

ESTUDOS SÔBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*. XLII — INFECÇÃO NATURAL DO SÍMIO, *ALOUATTA CARAYA* (HUMBOLDT, 1812) PELO *T. CRUZI*

Gentilda Kazuko FUNAYAMA⁽¹⁾ e Mauro Pereira BARRETTO⁽¹⁾

RESUMO

Amostra de *T. cruzi* foi isolada, através do xenodiagnóstico e subsequente inoculação em camundongos, de um exemplar de bugio, *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812), procedente do Município de Franca, S.P. Essa amostra mostrou-se patogênica para camundongos brancos jovens, infetando 100% dos animais inoculados com fezes de triatomíneos ou com sangue de doadores infetados. As formas sanguícolas medem 25,71 μ de comprimento total médio e 4,37 μ de largura média, e têm índice nuclear médio de 1,25. Em animais sacrificados durante a fase aguda da infecção, ninhos de leishmânias foram observados sobretudo em fibras cardíacas. A infecção do camundongo foi sempre grave, com período prepatente médio de 5,3 dias, parasitemia muito elevada e taxa de letalidade de 63,3%. Provas de proteção mostraram que a amostra em estudos confere aos camundongos que sobrevivem boa resistência contra a reinfeção pela amostra Y do *T. cruzi*. O tripanossomo cultiva-se bem em ágar-sangue e em meio líquido de Warren e infeta regularmente triatomíneos testados, dando os seguintes índices de infecção: *P. megistus* — 96,7%, *R. neglectus* — 77,8%, *T. sordida* — 65,5% e *T. infestans* — 83,3%.

INTRODUÇÃO

Em trabalhos recentes, CARVALHEIRO & BARRETTO⁸ e ALBUQUERQUE & BARRETTO^{3,4,5} discutiram o problema da infecção natural dos símios americanos pelo *T. cruzi*, e, por isso, deixamos de entrar em maiores detalhes a respeito.

Durante nossos estudos sôbre reservatórios silvestres do *T. cruzi* tivemos a oportunidade de examinar um exemplar macho adulto de *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812), procedente de Franca, S.P., e dêle isolar, pela primeira vez, uma amostra do referido tripanossomo, amostra essa cujo estudo constitui objeto do presente trabalho.

O *Alouatta caraya*, vulgarmente conhecido por bugio, guariba ou barbado, é um macaco relativamente corpulento, medindo 50 a 60 cm de comprimento e tendo cauda com 55 a 65 cm. A pelagem é longa e espessa, formando, na cara, uma barba bem desenvolvida, principalmente nos machos velhos. A coloração varia com o sexo e a idade. No exemplares jovens a pelagem é amarela-olivácea; essa coloração se mantém na fêmea adulta na qual aparecem pêlos escuros na cabeça e no dorso. Nos machos adultos a pelagem é toda negra, com reflexos pardacentos no dorso e na cauda. As partes glabras da face, dos membros e da cauda são pretas nos dois sexos^{7, 15}.

Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto, em parte com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Pesquisas

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

Os bugios têm aspecto triste e sério; vivem em bandos de 10 a 12 e caminham em fileira com o macho mais velho, chamado "capelão", à frente. Passam tôda a vida em árvores só descendo para beber água; embora ágeis para subir em árvores e caminhar entre a ramagem, seus movimentos são lentos. Sabem utilizar-se, talvez melhor que os demais símios americanos, da cauda prehensil que utilizam constantemente e em cuja fôrça confiam mais do que na das mãos e pés. Podem permanecer pendurados pela extremidade da cauda durante longo tempo e, nessa posição, fazer o seu repasto. Não saltam de ramo em ramo ou de árvore em árvore como outros símios, mas, quando na extremidade de um galho, deixam-se literalmente cair sôbre a ramagem inferior à qual, em seguida, se agarram. Quando perseguidos não fogem, mas se escondem entre a folhagem das árvores. Alimentam-se de brotos, fôlhas e frutas. Muito característica e conhecida é sua maneira de uivar ou roncar; daí serem conhecidos também por "macacos roncadores" no Brasil ou "aulladores" nos países de língua espanhola^{7, 15}.

