

ESTUDOS SOBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*. LII — INFECÇÃO NATURAL DO *SCIURUS (GUERLINGUETUS) AESTUANS INGRAMI* THOMAS, 1901 PELO *T. CRUZI*

Rosa Domingues RIBEIRO e Mauro Pereira BARRETTO (1)

RESUMO

Amostra de *T. cruzi* foi isolada, através de xenodiagnóstico e subsequente inoculação em camundongos e ratos brancos jovens, de um exemplar de serelepe, *Sciurus aestuans ingrami* Thomas, 1901, capturado no Município de Franca, SP. Essa amostra revelou-se patogênica para aqueles animais de laboratório, infetando 100% dos camundongos e ratos inoculados, quer com sangue de doadores com infecção aguda, quer com fezes de triatomíneos infetados. As formas sanguíneas, nos camundongos, medem $22,32 \mu$ de comprimento total médio e têm índice nuclear médio de 1,15. Nos animais mortos durante a fase aguda da infecção observaram-se sempre ninhos de leishmânias, principalmente no coração. A infecção dos camundongos foi, via de regra, grave com curtos períodos prepatentes, parasitemias elevadas e taxa de mortalidade atingindo 56,7%. A amostra do serelepe confere, aos animais que sobrevivem, bom grau de resistência contra reinfecção pela amostra Y de origem humana. Essa amostra cultivava-se bem em meios líquidos (Warren) e difásicos (NNN) e infeta regularmente diversas espécies de triatomíneos.

INTRODUÇÃO

Parece que a primeira referência à presença do *T. cruzi* em roedores da família *Sciuridae* se deve a CLARK & DUNN³ que, no Panamá, encontraram o *Sciurus guerrardi morulus* Bangs, 1900 naturalmente infetado. Segundo MILLER & KELLOG⁸, o nome correto desse roedor é *Sciurus (Guerlinguetus) granatensis morulus* Bangs, 1900, que aqui adotamos.

Posteriormente mais três roedores da família em questão foram encontrados naturalmente infetados: o *Sciurus (Guerlinguetus) ignitus argentinius* Thomas, 1921 (= *Leposciurus argentinius auct.*), por MAZZA⁷, na Argentina, o *Sciurus (Guerlinguetus) aestuans gilvicularis* Wagner, 1842 (= *Guerlinguetus gilvicularis auct.*), por MAYER, PIFA-

NO & MEDINA⁶, na Venezuela, e o *Citellus (Ammospermophilus) leucurus cinnamoneus* (Merriam, 1890) por WOOD & WOOD⁵, nos Estados Unidos.

No decurso de nossas investigações sobre reservatórios silvestres do *T. cruzi*, encontramos um exemplar de serelepe capturado em Franca, SP, naturalmente infetado. A respeito da correta identificação da forma que ocorre na região existem pontos de vista divergentes. Adotando a opinião de CABRERA² a consideramos como *Sciurus (Guerlinguetus) aestuans ingrami* Thomas, 1901.

O serelepe, também conhecido pelo nome de caxinguelê e mais raramente esquilo, é, como os demais ciurídeos, um roedor muito característico pela sua longa cauda peluda e

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

(1) Do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

recurvada sobre o dorso. A pelagem é espessa, longa e macia, apresentando um colorido geral pardo-oliváceo, ligeiramente mais escuro na nuca e no dorso; o mento e a garganta são esbranquiçados e o ventre assim como as partes inferiores dos membros anteriores e posteriores são ocráceos. A cauda, bem mais longa que o corpo, é parda-olivácea escura na base e amarelada na extremidade.

O serelepe é um roedor essencialmente arborícola e muito ágil, deslocando-se ao longo dos troncos das árvores e pulando de galho em galho com extrema facilidade. Vive em zonas de mata ou bosque, sendo muito mais freqüente no litoral que no interior do Estado de São Paulo, porque as matas aqui

são muito escassas. Alimenta-se de frutas e insetos. IHERING⁵ assinala um hábito muito curioso do serelepe, qual seja o de perfurar facilmente os internódios de bambus e taquaras à procura da água aí acumulada e de larvas de insetos que aí se criam.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de *T. cruzi* ora em estudos foi isolada mediante xenodiagnóstico e subsequente inóculoção de tripanossomos metacíclicos dos triatomíneos em camundongos e ratos brancos com 20 dias de idade. Todos os animais inoculados adquiriram a infecção, sendo ela mais intensa nos camundongos.

