

Infetividade de cepas silvestres de *Trypanosoma cruzi*, mantidas em cultura, para *Calomys callosus* (Rodentia) e camundongos albinos *

Monamaris M. Borges ** & Dalva A. Mello ***

RESUMO

Neste trabalho foi estudado o poder infectante de quatro cepas silvestre de *T. cruzi* mantidas no meio LIT. Os experimentos foram conduzidos em *Calomys callosus* (Rodentia) e camundongos albinos. Os resultados mostraram que não houve perda da capacidade infectante, porém o período prepatente foi reduzido, ocorrendo aumento na parasitemia.

INTRODUÇÃO

Mais de cem espécies de mamíferos silvestres, provenientes de diferentes regiões geográficas, já foram encontrados na natureza infectados com *Trypanosoma cruzi*.

Alguns aspectos sobre o comportamento em animais de laboratório ou meios acelulares, de algumas cepas isoladas de roedores e marsupiais, foram estudados por Norman & col. (1959), Deane & col. (1963), Barretto & Ferriolli Filho (1965), Bice & Zeledon (1970), Ribeiro & Barretto (1975), Mello & col. (1979) e Mello & col. (1980). Os aspectos pesquisados por estes autores, não esgotaram o conheci-

mento científico que é necessário ter sobre cepas de *T. cruzi* isoladas de animais silvestres. Este trabalho tem por objetivo, estudar a capacidade infectante para *Calomys callosus* e camundongos albinos, de formas tripomastigotas de cepas isoladas de animais silvestres, mantidas em meio acelular.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas nesta pesquisa as quatro cepas silvestres de *T. cruzi* estudadas por Mello & col. (1979), isto é, R52, R64 e R65 (isoladas de *Didelphis albiventris*) e M226 (isolada de *Calomys callosus*).

* Este trabalho foi conduzido com auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq-02-1-06)

** Bolsista CNPq.

*** Professora MDC-FS, Universidade de Brasília.

As cepas estavam sendo mantidas no meio LIT através de repiques que variavam entre 12 - 15 dias. Quando se iniciaram os estudos as cepas tinham "in vitro" o seguinte tempo: 88 dias (M226); 137 dias (R65); 170 dias (R6) e 186 dias (R52).

Nos experimentos "in vitro" foram utilizados para cada cepa cinco *Calomys callosus* e cinco camundongos albinos com idade entre 27 - 36 dias, perfazendo um total de 40 animais. Estes animais foram inoculados via intraperitoneal com uma dose em torno de 10^4 tripomastigotas metacíclicos obtidos no LIT. A contagem dos flagelados era realizada em câmara de Neubauer como está descrito em Camargo (1964).

A evolução da infecção através da parasitemia, nos animais assim inoculados, foi acompanhada por um período de 46 dias, tendo sido determinado também o período prepatente.

Os animais que não apresentavam parasitemia patente, eram submetidos a xenodiagnósticos com ninfas de *Rhodnius neglectus*, *Panstrongylus megistus* (III e IV estágios) e *Dipetalogaster maximus* (I estágio). Estes barbeiros eram examinados após 30 dias do repasto sanguíneo.

RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 mostram, respectivamente, o período prepatente para *C. callosus* e camundongos albinos. A prepatência nos *C. callosus* estudados variou de 6 - 8 dias. Dos camundongos inoculados, somente

11 apresentaram parasitemia patente, como pode ser visto na tabela 2. O período prepatente nestes animais variou entre 15 - 32 dias.

As tabelas 3 e 4 e o gráfico 1 apresentam os dados numéricos e a evolução da parasitemia das quatro cepas inoculadas em *C. callosus* e camundongos.

Os *C. callosus* inoculados com a cepa R52 apresentaram parasitemia mais altas. Naqueles inoculados com as cepas R64, R65 e M226 as parasitemias foram baixas. Os picos parasitêmicos mais elevados, encontrados em *C. callosus* para cada cepa, ocorreram como segue: 15o. - 18o. dia na R52; 8o. - 13o. na R65; 6o. - 8o. dia na R64 e 8o. - 11o. na M226.