O *Alouatta caraya* têm ampla distribuição geográfica ocorrendo na parte leste de Bolívia, no Paraguai, no Norte da Argentina e no Brasil (Centro e Sul do Mato Grosso, Sul de Goiás, Oeste de Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina). Os bugios vivem de preferência em matas densas, sobretudo das bordas de rios. Antigamente eram muito comuns no Estado de São Paulo, mas com o desmatamento vêm se tornando cada vez mais raros.

MATERIAL E METODOS

O isolamento da amostra em estudo foi conseguido mediante xenodiagnóstico e subsequente inoculação de fezes dos triatomíneos em camundongos brancos jovens. Todos os animais inoculados se infetaram e a partir dêles a amostra foi mantida em camundongos com cêrca de 20 dias de idade, através de inoculações de sangue parasitado, por via intraperitoneal, com intervalos de 25 dias. Nos repiques de números 3, 6 e 8 inoculamos lotes maiores de camundongos para estudo do comportamento da infecção.

Para o estudo dos caracteres morfológicos e biométricos das formas sanguícolas e tissulares, da patogenicidade para animais de laboratórios, da infetividade para triatomíneos, da cultivabilidade e do desenvolvimento de imunidade contra reinfecções por amostra virulenta do *T. cruzi* utilizamos os métodos descritos por ALBUQUERQUE & BARRETTO^{1, 2} e, por isso, deixamos de entrar em maiores detalhes a respeito.

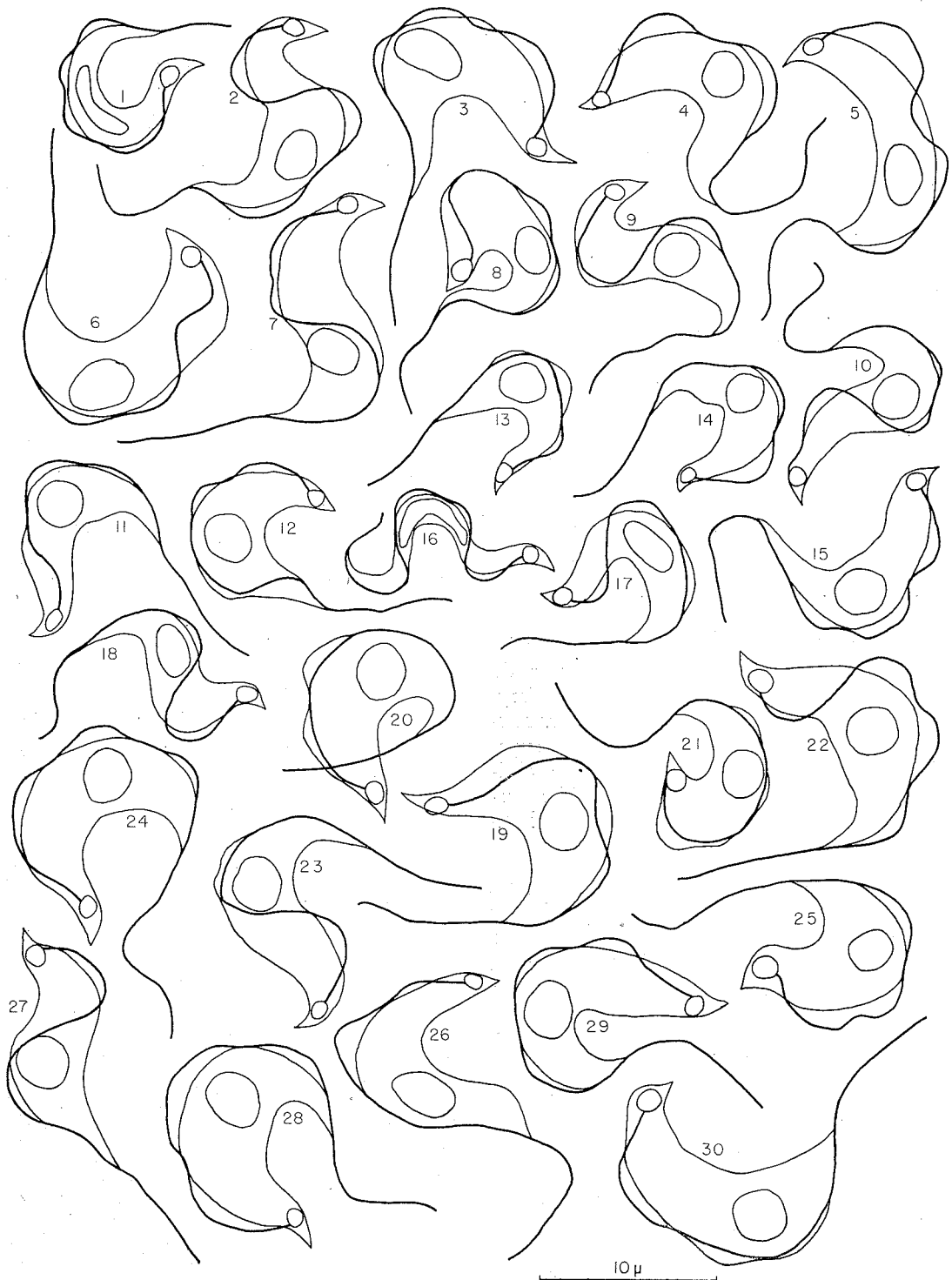
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia dos tripanossomos sanguícolas — Em esfregaços de sangue corados pelo Giemsa, os tripanossomos observados em camundongos experimentalmente infetados apresentam aspecto variável, mas com os caracteres gerais do *T. cruzi*, isto é, tamanho médio, cinetoplasto volumoso, arredondado ou ovóide e de localização subterminal, membrana ondulante delicada e com pequeno número de ondulações, núcleo ovóide ou reniforme e de localização subcentral (Fig. 1).

