	41	—	3	—	—	—	6	—	—	41	—	3	—	—	—
<i>Cuniculus paca</i> .....	paca	7	—	1	—	—	—	4	—	—	7	—	1	—	—	—
<i>Oryzomys</i> spp. ....	rato do mato	30	—	—	—	—	—	28	—	—	33	—	—	—	—	—
<b>ARTIODACTYLA</b>																
<i>Tayassu tajacu</i> .....	caetetu	3	—	—	—	—	—	1	—	—	3	—	—	—	—	—
<i>Mazama simplicicornis</i> .....	veado	4	—	—	1	—	—	—	—	—	4	—	—	1	—	—
<b>CARNIVORA</b>																
<i>Nasua nasua</i> .....	coati	2	—	—	—	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—
<i>Panthera onca</i> .....	onça	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—
<b>PRIMATES</b>																
<i>Cebus apella</i> .....	macaco-prego	2	—	—	—	—	—	1	—	—	2	—	—	—	—	—
<i>Alouatta belzebul</i> .....	guariba **	7	—	—	—	—	—	6	—	—	7	—	—	—	—	6
<i>Chiropotes satanas</i> .....	cuxiú	1	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	1
Totais .....		355	57	4	1	2	7	296	91	1	370	94	4	1	2	7

\* gambá, no sul do Brasil

\*\* bugio, no sul do Brasil

testículos, triturados em solução salina, de 10 morcegos parasitados e a urina contida na bexiga de 8, também, com resultado negativo. A possibilidade de transmissão pela mordida não pode ainda ser afastada, desde que os *P. hastatus* são muito brigões, mordendo-se com frequência, como vimos pessoalmente e como se infere das numerosas marcas de dentadas que muitas vezes apresentam.

Entre os gambás, *Didelphis marsupialis*, a prevalência de infecções foi também elevada: apenas 2 de 25 (8%) revelaram parasitas pelo exame direto do sangue, mas 9 de 24 (37,5%) tiveram xenodiagnóstico positivo. Os tripanosomas sanguícolas são morfológicamente indistinguíveis dos observados em algumas das cepas humanas do *T. cruzi*, o mesmo acontecendo com os flagelados encontrados no conteúdo intestinal dos barbeiros usados nos xenodiagnósticos. Não inoculamos em camundongos as cepas provenientes dos gambás constantes deste estudo, mas com base em observações feitas com cepas de hospedeiros da mesma espécie provenientes de outras áreas, consideramos os tripanosomas dos *D. marsupialis* idênticos ao agente da doença de Chagas, não obstante as diferenças antigênicas observadas entre cepas humanas e de gambás e referidas em trabalhos anteriores (NUSSENZWEIG & col.<sup>13, 14</sup>).

#### b) *Tripanosomas do tipo lewisi*

Situam-se no subgênero *Herpetosoma*, da classificação de HOARE<sup>10</sup>.

Foram encontrados em roedores de duas espécies: em cotias, *Dasyprocta agouti*, e numa paca, *Cuniculus paca*. Em cotias, flagelados deste tipo foram anteriormente descritos por BRIMONT<sup>2</sup>, com o nome de *Trypanosoma acouchii*. Todas as infecções que achamos — em 3 de 41 cotias, ou 7,3% — foram reveladas pelo exame direto de sangue, nenhuma pelo xenodiagnóstico. Mas convém frizar que, por motivo que não esclarecemos, a grande maioria dos triatomíneos que alimentamos em cotias morreu em poucos dias, pelo que não foi possível aproveitar senão 6 dos 41 xenodiagnósticos tentados nesses animais. Reações de fixação do complemento com antígeno de *T. cruzi*

foram feitos no sangue de 12 cotias, com resultado negativo.

Os tripanosomas que achamos numa das pacas, *Cuniculus paca*, também pelo exame direto e não pelo xenodiagnóstico, são idênticos aos que descrevemos anteriormente com o nome de *Trypanosoma coutinhoi* em hospedeiro da mesma espécie, proveniente do Município de Abaetetuba, Pará (DEANE<sup>4</sup>).