Quanto aos camundongos, apenas em quatro inoculados com duas cepas foi possível acompanhar a evolução da parasitemia. Como mostra os dados na tabela 4, a parasitemia da cepa R52 foi estudada em um camundongo. O pico máximo de população de tripomastigotas circulantes ocorreu no 29o. dia após inoculação. Os três camundongos inoculados com a cepa R64 apresentaram evolução parasitêmica com níveis muito diferentes. Assim é que no animal no. 3 a parasitemia foi a mais alta, com pico de população no 27o. dia. O animal número 2 apresentou parasitemia mais baixa do que o número 3 e mais alta do que o número 4. Os picos da população de tripomastigotas, para os camundongos 2 e 4, ocorreram respectivamente no 32o. e 24o. dias.

Os animais que apresentaram exames negativos no decorrer das experiências tiveram xenodiagnóstico positivo.

TABELA 1

Prepatência em *Calomys callosus* infectados experimentalmente com formas tripomastigotas de cepas silvestres de *T. cruzi*, obtidas em meio Lit.

Cepas de <i>T. cruzi</i>	Prepatência (dias)		
	Média	Mm	Mx
R52	8,6	6	15
R65	7,0	6	11
R64	6,0	6	6
M226	7,0	6	11

TABELA 2

Prepatência em camundongos albinos infectados experimentalmente com formas tripomastigotas de cepas silvestres de *T. cruzi*, obtidas em meio Lit.

Cepas de <i>T. cruzi</i>	No. de animais/Período prepatente (dias)		
R52	1/15	1/18	
R65	1/18	1/20	
R64	1/15	2/18	1/20 1/32
M226	1/29	1/32	

DISCUSSÃO

Acredita-se que a manutenção de *T. cruzi* "in vitro" em meios acelulares, contribui para a perda do poder infectante e virulência deste patógeno.

Packhanian & Sweets (1947) trabalhando com amostras de *T. cruzi* mantidas "in vitro" por treze anos verificaram que esta não perdia a virulência para camundongos.

Resultados semelhantes foram encontrados por Gobler (1951) com cepas mantidas "in vitro" por um período de três anos.

Silva & Nussenzweig (1953) trabalhando com a cepa Y, verifica-

ram relação direta entre o número de tripanosomas, inoculados com o período prepatente e a parasitemia.

Barretto & Ferriolli Filho (1965), trabalhando com cepas isoladas de marsupiais, ressaltaram que o curso da infecção com formas de culturas mantidas em meio acelular apresentaram período prepatente mais curto e parasitemia mais alta. Concluíram estes autores que tal fato seria decorrente do número alto de formas infectantes obtidas na cultura.

Carvalho & Collares (1965) trabalhando com a cepa Y, mostraram que sua passagem em cultura "ainda que por período transitório"

TABELA 3

Evolução da parasitemia em *Calomys callosus* infectados experimentalmente com formas tripomastigotas de cepas silvestres de *T. cruzi*, obtidas em meio Lit.

No. de dias após a inoculação	Cepas de <i>T. cruzi</i> (No. médio de Parasitas/5mm ³)			
	R52	R64	R64	M226
6	40	600	2.940	150
8	1.970	800	3.250	620
11	1.270	837,5	1.100	590
13	1.410	725	420	210
15	37.270	387,5	920	290
18	25.501	50	700	240
20	2.200	300	1.960	520
22	940	287,5	2.212	230
24	640	350	2.660	240
27	240	62,5	1.160	90
29	150	112,5	1.020	10
32	30	12,5	390	20
35	30	12,5	510	20
37	70	75	1.470	0
39	80	25	280	0
42	100	125	520	100
44	60	12,5	660	20
46	170	50	390	50

alterava as propriedades do *T. cruzi*. Estes autores verificaram nos seus experimentos que havia modificações na parasitemia e no tropismo tissular em camundongos inoculados com a cepa Y mantida ininterruptamente durante dez anos "in vitro".