Nessas preparações predominam de maneira muito acentuada as formas largas que superam em largura os tripanossomos observados por FERRIOLLI & BARRETTO^{9, 10, 11} e por CARVALHEIRO & BARRETTO⁸ em animais de laboratório infetados com as amostras isoladas do *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885), do *Rattus rattus* (Linnaeus, 1785), da *Cavia aperea aperea* Erxleben, 1777 e do *Cebus apella versutus* Elliot, 1910. Algumas formas de largura média (Figs. 1 e 17) são também observadas. Excepcionalmente são encontradas formas delgadas (Fig. 16) mas nunca tão delgadas como as observadas por FUNAYAMA & BARRETTO¹³ na amostra isolada do *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810) e por FERRIOLLI & col.¹² na amostra Y.

Os resultados obtidos na micrometria de tripanossomos observados ao acaso em esfregaços colhidos de vários camundongos com infecção aguda, são sumariados no Quadro I.

Êsses resultados mostram que as medidas obtidas aproximam-se ou caem dentro dos limites de variação das amostras de *T. cruzi* isoladas de casos humanos ou de animais silvestres, apontados por FERRIOLLI & col.¹². O comprimento total médio, no entanto, su-



Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguícolas em camundongos inoculados com a amostra de *T. cruzi*, isolada de *Alouatta caraya*

Q U A D R O I

Resultados da micrometria realizada sobre 30 tripanossomos do sangue periférico de camundongos experimentalmente infetado com a amostra isolada do *Alouatta caraya*

Especificação	Medidas em micra		
	mínima	máxima	média
Comprimento do flagelo	3,3	12,5	7,70
Distância NA	5,8	9,8	7,98
Distância NP	7,5	12,8	10,02
Comprimento do corpo	13,5	21,8	18,00
Comprimento total	22,6	33,2	25,71
Largura do corpo	1,8	6,0	4,37
Diâmetro do cinetoplasto	0,8	1,5	1,01
Relação NP/NA	0,94	1,82	1,25

perou a média máxima até agora observada, que foi de 22,87 μ , obtida na amostra do *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810) estudada por FUNAYAMA & BARRETTO¹³; por outro lado, a largura média superou a média máxima, que foi de 3,38 μ , obtida na amostra do *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885) por FERRIOLLI & BARRETTO⁹.