#### c) *Tripanosoma do tipo theileri*

Reencontramos em 1 dentre 4 veados, *Mazama simplicicornis*, da Estrada Belém-Brasília, os enormes tripanosomas que anteriormente assinaláramos num hospedeiro da mesma espécie caçado no Município de Abaetetuba (DEANE<sup>4</sup>). Parece-nos afim ao *T. theileri* LAVERAN, 1902, que ocorre em unglados de várias partes do mundo. Encaixamo-lo por isso no subgênero *Megatrypanum* da sistemática de HOARE<sup>10</sup> e provisoriamente o identificamos ao *T. mazamarum*, descrito por MAZZA & col.<sup>11</sup> em veados de outras espécies do gênero *Mazama*, da Argentina.

#### d) *Trypanosoma legeri* MESNIL & BRIMONT, 1910

Achamos êsse flagelado, pelo exame direto, nos 2 tamanduás, *Tamandua tetradactyla*, examinados; e pelo xenodiagnóstico, no único exemplar em que êste foi efetuado. As formas sanguícolas são iguais às do "tipo maior" da descrição original de MESNIL & BRIMONT<sup>12</sup>, e os flagelados do conteúdo intestinal dos triatomíneos são extremamente longos e delgados como os descritos por FLOCH & col.<sup>9</sup> para o que chamaram *Trypanosoma myrmecophagae*, e que consideramos sinônimo de *T. legeri*.

#### e) *Trypanosoma mycetae* BRUMPT, 1913

Quase todos os guaribas (designação local para bugios), *Alouatta belzebul*, que examinamos — 6 de 7, ou 85,7% — estavam parasitados por tripanosomas aparentemente semelhantes ao que BRIMONT<sup>2</sup> descreveu num bugio *Alouatta seniculus* da Guiana Francêsa e que BRUMPT<sup>3</sup> denominou *T. mycetae*. Infelizmente nossos macacos foram todos mortos a tiro, tendo sido impossível

efetuar xenodiagnósticos. Tripanosomas a nosso ver idênticos a êsses foram descritos em bugios *Alouatta caraya* da Argentina, por ROMAÑA<sup>15</sup>, com o nome de *T. forestali* e em bugios de São Paulo, também citados como *A. caraya* por ARANTES & FONSECA<sup>1</sup>, com a designação de *T. manguinhense*. O mesmo tripanosoma foi por nós assinalado em *A. belzebul* de outra zona do Pará (DEANE & DAMASCENO<sup>7</sup>), e recentemente temos encontrado parasitas aparentemente idênticos em *Alouatta fusca* de São Paulo, verificando, aliás, que não evoluem em triatomíneos. Pensamos que todos êsses tripanosomas de bugios pertencem a uma mesma espécie, que estamos provisoriamente identificando ao *T. mycetæ*. Mas aproveitamos para frisar que urge a realização de um estudo sistematizado dos tripanosomas dos macacos americanos com vistas à sua correta identificação, pois no momento a maioria das determinações, inclusive as nossas, são feitas com base em dados reconhecidamente insuficientes.

Encontramos também tripanosomas aparentemente indistinguíveis do *T. mycetæ* no único macaco-cuxiú — *Chiropotes satanas* — examinado.

#### SUMMARY

*Mammalian Trypanosomidae from the Amazon Region of Brasil. IV — Direct blood examination and xenodiagnosis of wild animals from forests along the Belém-Brasília Highway*

A search for animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* was carried out through blood examination and/or xenodiagnosis of 370 wild mammals obtained in the forest along the Belém-Brasília Highway, between 150 and 447 kilometers from Belém.

*Cruzi*-like trypanosomes were very common in bats of the species *Phyllostomus hastatus*, 52.9% of which were found infected through blood examination and 80.4% through xenodiagnosis. No leishmania forms were found in the viscera of the hosts, but were obtained in tissue cultures. These trypanosomes were also quite frequent in opossums of the species *Didelphis marsupialis*, 8% of these being positive by blood examination and 35.7% by xenodiag-

nosis. No other animals were found parasitized. The bat strains showed no evidence of virulence to the original hosts or to 20-30 days old laboratory mice. No triatomine bugs were found in a building where the bats were abundant, but the sylvan habitats of these animals were not searched. Blood-sucking flies and mites taken from the infected bats were examined with negative results.

