

ESTUDO DOS CARACTERES DE UMA AMOSTRA BOLIVIANA DE TRYPANOSOMA CRUZI *

Gentilda K. Funayama e J. C. Prado Jr. **

Amostra de T. cruzi, mediante a inoculação em camundongos brancos jovens, foi isolada de fezes de exemplares de T. infestans capturados em Vitichi, Bolívia e denominada amostra Bolívia.

Essa amostra, que se comporta de um modo peculiar em reações de aglutinação, segundo Siqueira, Ribeiro e Fernandes, em 1973, mostrou-se patogênica para camundongos, injectando 100% dos animais inoculados, quer com formas metacíclicas de triatomíneos, quer com formas sanguícolas de doadores com infecção aguda. As formas sanguícolas, em camundongos, medem 23,37 μ de comprimento total médio e tem índice nuclear de 0,94. Nos camundongos mortos durante a fase aguda os ninhos de leishmânias são abundantes, sobretudo no coração. A infecção dos camundongos é grave com curto período prepatente, parasitemia elevada e alta taxa de letalidade. A amostra Bolívia confere, aos animais que sobrevivem, alto grau de resistência contra reinfeção pela amostra Y. Cultiva-se bem em meios líquidos (Warren) e difásicos (NNN) e evolui regularmente em várias espécies de triatomíneos testadas.

INTRODUÇÃO

Estudando as relações antigênicas de algumas amostras de *T. cruzi* mediante a reação de aglutinação, Siqueira, Ribeiro e Fernandes (7) verificaram um comportamento peculiar de uma amostra isolada de exemplares de *T. infestans* capturados na localidade de Vitichi, Bolívia, amostra essa que foi denominada Bolívia.

Essa amostra deu reação de aglutinação positiva com o antisoro homólogo, mas reagiu negativamente com antisoros heterólogos. Por outro lado, outras amostras estudadas não deram reações positivas com o soro imune anti-Bolívia.

Diante disso, sugeriu-nos o Dr. Astolpho Ferraz de Siqueira que estudássemos os caracteres morfológicos e biológicos da

amostra Bolívia, usando os critérios aceitos por Barretto (2) como elementos de identificação do *T. cruzi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Após o isolamento, a amostra Bolívia foi mantida em camundongos brancos com 22 dias de idade, mediante inoculação intraperitoneal de sangue de doadores com infecção aguda. Os repiques foram feitos com 10 dias de intervalo.

Os métodos usados para o estudo da morfologia, biologia e patogenicidade da amostra foram aqueles descritos por Albuquerque e Barretto (1), e, por isso, deixamos de entrar em maiores detalhes a respeito.

* Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

** Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia dos tripanossomos sanguícolas. — Os tripanossomos observados ao acaso em esfregaços de sangue de camundongos, embora de aspecto um pouco variável, têm os caracteres gerais do *T. cruzi*, isto é, comprimento moderado, cinetoplasto volumoso, arredondado ou ovoíde e subterminal, núcleo com posição subcentral, membrana ondulante delicada e com poucas ondulações e flagelo relativamente curto.

Entre esses tripanossomos houve nítida predominância de formas em C largas. Raramente foram vistas formas longas e delgadas, mas nunca tão longas quanto as observadas por Ferriolli, Barretto e Carvalho (4) na amostra Y de origem humana ou por Funayama e Barretto (5) na amostra isolada do morcego, *Desmodus rotundus*; com freqüência observaram-se formas largas como as vistas por Funayama e Barretto (6) na amostra isolada do simio, *Alouatta caraya*.

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

Esses resultados, principalmente o comprimento total médio e o índice nuclear, caem dentro dos limites de variação obser-

vados por Ferriolli, Barretto e Carvalho (4) e por Belda Neto (3) em amostras de *T. cruzi* isoladas de casos humanos da doença de Chagas.

Morfologia das formas tissulares. — Examinando cortes de tecidos e órgãos de camundongos experimentalmente infectados e mortos durante a fase aguda da infecção, encontramos muitos ninhos de leishmânias principalmente no coração. Tais formas observadas possuem morfologia e dimensões das leishmânias do *T. cruzi*.

Infecção em animais de laboratório. — A amostra em estudo mostrou-se patogênica para camundongos jovens brancos, inoculados por via peritoneal com sangue de doadores com infecção aguda.

Para o estudo do comportamento de infecção destinamos um total de 30 camundongos, dentre os inoculados no 1º, 3º e 6º repiques. Os caracteres gerais da infecção são apresentados em resumo no Quadro II.