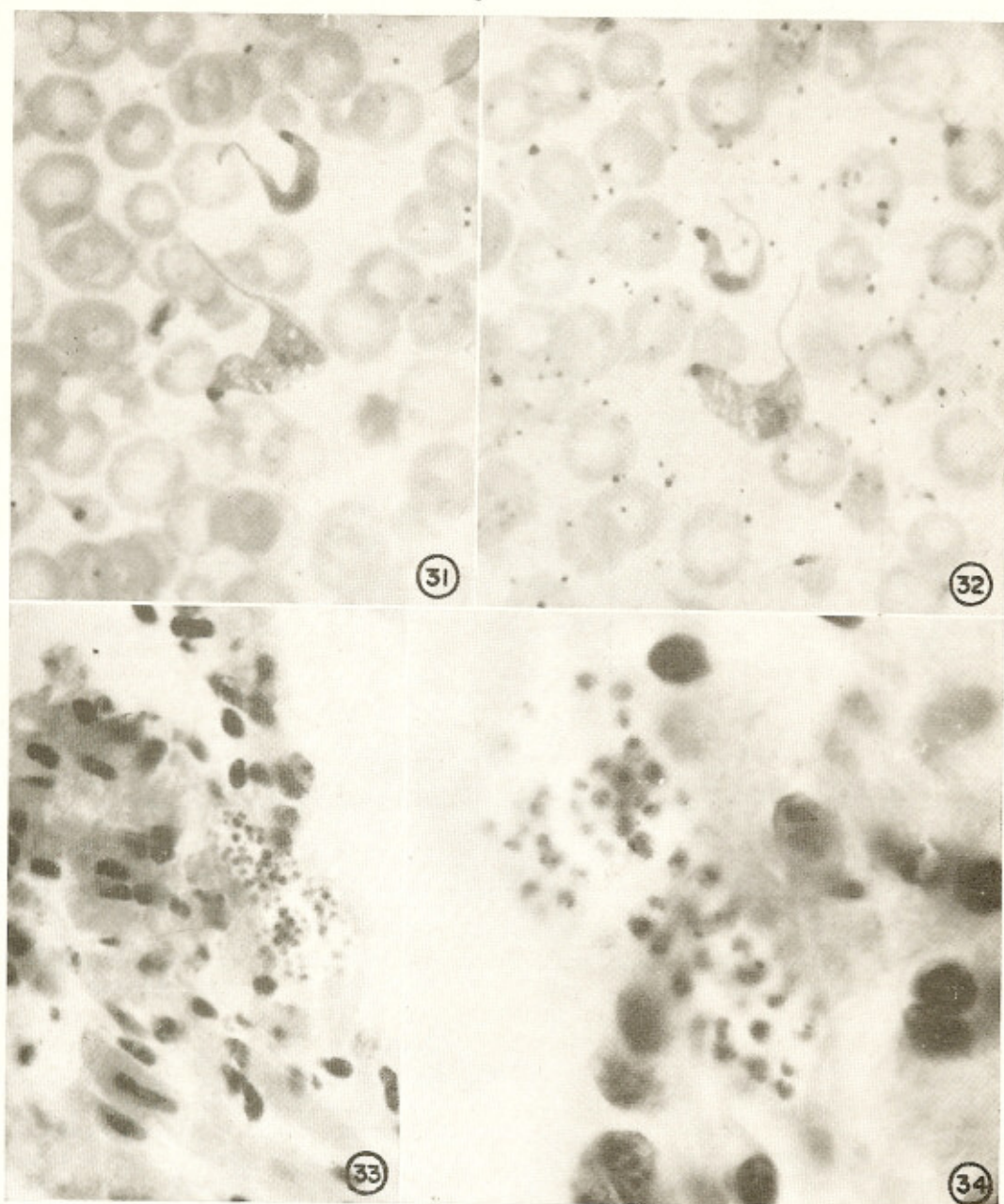
Formas tissulares — O exame de cortes seriados de tecidos e órgãos de camundongos mortos durante a fase aguda da infecção experimental revelou a presença de formas em leishmânia, especialmente na musculatura cardíaca (Figs. 33-34). As leishmânias observadas têm morfologia e dimensões idênticas às das observadas em amostras do *T. cruzi* isoladas do homem.