Other trypanosomes were also encountered during the survey. Trypanosomes of the *lewisii* type were found in agouties, *Dasyprocta agouti*, and in a paca, *Cuniculus paca*; *theileri*-like trypanosomes were observed in a deer, *Mazama simplicicornis*; and a trypanosome tentatively identified as *T. mycetæ* was seen to be very frequent in howler-monkeys, *Alouatta belzebul*, and was also found in a cuxiu-monkey, *Chiropotes satanas*. All these trypanosomes were detected through direct blood examination and none through xenodiagnosis. Another species, *Trypanosoma legeri*, was encountered in an ant-eater, *Tamandua tetradactyla*, both through blood examination and xenodiagnosis. The specific identification of all flagellates found is discussed.

#### AGRADECIMENTOS

Desejamos expressar o nosso agradecimento aos colegas ou companheiros de trabalho cuja cooperação tornou possível a realização dos estudos aqui relatados: Prof. Orlando R. Costa, Diretor do Instituto Evandro Chagas; Dr. Luís M. Scaff, Chefe da Circunscrição Pará do Departamento Nacional de Endemias Rurais; Dr. Salomão Athias, Chefe do Pôsto do Serviço Especial de Saúde Pública em São Miguel do Guamá; Srs. Lázaro Barbosa Lopes e Estevão do Rosário, técnicos do D.N.E.Ru., pelo auxílio nos trabalhos de campo; e Sra. Hertha Wullert Telles de Souza, pela ajuda nas atividades de laboratório.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARANTES, J. B. & FONSECA, F. — *Trypanosoma manguinhense* n.sp., parasita do bugio *Alouatta caraya* (Humb.). *Mem. Inst. Butantan* 6:223-226, 1931.

DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. IV — Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres da Estrada Belém-Brasília. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:143-148, 1967.

2. BRIMONT, F. — Sur quelques hématozoaires de la Guyane. *C. R. Soc. Biol.* 2:169-171, 1909.
3. BRUMPT, E. — *Précis de Parasitologie*. Paris, Masson, 1913, p. 165.
4. DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. I — Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:15-28, 1961.
5. DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. III — Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres dos arredores de Belém, Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6:225-232, 1964.
6. DEANE, L. M. — Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Rev. Brasil. Malariol. & Doenças Trop.* 16:27-48, 1964a.
7. DEANE, L. M. & DAMASCENO, R. — Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. II — Tripanosomas de macacos da zona do Salgado, Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:61-70, 1961.
8. DIAS, E. — Revisão geral dos hemoflagelados de Chiropteros. Estudo experimental do *Schizotrypanum* do *Phyllostomus hastatus*: identidade com o *Schizotrypanum cruzi*. O grupo *vespertilionis*. 9.<sup>a</sup> Reun. Soc. Argent. Patol. Reg. Norte 1:10-88, 1935.
9. FLOCH, H.; LAJUDIE, P. & ABONNENC, E. — Un trypanosome d'un édenté (*Myrmecophaga tridactyla*) susceptible d'évoluer dans le tube digestif de *Rhodnius prolixus*. *Inst. Pasteur Guy. Terr. Vini*, Publ. n.º 25, 1941.
10. HOARE, C. A. — The classification of Mammalian Trypanosomes. *Ergebn. Mikrobiol. Immunitätsf. u. Exper. Therapie* 39: 43-57, 1966.
11. MAZZA, S.; ROMANA, C. & FIORA, A. — Algunos hemoparasitos de mamíferos del Norte. 7.<sup>a</sup> Reun. Soc. Argent. Patol. Reg. Norte, 990-997, 1932.
12. MESNIL, F. & BRIMONT, E. — Trypanosome et microfilaire d'un édenté, le *Tamandua tetradactyla* (L.). *C. R. Soc. Biol.* 69: 148-151, 1910.
13. NUSSENZWEIG, V.; DEANE, L. M. & KLOTZEL, J. — Diversidade na constituição antigênica de amostras de *Trypanosoma cruzi* isoladas do homem e de gambás (Nota preliminar). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:409-410, 1962.
14. NUSSENZWEIG, V.; DEANE, L. M. & KLOTZEL, J. — Differences in antigenic constitution of strains of *Trypanosoma cruzi*. *Exp. Parasit.* 14:221-232, 1963.
15. ROMANA, C. — Hemoparasitos hallados en el sur del Chaco en monos caraya *Alouatta caraya* (Humb.). 7.<sup>a</sup> Reun. Soc. Argent. Patol. Reg. Norte, 1008-1012, 1931.

Recebido para publicação em 1/12/1966.