O exame desse quadro mostra que o período pré-patente variou de 2 a 5 dias, com média de 4,06 dias. A parasitemia variou muito, mesmo nos animais de um mesmo lote, os níveis parasitários máximos atingidos tendo oscilado entre 1148 e 27160 flagelados por mm³ de sangue. Tais valores mostram que a parasitemia foi elevada, tendo ultrapassado o nível de 10 000 parasitas por mm³ de sangue em

QUADRO I. Resultados da micrometria em tripanossomos sanguícolas de camundongos infectados com a amostra-Bolívia de *T. cruzi*.

Dimensão	Medidas em micras		
	Mínima	Máxima	Média
Comprimento do flagelo	4,0	12,0	6,57
Distância N.A	6,0	12,0	8,10
Distância P.N	6,0	11,0	8,69
Comprimento	14,0	20,0	16,80
Comprimento Total	19,1	26,3	23,37
Largura do Corpo	1,5	5,5	2,89
Diâmetro do Cinetoplasma	0,8	1,2	0,94
Índice Nuclear PN/NA			2,07

Quadro II. Caracteres da infecção de camundongos pela amostra-Bolívia de *T. cruzi*.

Nº do animal	Período pre-patente (dias)	Parasitemia máxima		Duração da fase aguda em dias	Observações
		Nº/mm ³	Dia		
CI-1	5	15.960	21º	—	Morreu no 25º dia
CI-2	5	25.865	28º	30	Sobreviveu
CI-3	5	27.160	24º	—	Morreu no 34º dia
CI-4	5	8.540	19º	28	Sobreviveu
CI-5	5	17.570	19º	28	Sobreviveu
CI-6	5	22.190	21º	—	Morreu no 25º dia
CI-7	5	12.950	24º	—	Morreu no 25º dia
CI-8	5	5.513	18º	21	Sobreviveu
CI-9	5	13.650	24º	28	Sobreviveu
CI-10	5	9.016	17º	—	Morreu no 18º dia
CIII-1	5	15.064	12º	—	Morreu no 24º dia
CIII-2	5	21.364	12º	29	Sobreviveu
CIII-3	5	25.830	19º	32	Sobreviveu
CIII-4	5	20.030	33º	32	Sobreviveu
CIII-5	5	14.280	19º	—	Morreu no 24º dia
CIII-6	5	24.360	19º	22	Sobreviveu
CIII-7	5	1.148	17º	22	Sobreviveu
CIII-8	5	24.920	19º	—	Morreu no 25º dia
CIII-9	5	24.486	26º	34	Sobreviveu
CIII-10	5	10.500	19º	—	Morreu no 25º dia
CVI-1	2	11.760	16º	—	Morreu no 18º dia
CVI-2	2	18.942	16º	—	Morreu no 18º dia
CVI-3	2	13.874	14º	—	Morreu no 22º dia
CVI-4	2	5.257	12º	—	Morreu no 13º dia
CVI-5	5	5.460	14º	—	Morreu no 22º dia
CVI-6	2	6.118	19º	—	Morreu no 22º dia
CVI-7	2	18.536	16º	—	Morreu no 22º dia
CVI-8	2	9.688	14º	—	Morreu no 20º dia
CVI-9	2	9.058	14º	—	Morreu no 18º dia
CVI-10	5	11.928	16º	—	Morreu no 22º dia

