

## CONSIDERAÇÕES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DA INFECÇÃO DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM FORMAS AMASTIGOTAS OU FLAGELADAS DO *TRYPANOSOMA CRUZI*\*

Francisco Miguel Belda Neto\*<sup>†</sup>, Rosa Domingues Ribeiro \*\*\*e  
Mauro Pereira Barreto\*\*\*

*Os autores realizaram um estudo do comportamento da infecção determinada por uma amostra do Trypanosoma cruzi — amostra Bolívia — através da inoculação de formas aflageladas ou flageladas, obtidas de cultura em meio de Warren, em camundongos brancos jovens. Utilizaram como critérios de avaliação do decurso da infecção: o período prepatente, o índice de infecção, a parasitemia, a duração da fase aguda e a taxa de letalidade.*

*Essas observações indicaram que o comportamento da infecção varia quando partimos de um ou outro tipo de inóculo.*

### INTRODUÇÃO.

Desde as primeiras observações efetuadas por Carlos Chagas<sup>5</sup> em 1909, vários autores<sup>3, 4</sup> têm descrito a respeito do encontro de elementos leishmaniformes do *T. cruzi* em meios artificiais de cultura.

Pan<sup>7</sup>, em 1968, utilizando-se de meios especiais de cultivo e em diferentes temperaturas, estudou uma amostra do *T. cruzi* verificando o aparecimento de formas amastigotas no decurso de subculturas serradas.

Recentemente, Ribeiro & Barreto<sup>8</sup> estudaram o comportamento, em cultura, de dez amostras do *T. cruzi*, isoladas tanto de casos humanos de doença de Chagas como de animais silvestres e triatomíneos, e concluíram pela diversidade deste comportamento classificando as amostras em três grupos, dois dos quais incluem amostras que apresentam elementos leishmaniformes em diversas subculturas.

Ainda, verificaram que a patogenicidade para camundongos variava de uma amostra para outra, indicando a inexistência de uma perfeita correspondência entre o grau de patogenicidade, o tipo morfológico e o comportamento em cultura.

Trabalhando com culturas de uma amostra boliviana do *T. cruzi* estudada por Funayama & Prado<sup>6</sup> observamos que logo após a sementeira inicial de sangue de camundongos infectados em meio de Warren os tripomastigotas sanguíneos se transformavam regularmente em amastigotas, de modo que já no primeiro exame feito no quarto dia, encontrávamos exclusivamente elementos leishmaniformes agrupados. Estes agrupamentos se tornavam maiores e mais numerosos com o decorrer do tempo e persistiam e aumentavam nos repiques sucessivos. Somente após o quarto repique os amastigotas começavam a dar origem a formas flageladas cujo número aumentava nas subculturas poste-

\* Trabalho realizado no Depto. de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — USP.

\*\* Depto. de Ciências Patológicas (Parasitologia) da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara.

\*\*\* Depto. de Ciências Patológicas (Parasitologia) da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto — USP.

Tabela 1

Características da infecção de camundongos inoculados com formas aflageladas (cultura) de amostra boliviana do *T. cruzi*.

Animal número	Per. Prepat. (dias)	Parasitemia máxima		Fase aguda (dias)	Observações
		p/mm <sup>3</sup>	dia		
LI 1	10	20.727	22º	—	Morte 23º dia
LI 2	10	35.000	24º	—	Morte 24º dia
LI 3	10	35.000	24º	—	Morte 24º dia
LI 4	8	5.082	17º	—	Morte 20º dia
LI 5	9	50.000	24º	—	Morte 24º dia
LI 6	9	50.000	24º	—	Morte 24º dia
LI 7	10	35.000	24º	—	Morte 24º dia
LI 8	10	50.000	27º	—	Morte 33º dia
LI 9	9	50.000	27º	—	Morte 31º dia
LI 10	8	35.000	24º	—	Morte 24º dia
LII 1	10	13.510	28º	—	Morte 37º dia
LII 2	12	7.917	31º	—	Morte 43º dia
LII 3	9	3.388	33º	56	Cronicidade
LII 4	10	20.286	26º	—	Morte 32º dia
LII 5	12	2.450	35º	59	Cronicidade
LII 6	12	12.764	26º	—	Morte 39º dia
LII 7	12	10.444	26º	—	Morte 33º dia
LII 8	10	4.018	24º	49	Cronicidade
LII 9	9	11.403	26º	49	Cronicidade
LII 10	8	17.304	22º	—	Morte 24º dia
LIII 1	7	24.997	27º	—	Morte 28º dia
LIII 2	8	3.977	26º	50	Cronicidade
LIII 3	7	20.433	27º	—	Morte 28º dia
LIII 4	7	25.760	31º	—	Morte 37º dia
LIII 5	7	26.740	31º	—	Morte 31º dia
LIII 6	7	15.596	27º	—	Morte 28º dia
LIII 7	6	23.219	24º	—	Morte 26º dia
LIII 8	8	7.840	20º	—	Morte 28º dia
LIII 9	7	23.947	27º	—	Morte 28º dia
LIII 10	6	26.187	24º	—	Morte 24º dia

riores, enquanto os amastigotas diminuam de número e praticamente acabavam por desaparecer.