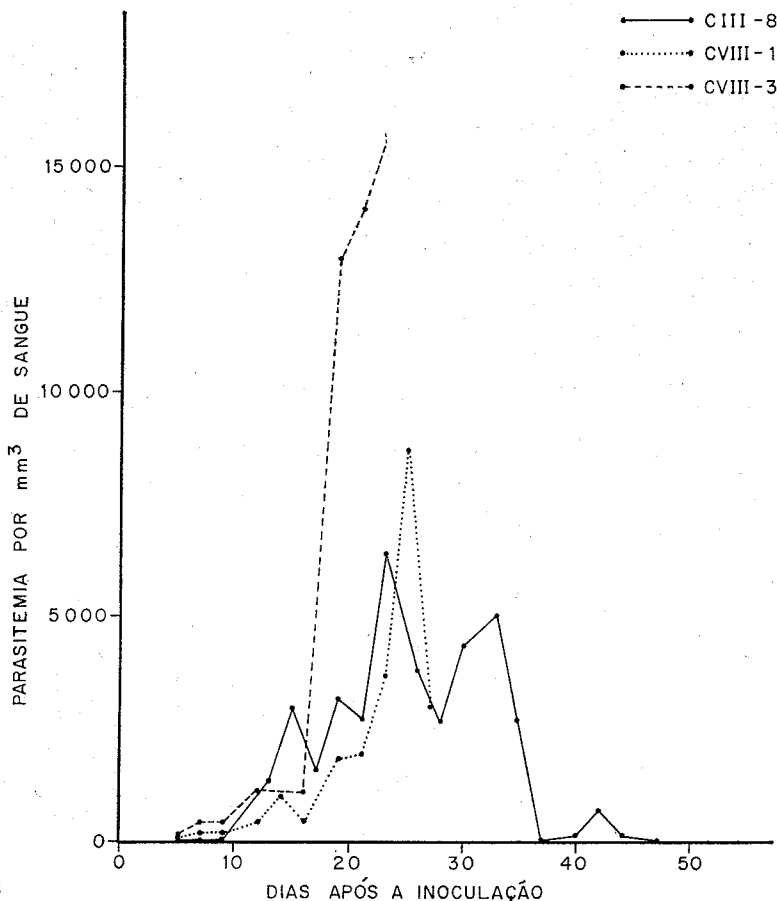


Gráfico I — Curvas parasitêmicas observadas em camundongos experimentalmente infetados com a amostra de *T. cruzi* isolada de *Sciurus aestuans ingrami*.

Uma vez isolada, a amostra foi mantida em camundongos jovens, mediante inoculação de sangue de doadores com infecção aguda, por via peritoneal; os repiques foram feitos com intervalos de 20 dias.

Os métodos usados para o estudo da morfologia, biologia e patogenicidade da amostra isolada do serelepe foram aqueles descritos por ALBUQUERQUE & BARRETTO¹, e, por isso, deixamos de entrar em maiores detalhes a respeito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia das formas sanguíneas — A observação dos caracteres morfológicos e a obtenção de dados biométricos foram realizados em esfregaços de sangue de camundongos experimentalmente infetados. Os tripanossomos observados apresentam aspecto variável, mas têm sempre os caracteres do *T. cruzi*.

Examinando esfregaços tomados ao acaso, de sangue de vários camundongos, em diferentes fases da infecção, notamos acentuado polimorfismo; só excepcionalmente encontramos formas largas, havendo predomínio de formas de comprimento e largura médios.

Nas Figs. 1-30 apresentamos desenhos de 30 tripanossomos observados ao acaso. Os resultados da micrometria sobre esses desenhos, são sumariados no Quadro I.