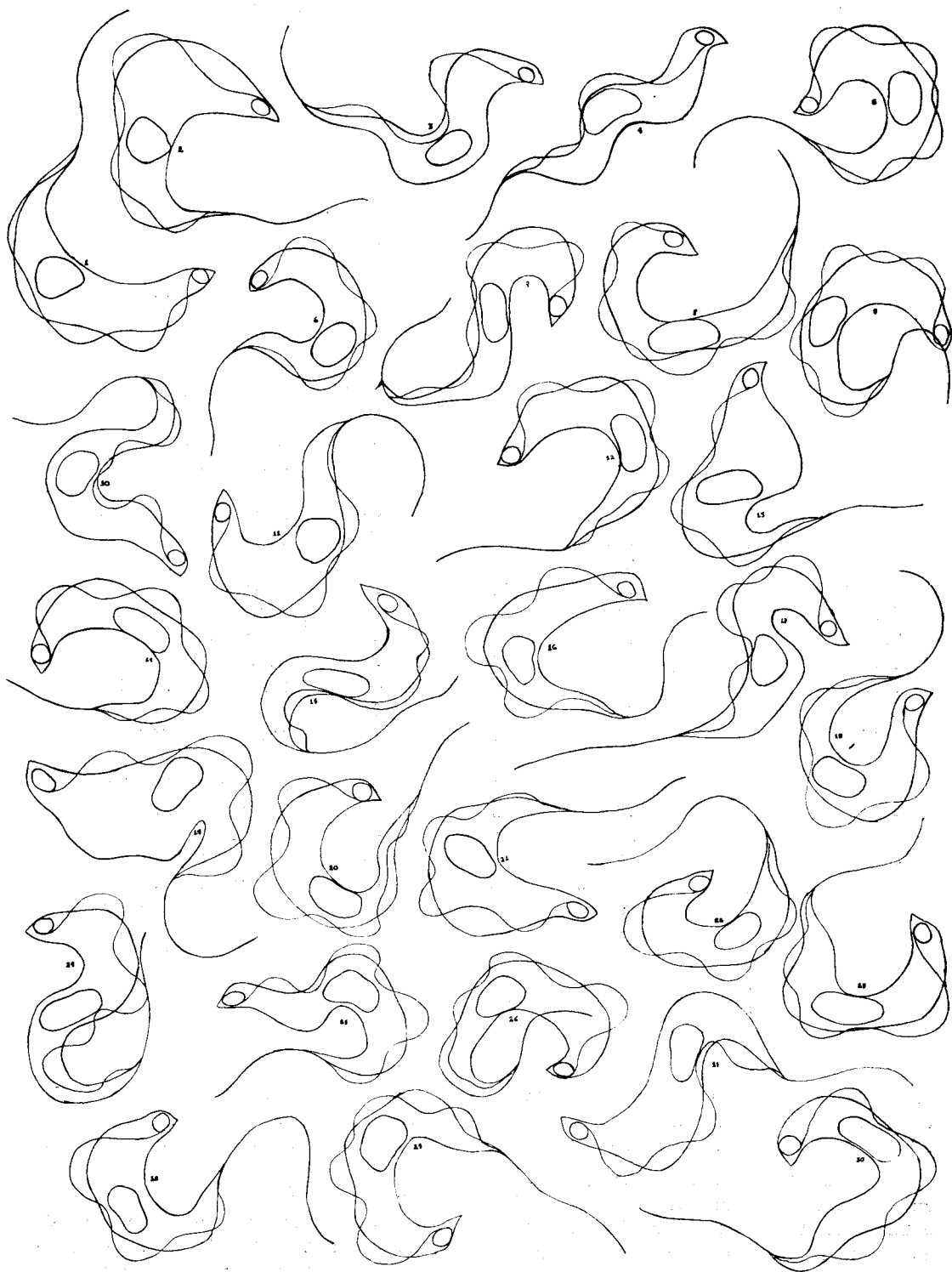
70% dos camundongos. Os níveis parasitários máximos foram atingidos entre o 12º e 33º dias após a inoculação.

Dos camundongos inoculados, apenas onze conseguiram superar a fase aguda e passaram para a fase crônica; nos demais a morte sobreveio quando os animais exibiam parasitas mais ou menos numerosos no sangue periférico. Vale acentuar que em alguns casos o dia da morte coincidiu com o da parasitemia máxima. Em outros animais a morte ocorreu quando a

parasitemia já se achava em declínio. No gráfico I apresentamos, além da curva parasitêmica de um animal cuja infecção evoluiu para a cronicidade, outros três tipos de curvas observadas.

Os níveis parasitários relativamente altos, aliados à precocidade de parasitemia máxima e à elevada taxa de letalidade, indicam que a amostra ora em estudos é muito virulenta para o camundongo.

Infectividade para triatomíneos. — Procurando verificar a susceptibilidade de



Figs. 1 — 30. Desenhos de tripanossomos sanguícolas de camundongos inoculados com a amostra Bolívia de *T. cruzi*.