Tendo conseguido a infecção de camundongos jovens a partir das formas amastigotas, resolvemos comparar o comportamento da infecção dos mesmos partindo da inoculação de culturas contendo formas amastigotas ou formas flageladas.

## MATERIAL E MÉTODOS

A amostra do *T. cruzi* submetida a estudo no presente trabalho foi isolada de exemplares do *Triatoma infestans* capturados na localidade de Vitichi, Bolívia, recebendo a designação de amostra Bolívia e vem sendo, desde então, mantida através de cultura e em animais de laboratório pelo Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — USP.

Para a realização de nossas observações utilizamo-nos de camundongos brancos, jovens, que foram inoculados com cerca de um milhão de formas parasitárias — flageladas ou aflageladas — provenientes de cultura da amostra Bolívia em meio de Warren. As inoculações foram realizadas intraperitonealmente e em condições de assepsia. Servimo-nos de sessenta camundongos subdivididos em grupos de dez animais que foram inoculados em duas séries: trinta camundongos com formas flageladas e os outros trinta com formas aflageladas.

Nos animais inoculados acompanhamos o decurso da infecção verificando: duração do período prepatente, índices parasitêmicos, parasitemias máximas, curvas parasitêmicas, duração da fase aguda e taxa de letalidade, seguindo os critérios apresentados por Barreto<sup>2</sup> e Albuquerque & Barreto<sup>1</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Morfologia dos tripanossomos sanguícolas** — Apesar de não realizarmos um estudo biométrico minucioso das formas encontradas no sangue dos camundongos inoculados, não deixamos de observar as características morfológicas da amostra que apresentou nítida predominância de formas largas, em ambas as séries, idênticas as observadas por Funayama & Prado<sup>5</sup>.

**Infecção dos animais de laboratório** — A amostra em estudo mostrou-se patogênica para camundongos brancos jovens, infectando a totalidade dos animais inoculados tanto com as formas aflageladas como com as flageladas provenientes de cultura.

As características das infecções são apresentadas nas Tabelas 1 e 2, onde observamos os resultados obtidos nos animais inoculados com formas aflageladas e formas flageladas, respectivamente.

A análise da Tabela 1, referente à infecção obtida a partir da inoculação de formas aflageladas, mostra que o período prepatente variou de 6 a 12 dias, com média de 8,9 dias. A parasitemia variou muito, mesmo nos animais constituintes de um mesmo lote, sendo os níveis parasitários máximos oscilantes entre 2.450 e até superiores a 50.000 flagelados por mm<sup>3</sup> de sangue. Esses valores mostram que a parasitemia foi elevada, ultrapassando o nível de 10.000 parasitas por mm<sup>3</sup> de sangue em mais de 70,0% dos animais inoculados. Os níveis parasitários máximos foram atingidos entre o 17º e o 35º dias após a inoculação.

Dos animais inoculados, apenas cinco conseguiram superar a fase aguda e passaram para a fase crônica registrando uma duração de 49 a 59 dias para a fase aguda da infecção; nos demais a morte sobreveio quando os animais ainda exibiam parasitas mais ou menos numerosos no sangue periférico. Cumpre observar que na maioria dos camundongos a morte ocorreu quando a parasitemia se encontrava em ascensão, coincidindo a data da morte com a da parasitemia máxima. Entretanto, em alguns animais a morte sobreveio quando a parasitemia já se achava em declínio. Na Figura 1 apresentamos os tipos de curvas parasitêmicas observadas.

Tomando-se para análise a Tabela 2 que se refere às características da infecção obtida pela inoculação de formas flageladas, deparamo-nos com um período prepatente variável entre 3 e 8 dias e cujo valor médio é de 4,9 dias. Como no caso anterior, a parasitemia também apresentou-se muito variável inclusive entre os animais de um dado lote. Os níveis parasitários máximos variaram entre 42 e 24.724 tripanossomos por mm<sup>3</sup> de sangue e ocorreram entre o 7º e o 22º dias após a inoculação. Em cerca de 60,0% dos animais a parasitemia apresentou-se superior a 10.000 flagelados por mm<sup>3</sup> de sangue.