As medidas apresentadas nesse quadro, em particular o comprimento total médio e o índice nuclear médio, situam-se dentro dos limites de variação observados em amostras isoladas do homem e de animais silvestres, segundo FERRIOLLI & col.⁴.

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 freqüentes em fibras cardíacas. Encontramos também leishmânias livres em impressões de órgãos, coradas pelo Giemsa.

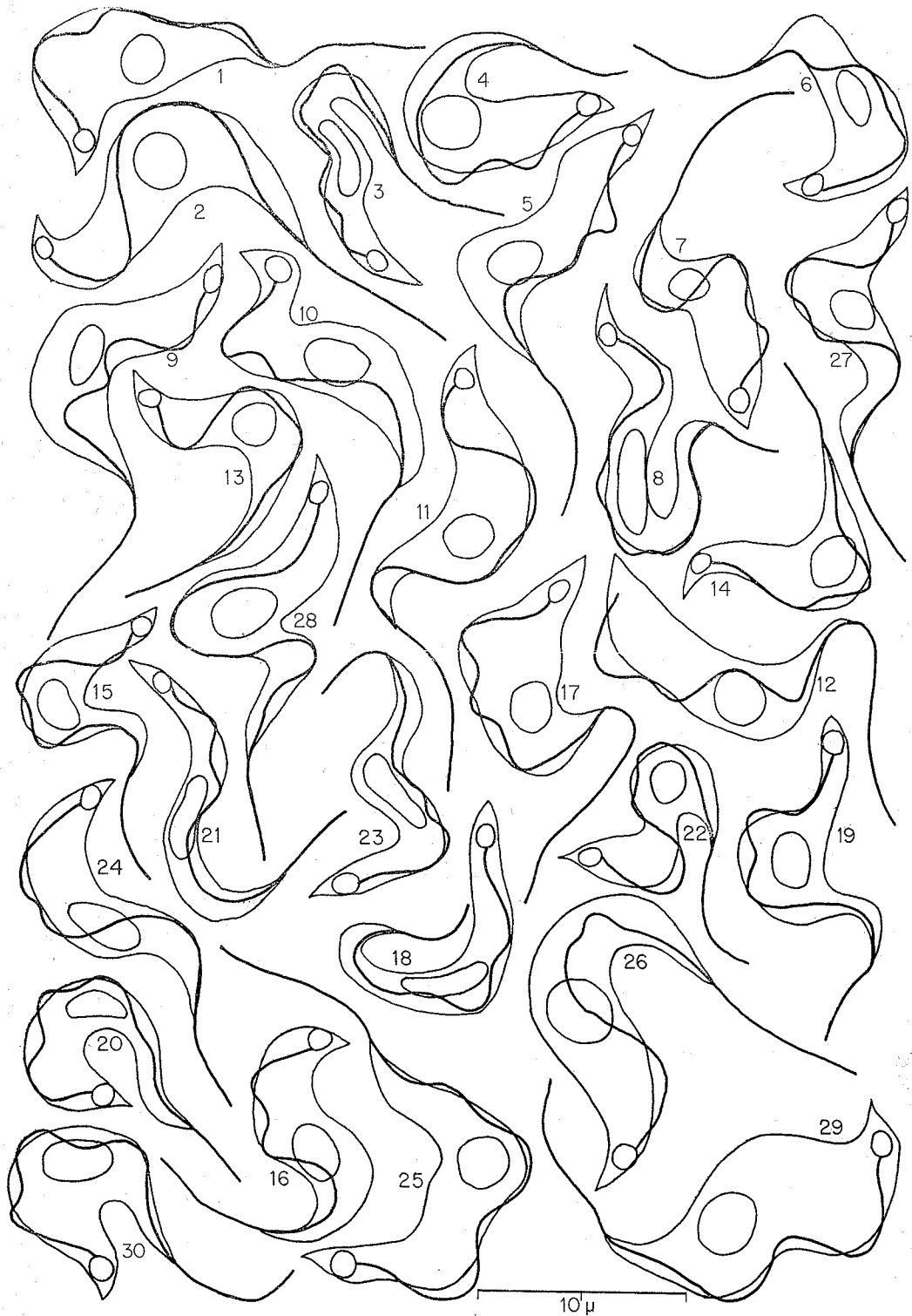
As formas observadas têm a morfologia e as dimensões das leishmânias do *T. cruzi*.