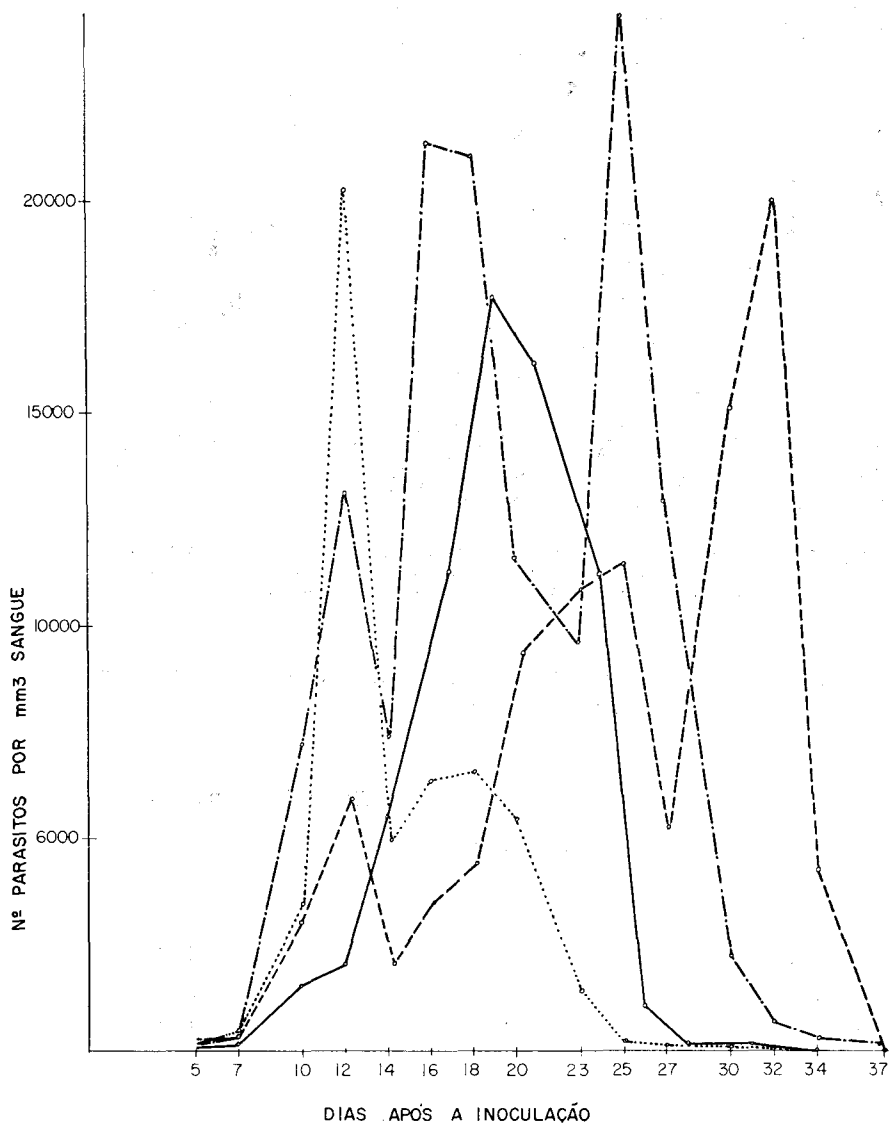


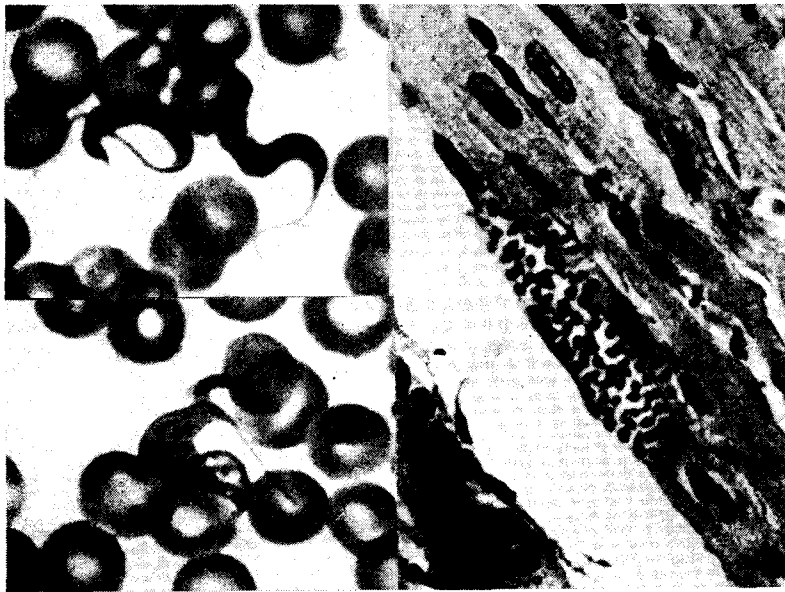
Gráfico I. Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos infectados com a amostra Bolívia do *T. cruzi*.

triatomíneos empregamos ninfas de quinto estágio de *P. megistus*, *T. vitticeps*, *T. sordida* e *R. prolixus*. Esses triatomíneos, em número de 120, foram distribuídos em lotes equivalentes e alimentados em camundongos com infecção aguda. Os resultados da pesquisa da infecção, feita após 30 dias depois no conteúdo do intestino

posterior obtido por dissecação, são sumariados no Quadro III.