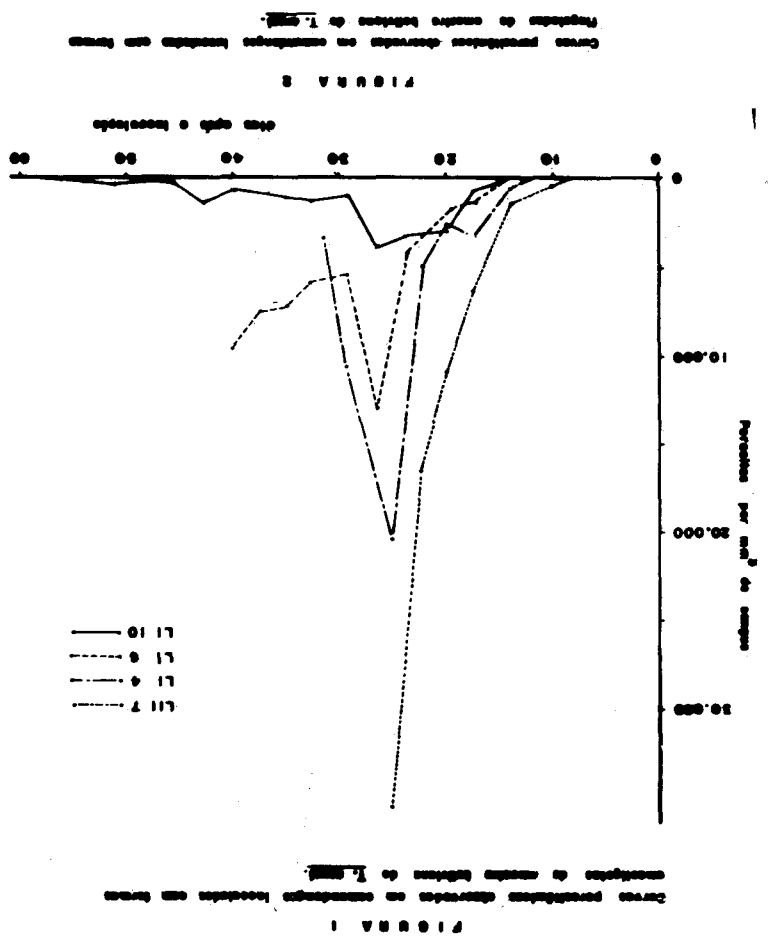
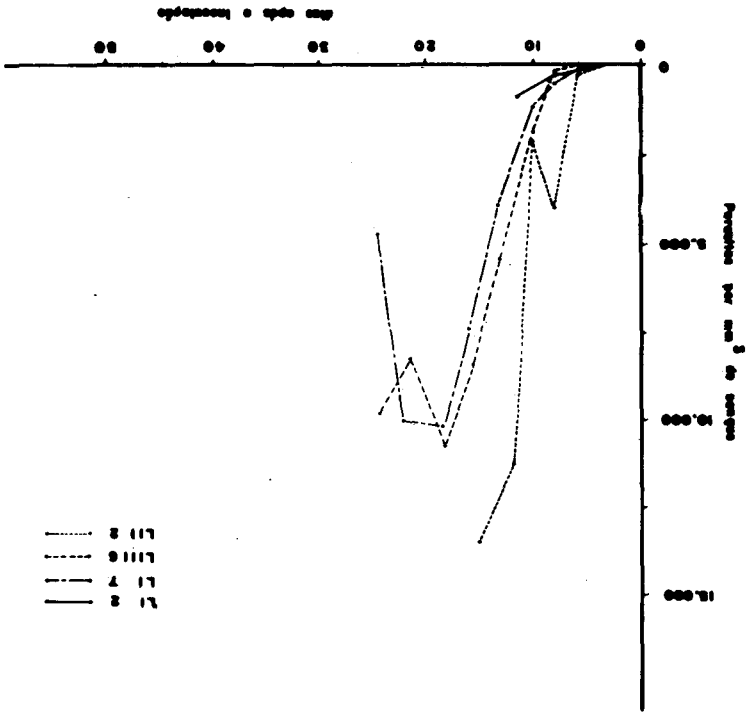
A infecção apresentou-se grave, matando todos os animais inoculados. A morte ocorreu entre o 10º e o 24º dia após a inoculação. Em alguns animais a morte sobreveio com a parasitemia em ascensão e em outros quando esta já se encontrava em declínio. As curvas parasitêmicas observadas constam da Figura 2.

Estudando comparativamente estes resultados verificamos que a partir de inóculos com

Tabela 2

Características da infecção de camundongos inoculados com formas flageladas (cultura) de amostra boliviana do *T. cruzi*.