Infecção de animais de laboratório — Devemos, de início, assinalar que a amostra isolada do esquilo mostrou-se patogênica tanto para camundongos como para ratos brancos jovens, infetando 100% dos animais ino-

QUADRO I

Resultados da micrometria realizada sobre tripanossomos de sangue periférico de camundongos experimentalmente infetados com a amostra isolada de *Sciurus aestuans ingrami*

Especificação	Medidas em μ		
	Mínima	Máxima	Média
Comprimento do flagelo	3,0	13,0	6,36
Distância NA	4,5	10,5	7,41
Distância NP	7,0	10,0	8,53
Comprimento do corpo	12,5	20,5	15,95
Comprimento total	18,5	27,5	22,32
Largura do corpo	1,5	5,2	3,46
Diâmetro do cinetoplasto	0,6	1,0	0,92
Relação NP/NA	0,87	1,38	1,15



Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguíneos em camundongos experimentalmente infectados com a amostra de *T. cruzi* isolada de *Sciurus aestuans ingrami*

QUADRO II

Caracteres gerais da infecção de camundongos pela amostra de tripanossomo do *Sciurus aestuans ingrami*

N.º do animal	Período prepat. (dias)	Parasitemia máxima		Fase aguda (dias)	Observações
		N.º/mm³	Dia		
CIII -1	5	4312	30.º	—	Morreu no 31.º dia
CIII -2	5	3570	26.º	28	Sobreviveu
CIII -3	5	10829	33.º	35	Sobreviveu
CIII -4	7	5180	33.º	44	Sobreviveu
CIII -5	8	2436	35.º	35	Sobreviveu
CIII -6	7	16576	33.º	—	Morreu no 50.º dia
CIII -7	5	35210	40.º	—	Morreu no 51.º dia
CIII -8	5	6475	23.º	42	Sobreviveu
CIII -9	7	2093	30.º	30	Sobreviveu
CIII -10	5	4550	26.º	—	Morreu no 34.º dia
CVI -1	5	1127	22.º	29	Sobreviveu
CVI -2	5	2926	27.º	31	Sobreviveu
CVI -3	5	5334	34.º	34	Sobreviveu
CVI -4	5	427	25.º	34	Sobreviveu
CVI -5	5	3052	32.º	34	Sobreviveu
CVI -6	5	9980	29.º	—	Morreu no 32.º dia
CVI -7	5	8204	29.º	—	Morreu no 47.º dia
CVI -8	5	9240	36.º	—	Morreu no 45.º dia
CVI -9	5	2912	25.º	45	Sobreviveu
CVI -10	8	6146	36.º	47	Sobreviveu
CVIII-1	5	8666	25.º	—	Morreu no 29.º dia
CVIII-2	5	2352	14.º	—	Morreu no 18.º dia
CVIII-3	5	15750	23.º	—	Morreu no 25.º dia
CVIII-4	9	8232	27.º	—	Morreu no 29.º dia
CVIII-5	5	23702	25.º	—	Morreu no 28.º dia
CVIII-6	7	12124	29.º	—	Morreu no 41.º dia
CVIII-7	5	16016	27.º	—	Morreu no 32.º dia
CVIII-8	5	35056	21.º	—	Morreu no 26.º dia
CVIII-9	5	22610	29.º	—	Morreu no 39.º dia
CVIII-10	5	16800	29.º	—	Morreu no 34.º dia