Esses resultados indicam que, das espécies testadas, a que se mostrou mais susceptível foi o *P. megistus*.

Provas de proteção — Para a realização da prova de proteção usamos camun-



Figs. 31-33. Microfotos de *T. cruzi* de camundongos inoculados com a amostra Bolívia; figs. 31 e 32 — tripanossomos sanguícolas (1200x); fig. 33 — Ninho de leishmanias no coração (610x).

Quadro III. Infectividade de triatomídeos pela amostra Bolívia de *T. cruzi*.

Espécie	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		Número	%
<i>P. megistus</i>	30	18	66,6%
<i>R. prolixus</i>	30	19	63,3%
<i>T. sordida</i>	30	17	56,6%
<i>T. vitticeps</i>	30	16	53,3%

dongos com infecção crônica e estes foram inoculados intraperitonealmente com 0,5 ml de sangue de outros camundongos com infecção aguda pela amostra Y. Como testemunha tomamos 9 camundongos limpos, com idade e peso equivalentes aos dos do lote anterior, camundongos esses que receberam o mesmo inóculo pela mesma via. O exame dos animais que sobreviveram a uma infecção pela amostra Bolívia e foram reinoculados pela amostra Y mostrou que todos permaneceram negativos, enquanto

que os camundongos testemunhas apresentam infecção grave.

CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos e biológicos do tripanossomo ora estudado, aliados aos resultados das provas de proteção, levam-nos a identificar esse flagelado como *T. cruzi*, a despeito do comportamento antigênico peculiar, assinalado por Siqueira, Ribeiro e Fernandes (7).

SUMMARY

A strain of *T. cruzi* was isolated in baby white mice from feces of specimens of *Triatoma infestans* captured at Vitichi, Bolivia.

This strain, which behaves in a peculiar way in agglutination tests, according to Siqueira, Ribeiro and Fernandes (1973), is highly pathogenic for mice, infecting one hundred per cent of the animals inoculated either with metacyclic trypanosomes from triatomines or with blood from donors with acute infections. Blood trypanosomes in mice have a mean total length of 23.37 μ and a mean nuclear index of 0.94. In mice killed during the acute phase of the infection leishmanial forms are abundant, specially in the heart. The infection in mice is severe with short prepatent period, high parasitemia and high mortality rate. Mice recovered from an infection by the Bolivian strain have a high resistance against reinfection by the Y strain of *T. cruzi*. The Bolivia-strain is easily cultivated in monophasic and diphasic media and infects regularly several species of triatomines tested.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R.D.R. & BARRETTO, M.P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXX. Infecção natural do cachorro-do-mato, *Cardocyon thous azarae* — (Wied, 1824) pelo *T. cruzi*. Rev. Brasil. Biol., 28: 457-468, 1968.
2. BARRETTO, M.P. — Tripanosomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* em animais silvestres e sua identificação com o agente etiológico da Doença de Chagas. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 7: 305-315, 1965.
3. BELDA Neto, F.M. — Estudos sobre a existência de correlação entre os dados biométricos e o grau de patogenicidade de amostras humanas de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909. Rev. Soc. Brasil. Med. Trop. 8: 27-36, 1974.
4. FERRIOLLI Fº, F. BARRETTO, M.P. & CARVALHEIRO, J.R. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XXIV. Variações dos dados biométricos obtidos em amostras de *T. cruzi* isoladas de casos humanos, da doença de Chagas. Rev. Soc. Brasil. Med. Trop., 2: 1-8, 1968.
5. FUNAYAMA, G.K. & BARRETTO, M.P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. Infecção natural do morcego, *Desmodus rotundus rotundus* pelo *T. cruzi*. Rev. Brasil. Biol., 30: 13-19, 1970.
6. FUNAYAMA, G.K. & BARRETTO, M.M. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XLII. Infecção natural do símio, *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) pelo *T. cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 12: 257-265, 1970.
7. SIQUEIRA, A.F., RIBEIRO, R.D. & FERNANDES, L.A.R. — Reações de aglutinação e as relações antigênicas de cepas do *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 15: 76-80, 1973.