Animal número	Per. Prepat. (dias)	Parasitemia máxima		Fase aguda (dia)	Observações
		p/mm <sup>3</sup>	dia		
LI 1	4	175	7º	—	Morte 10º dia
LI 2	4	686	10º	—	Morte 10º dia
LI 3	4	105	7º	—	Morte 10º dia
LI 4	6	98	10º	—	Morte 11º dia
LI 5	4	1.505	10º	—	Morte 10º dia
LI 6	5	42	7º	—	Morte 10º dia
LI 7	5	10.388	19º	—	Morte 24º dia
LI 8	5	20.097	17º	—	Morte 18º dia
LI 9	6	24.724	21º	—	Morte 21º dia
LI 10	5	19.047	17º	—	Morte 21º dia
LII 1	3	7.462	13º	—	Morte 15º dia
LII 2	3	13.587	13º	—	Morte 15º dia
LII 3	4	13.293	13º	—	Morte 15º dia
LII 4	5	22.225	15º	—	Morte 15º dia
LII 5	5	18.221	15º	—	Morte 15º dia
LII 6	6	10.227	17º	—	Morte 17º dia
LII 7	3	15.015	17º	—	Morte 19º dia
LII 8	5	10.605	15º	—	Morte 17º dia
LII 9	3	13.092	15º	—	Morte 16º dia
LII 10	4	11.270	15º	—	Morte 17º dia
LIII 1	4	707	15º	—	Morte 16º dia
LIII 2	8	11.347	20º	—	Morte 20º dia
LIII 3	6	12.733	22º	—	Morte 22º dia
LIII 4	6	12.152	17º	—	Morte 19º dia
LIII 5	6	10.117	20º	—	Morte 21º dia
LIII 6	5	4.214	17º	—	Morte 18º dia
LIII 7	6	7.798	22º	—	Morte 22º dia
LIII 8	6	9.877	20º	—	Morte 23º dia
LIII 9	8	6.090	22º	—	Morte 23º dia
LIII 10	5	12.103	22º	—	Morte 22º dia



formas aflageladas temos uma infecção caracterizada por um período prepatente relativamente longo, parasitemias altíssimas alcançadas tardiamente entre a terceira e a quinta semanas após a inoculação, levando muitos camundongos à morte, enquanto que a partir de inóculos com formas flageladas a infecção apresenta um decurso mais rápido com um período prepatente curto, parasitemias altas precoces observadas entre a primeira e a terceira semanas após a inoculação, levando à morte todos os camundongos.

## CONCLUSÃO

De posse dos resultados apresentados podemos concluir da possibilidade de obtermos a infecção de camundongos a partir das formas aflageladas e flageladas observadas nas culturas da amostra Bolívia do *T. cruzi* e que o comportamento da infecção varia quando partimos de um ou outro tipo de inóculo, apresentando-se mais agressiva pela inoculação de formas flageladas em comparação às aflageladas.

## SUMMARY

*The authors made a study of the infection behaviour of a T. cruzi strain — Bolivia strain — through the inoculation of leishmania and flagellates forms from culture (Warren media) in white baby mice. They have used the prepatent period, the infection index, the parasitemia during the acute phase and the death rate for the evaluation of the infectious process.*

*The results showed different characteristics of the infection when are used one or the other kind of inoculation.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R.D.R. & BARRETO, M.P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXX — Infecção natural do cachorro do mato, *Cerdocion thous azarae* (Wied-1824) pelo *T. cruzi*. *Rev. Bras. Biol.*, 28:457-68, 1968.
2. BARRETO, M.P. — Tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi* em animais silvestres e sua identificação com o agente etiológico da Doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.*, 7:305-17, 1965.
3. BRENER, Z. & CHIARI, E. — Variações morfológicas observadas em diversas amostras do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.*, 5:220-24, 1963.
4. BRENER, Z. & CHIARI, E. — Aspects of early growth of different *Trypanosoma cruzi* strains in culture medium. *J. Parasitol.*, 51:922-26, 1965.
5. CHAGAS, C. — Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n.gen., n.sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem. Inst. O. Cruz.*, 1:159-218, 1909.
6. FUNAYAMA, G.K. & PRADO Jr., J.C. — Estudos sobre os caracteres de uma amostra boliviana do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 8:75-81, 1974.
7. PAN, CHIA-TUNG — Cultivation of leishmaniform stage of *Trypanosoma cruzi* in cell-free media at different temperatures. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 17:823-32, 1968.
8. RIBEIRO, R.D. & BARRETO, M.P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LXI — Aspectos do comportamento de amostras diversas do *T. cruzi* em cultura. *Rev. Bras. Biol.*, 35:301-7, 1975.