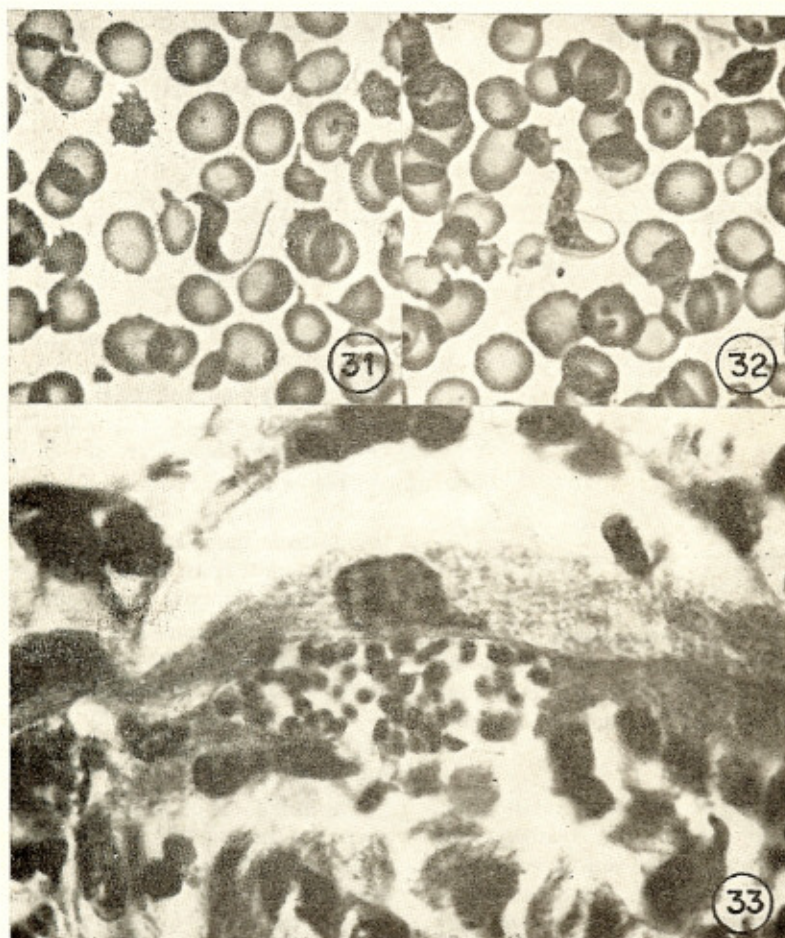
culados quer com formas metacíclicas, quer com tripanossomos sanguícolas. Como a infecção, de início, mostrou-se mais regular em camundongos, resolvemos estudar o comportamento da amostra nesses animais.

Para estudo do comportamento da infecção, destinamos 30 camundongos dentre os inoculados no terceiro, sexto e oitavo repiques. No Quadro II resumimos os resultados de nossas observações. O exame desse quadro indica que o período prepatente variou entre cinco e nove dias, com média de 5,6 dias. Vale assinalar que não houve tendência de

aumento ou diminuição do período prepatente nos repiques sucessivos.

A parasitemia mostrou-se elevada, embora variável, mesmo entre animais de um dado lote. A parasitemia máxima foi atingida entre o 14.º e o 40.º dias. A duração da fase aguda, nos 13 camundongos que sobreviveram, variou entre 28 e 47 dias, notando-se que todos os camundongos do último lote morreram.

A taxa de letalidade foi relativamente alta, 56,7% dos animais inoculados vieram a falecer entre o 18.º e 51.º dia após a inoculação.



Figs. 31-33 — Microfotos de *T. cruzi* em camundongos experimentalmente infetados com a amostra isolada de *Sciurus aestuans ingrami*; Figs. 31 e 32 — tripanossomos sanguícolas (1200 X); Fig. 33 — Leishmânias em fibra cardíaca (1200 X)

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.

Os tipos de curvas parasitêmicas variaram muito, mesmo em animais de um dado lote.

Infecção de triatomíneos — Para evidenciar a infetividade do hemoflagelado em estudo para triatomíneos, alimentamos ninfas em quinto estágio de *P. megistus*, *T. infestans*, *T. sordida* e *R. neglectus* em camundongos na fase aguda da infecção. Os resultados obtidos são apresentados no Quadro III.

Tais resultados indicam uma maior infetividade para o *P. megistus*, embora em todas as espécies experimentadas o tripanossomo do esquilo se desenvolvesse bem.