Infecção de animais de laboratório — Como dissemos, depois de isolada, a amostra em estudos foi mantida em camundongos com 20 dias de idade mediante subinoculações de sangue por via intraperitoneal com intervalos de 25 dias. Todos os animais inoculados adquiriram a infecção. Para estudo do comportamento da amostra destinamos 30 camundongos dentre os inoculados no terceiro, sexto

e oitavo repiques. Os caracteres gerais da infecção são sumariados no Quadro II. O exame dêste quadro mostra que o período prepatente foi, na maioria dos casos, de cinco dias; excepcionalmente observamos períodos de sete e nove dias. O período prepatente médio foi de 5,3 dias. Não se observou tendência para aumento ou diminuição de duração nos repiques sucessivos.

A parasitemia, embora variável, mostrou-se elevada, superando o nível de 1.000 flagelados por mm³ de sangue em todos os animais; em 76,7% dos casos a parasitemia foi superior a 5.000 flagelados por mm³ de sangue. Os níveis parasitários máximos oscilaram entre 1.008 (animal CVI-9) e 88.792 (animal CVIII-10), e foram atingidos entre o 21.º e 42.º dia após a inoculação.

A duração da fase aguda, nos animais que sobreviveram, variou de 30 a 50 dias. Aliás, dos 30 animais estudados, apenas 11 sobreviveram o que dá uma taxa de letalidade de 63,3%. Alguns animais morreram quando apresentavam as parasitemias mais altas; outros morreram quando a parasitemia estava em fase decedente. Embora a maioria dos animais que morreram apresentasse parasitemias altas, observamos casos de morte



Figs. 31-34 — Microfotos de formas observadas em camundongos inoculados com a amostra de *T. cruzi*, isolada de *Alouatta caraya*. Figs. 31 e 32 — Tripanossomos sanguicolas (Giemsa, 1.200 \times). Figs. 33 e 34 — Leishm6nias no coraça6o (H.E., 400 e 1.200 \times)

QUADRO I

Caracteres gerais de infecção de camundongos pela amostra de tripanossomo isolada de *Alouatta caraya*

N.º do animal	Período prepatente (dias)	Parasitemia máxima		Fase aguda em dias	Observações
		N.º/mm ³	Dia após inoculação		
CIII-1	9	6034	35.º	31	Sobreviveu
CIII-2	5	6566	30.º	42	Sobreviveu
CIII-3	7	7588	26.º	30	Sobreviveu
CIII-4	5	6090	33.º	44	Sobreviveu
CIII-5	5	4382	28.º	—	Morreu no 38.º dia
CIII-6	5	8120	28.º	—	Morreu no 29.º dia
CIII-7	5	4046	26.º	—	Morreu no 29.º dia
CIII-8	5	4942	42.º	46	Sobreviveu
CIII-9	5	8946	35.º	32	Sobreviveu
CIII-10	7	3248	28.º	30	Sobreviveu
CVI-1	5	2590	34.º	50	Sobreviveu
CVI-2	5	16324	34.º	—	Morreu no 42.º dia
CVI-3	5	27587	34.º	—	Morreu no 42.º dia
CVI-4	5	8855	34.º	41	Sobreviveu
CVI-5	5	8050	29.º	—	Morreu no 29.º dia
CVI-6	5	7007	32.º	45	Sobreviveu
CVI-7	5	2856	39.º	—	Morreu no 49.º dia
CVI-8	5	14007	34.º	—	Morreu no 40.º dia
CVI-9	5	1008	34.º	45	Sobreviveu
CVI-10	5	7910	32.º	—	Morreu no 35.º dia
CVIII-1	5	11914	28.º	—	Morreu no 30.º dia
CVIII-2	5	14056	33.º	—	Morreu no 35.º dia
CVIII-3	5	29470	28.º	—	Morreu no 30.º dia
CVIII-4	5	13195	31.º	—	Morreu no 32.º dia
CVIII-5	5	8855	21.º	—	Morreu no 23.º dia
CVIII-6	5	5768	21.º	—	Morreu no 23.º dia
CVIII-7	5	8050	27.º	—	Morreu no 28.º dia
CVIII-8	5	20440	35.º	—	Morreu no 42.º dia
CVIII-9	5	10010	28.º	—	Morreu no 32.º dia
CVIII-10	5	88792	26.º	—	Morreu no 30.º dia

durante a fase aguda, em que o animal apresentava parasitemia relativamente baixa (CVI-7); por outro lado, animais com parasitemias altas conseguiram sobreviver (CIII-9).

As curvas parasitêmicas variaram muito, mesmo entre animais de um dado lote. Mas em todos os camundongos elas tiveram um traço comum, isto é, a parasitemia, após tornar-se aparente, conservou-se em níveis muito baixos durante duas ou três semanas, para depois se elevar de maneira em geral regular, às vezes irregular. Uma vez atingido o ponto máximo, nos animais que sobreviveram, a parasitemia caiu de maneira mais ou menos regular. Em raros casos observamos

curvas parasitêmicas completamente irregulares. No Gráfico I apresentamos alguns tipos de curvas.

O fato de todos os animais adquirirem a infecção aliado aos altos níveis parasitêmicos e à elevada taxa de letalidade, indica que a amostra ora em estudo é muito patogênica para camundongos. Neste particular ela se comporta de modo, até certo ponto, semelhante ao da amostra encontrada no *Procyon cancrivorus nigripes* Mivart, 1885, recentemente estudada por BARRETTO & FERRIOLI⁶.

Infetividade para triatomíneos — Procurando estudar a infetividade da amostra

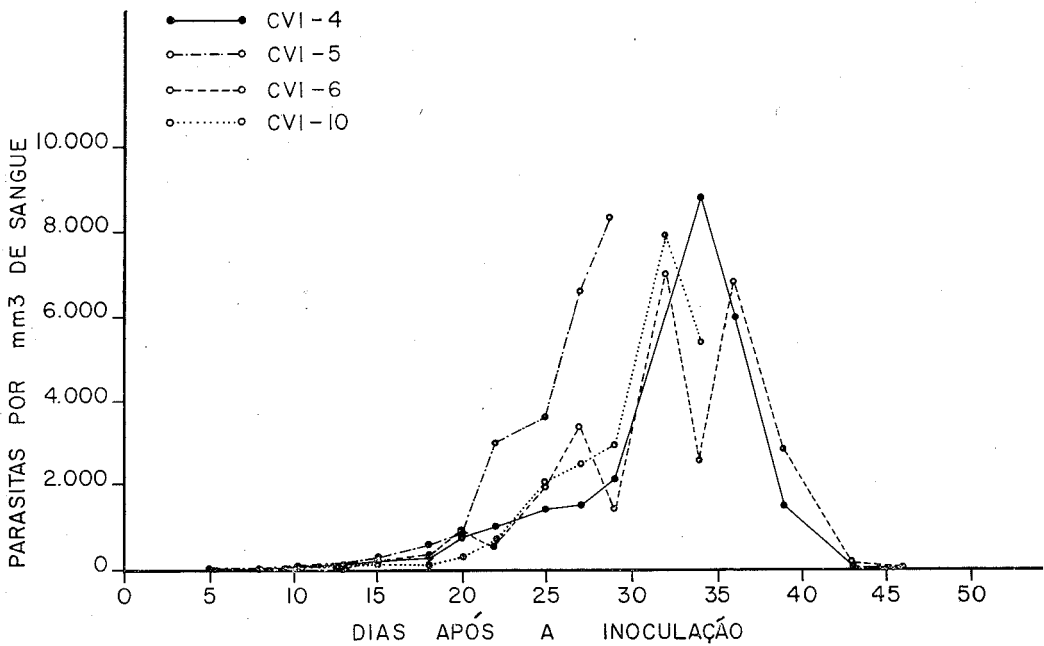


Gráfico I — Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos inoculados com a amostra de *T. cruzi*, isolada de *Alouatta caraya*

de *T. cruzi* do bugio para triatomíneos, empregamos 120 ninfas em quinto estágio de *P. megistus*, *R. neglectus*, *T. sordida* e *T. infestans*. Esses triatomíneos, distribuídos em lotes de tal forma que cada lote tivesse o mesmo número de exemplares de cada espécie, foram alimentados em camundongos com infecção aguda e examinados 30 dias depois. Os resultados obtidos são sumariados no Quadro III.

Q U A D R O I I I

Suscetibilidade de quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo isolada do *Alouatta caraya*

Espécies	Exemplares alimentados	Exemplares	
		N.º	%
<i>P. megistus</i>	30	29	96,7
<i>R. neglectus</i>	27	21	77,8
<i>T. sordida</i>	29	20	65,5
<i>T. infestans</i>	30	25	83,3

Esses resultados indicam que o *P. megistus* é o triatomíneo mais suscetível, a semelhança do que acontece no caso da maioria das amostras isoladas de animais silvestres e até agora por nós estudadas. É de se notar também a boa suscetibilidade do *T. infestans* que tem se mostrado menos suscetível a outras amostras.