QUADRO III

Infetividade para quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo isolado do *Sciurus aestuans ingrami*

Espécie	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		N.º	%
<i>P. megistus</i>	30	29	96,7
<i>T. infestans</i>	30	28	93,3
<i>T. sordida</i>	30	27	90,0
<i>R. neglectus</i>	29	26	89,6

Cultivabilidade — Conseguimos em meios NNN e de Warren isolar a amostra de tripanossomo do esquilo. Obtivemos bom crescimento inicial e fácil manutenção mediante repiques mensais.

Provas de proteção — Para verificarmos se uma infecção prévia com a amostra do esquilo confere imunidade contra reinfecção por amostra virulenta de *T. cruzi*, assim procedemos: dez camundongos que se encontravam na fase crônica da infecção pela amostra em estudos foram reinoculados com a amostra Y; como testemunhas inoculamos dez camundongos limpos, cuja idade e peso eram equívalentes aos do lote anterior.

O exame desses camundongos mostrou que todos os animais do grupo controle adquiriram a infecção, exibindo parasitemia alta e vindo a maioria a morrer entre o 10.º e 15.º dia após a inoculação; dos camundongos previamente infetados com a amostra do esquilo, apenas quatro tiveram uma discreta parasitemia, permanecendo todos os demais negativos.

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* e a considerar o *Sciurus (Guerlinguetus) aestuans ingrami* como mais um hospedeiro natural do agente etiológico da doença de Chagas.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. LII — Natural infections of Sciurus (Guerlinguetus) ingrami Thomas, 1901, by T. cruzi

A strain of *T. cruzi* was isolated, through xenodiagnosis and subsequent inoculation into young rats and mice, from a specimen of *Sciurus aestuans ingrami* Thomas, 1901, trapped at Franca, State of São Paulo, Brazil.

This strain is pathogenic for baby mice and rats, infecting one hundred per cent of the animals inoculated either with metacyclic trypanosomes from triatomines or with blood forms from donors with acute infections.

Blood trypanosomes in mice have a mean total length of 22.32 μ and a mean nuclear index of 1.15. Leishmanial forms are seen in tissue sections specially in the heart of mice killed during the acute phase of the infection.

The infection of mice is severe, with short prepatent period, high parasitemia and mortality rate of 56.7 per cent. Mice recovered from an infection by the *Sciurus*-strain have a good resistance against reinfection by the Y-strain of *T. cruzi*.

The *Sciurus*-strain is easily cultivated in liquid and diphasic media and infects regularly several species of triatomines.

RIBEIRO, R. D. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LII — Infecção natural do *Sciurus (Guerlinguetus) aestuans ingrani* Thomas, 1901 pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14:352-359, 1972.

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, *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1824) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 28:457-468, 1968.
2. CABRERA, A. — Catalogo de los mamíferos de America del Sur. *Rev. Mus. Argent. Ci. Nat. Bernardino Rivadavia* 4:309-732, 1960.
3. CLARK, H. C. & DUNN, L. H. — Experimental studies on Chagas' disease in Panama. *Amer. J. Trop. Med.* 12:49-77, 1932.
4. FERRIOLLI F.º, F. F.; BARRETTO, M. P. & CARVALHEIRO, J. R. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV — Variações dos dados biométricos obtidos em amostras de *T. cruzi* isolados de casos humanos da doença de Chagas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 2:1-8, 1968.
5. IHERING, R. — *Da vida dos nossos animais*. São Leopoldo, RS: Rotermund & Co., 319 págs., 1934.
6. MAYER, M.; PIFANO, F. & MEDINA, R. — Aspectos epidemiológicos de la Enfermedad de Chagas em Venezuela. *Rev. Soc. Est. Med.* 13:134-186, 1946.
7. MAZZA, S. — Otros mamíferos infectados naturalmente por *Schizotrypanum cruzi* o *cruzi-similes* en provincias de Jujuy Y Salta. *Mepra* 45:119-134, 1940.
8. MILLER Jr., G. S. & KELLOG, R. — List of North American recent mammals. *U.S. Nat. Mus. Bull.* 205:1-954, 1955.
9. WOOD, S. F. & WOOD, F. D. — Observations on vectors of Chagas' disease in the United States. III. New Mexico. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 10:155-165, 1961.

Recebido para publicação em 13/6/1972.