Cultivabilidade — Mediante sementeira de algumas gotas de sangue colhido de camundongos com infecção aguda obtivemos bom crescimento inicial em meio NNN e de Warren. Depois de isolada a amostra tem sido mantida facilmente em cultura, fazendo-se repiques quinzenais.

Provas de proteção — Dez camundongos nos quais a infecção passou para a fase crônica, foram reinoculados por via intraperitoneal com 0,5 ml de sangue colhido de camundongos com infecção aguda pela amostra Y. Todos os animais exibiram uma parasitemia muito discreta e nenhum morreu. Dez camundongos testemunhas, com idade e peso equivalentes aos dos do lote anterior,

foram também inoculados pela mesma via e com o mesmo inóculo. Todos os animais, já a partir do quinto dia, exibiam parasitemia ascendente vindo a morrer entre o 12.º e o 20.º dia após a inoculação.

CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos e biológicos do tripanossomo do bugio, associados à sua patogenicidade para camundongos e aos resultados da prova de proteção, permitem-nos concluir que êsse tripanossomo deve ser identificado como *T. cruzi* e considerar o referido símio como mais um hospedeiro do flagelado.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. XLII — Natural infection of the monkey, Alouatta caraya (Humboldt, 1812) by T. cruzi

A strain of *T. cruzi* was isolated, through xenodiagnosis and subsequent inoculation into mice, from a specimen of *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) trapped at Franca, São Paulo, Brazil. This strain is pathogenic for baby white mice, infecting one hundred per cent of the animals inoculated with feces of infected triatomines or blood of parasitized donors. Blood flagellats observed in mice have a mean total length of 25.71 μ , a mean width of 4.37 μ , and a mean nuclear index of 1.25. Leishmanial forms were seen in tissue sections especially in cardiac fibers of mice killed during the acute phase of the infection. The infection in mice is severe with short prepatent period, high parasitemia and mortality rate of 63.3 per cent. Protection tests show that mice recovered from acute infection by the *Alouatta*-strain developed a good resistance against reinfection by *T. cruzi* Y strain. The monkey strain develops readily in culture media and infects regularly four species of triatomines tested, giving the following infection rates: *P. megistus* — 96.7 per cent, *R. neglectus* — 77.8 per cent, *T. sordida* — 65.5 per cent, and *T. infestans* — 83.3 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: 229-237, 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, 1968a.
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. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVII — Infecção natural do símio *Callithrix penicillata jordani* (Thomas, 1904) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:394-402, 1969.
5. ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XL — Infecção natural do símio, *Callithrix argentata melamura* (Geoffroy, 1812) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12: 121-128, 1970.
6. BARRETTO, M. P. & FERRIOLLI Filho, F. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XLI — Infecção natural do *Procyon cancrivorus nigripes* Mivart, 1885 pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* (Em publicação).
7. CABRERA, A. & YEPES, J. — *Mamíferos Sud-americanos*. Buenos Aires, Cia. Argentina, Ed., 370 págs., 1940.
8. 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.
9. 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. Med. trop. São Paulo* 7:72-81, 1965.

FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — 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.

10. 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, 1965a.
11. FERRIOLLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVI — Infecção natural da preá, *Cavia aperea aperea* Erxleben, 1777 por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:267-276, 1966.
12. FERRIOLLI Filho, F.; BARRETTO, M. P. & CARVALHEIRO, J. R. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV — Variação dos dados biométricos em amostras do *T. cruzi* isoladas de casos humanos da doença de Chagas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 2:1-8, 1968.
13. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVIII — Infecção natural do morcego, *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* (Em publicação).
14. IHERING, R. von — Da Vida dos nossos Animais. São Leopoldo, Rotemund & Co., 319 págs., 1934.
15. VIEIRA, C. C. — Os símios do Estado de São Paulo. *Papéis Avulsos, Dept. Zoologia* (São Paulo) 4:1-31, 1944.

Recebido para publicação em 15/1/1970.