O trabalho de Resemberg & col. (1969), trabalhando com a cepa Peru, mantida durante cinco anos em meio acelular, mostrou que não havia modificação na infectividade e virulência, quando esta era inoculada em camundongos CFI.

Bice & Zeledon (1970), trabalhando com cinco cepas de *T. cruzi*

isoladas de triatomíneos, humanos e marsupiais, concluíram que a infectividade e virulência foram proporcionais à permanência de *T. cruzi* "in vitro".

No presente trabalho foi estudado a infectividade de quatro cepas de *T. cruzi* isoladas de animais silvestres, mantidas "in vitro" no meio LIT, para *C. callosus* e camundongos albinos.

Alguns aspectos de comportamento "in vivo" destas cepas foram estudadas por Mello & col. (1979). Estes autores, utilizando inóculos de formas metacíclicas obtidas de fezes de triatomíneos para infectar

TABELA 4

Evolução da parasitemia em quatro camundongos albinos infectados experimentalmente com formas tripomastigotas de duas cepas silvestres de *T. cruzi*, obtidas em meio Lit.

No. de dias após a inoculação	Cepas de <i>T. cruzi</i> (No. de Parasitas/5mm ³)			
	R52 (1)	R64 (2)	R64 (3)	R64 (4)
8	0	0	0	0
11	0	0	0	0
13	0	0	0	0
15	0	0	0	200
18	50	150	450	50
20	50	350	30.550	200
22	200	1.500	962.000	350
24	650	10.550	1.123.500	1.650
27	600	10.750	1.813.000	250
29	1.250	425	772.375	350
32	250	30.800	15.400	700
35	150	4.850	5.000	250
37	100	1.450	5.600	300
39	50	1.350	1.800	550
42	0	1.100	1.600	150
44	0	250	800	0
46	50	150	1.500	50

C. callosus e camundongos, verificaram prepatências variando entre 9, 2 -10, 2 dias. Nos experimentos aqui realizados a prepatência nestes mesmos animais foi inferior, isto é, 6, 0 a 8, 6 dias.

A letalidade em *C. callosus* encontrada no trabalho de Mello & col. (1979) foi de 7,7%, enquanto neste trabalho foi zero. Estes animais, inoculados com a cepa R52, apresentaram aumento acentuado da parasitemia com picos entre 25.501 - 37.270/5mm³ de tripomastigotas circulantes, resultados, portanto, superiores aos dos autores

acima (picos em torno de 7.000 tripomastigotas).

A cepa R64 também mostrou ascensão na parasitemia, com picos entre 2.660 - 3.250. Esta cepa, no trabalho de Mello & col. (1979), apresentou picos de 1.225 tripomastigotas. Nas outras duas cepas, os resultados encontrados foram similares àqueles dos autores já citados.

Quanto ao período prepatente os resultados encontrados foram semelhantes aos de Mello & col. (1979). A parasitemia, no entanto, embora irregular para alguns animais, foi acentuadamente mais alta

nos experimentos aqui conduzidos.

Frente a estes resultados podemos concluir que não houve perda da capacidade infectante das cepas mantidas no meio LIT, uma vez que tanto os *C. callosus* como os camundongos deram resultados positivos. A redução do período prepatente e o aumento da parasitemia podem ser explicados pelo número elevado de tripomastigotas inoculados. Embora não tenham sido realizados estudos histopatológicos, pode-se concluir, pela ausência de letalidade, que as cepas aqui estudadas, mantidas "in vitro", foram menos agressivas do que quando se utilizavam inóculos com formas metacíclicas obtidas em triatomíneos (Mello & col. 1979).

SUMMARY

The infectivity of four wild strains of *T. cruzi* kept in LIT medium is reported in the current paper. The experimental animals were *Calomys callosus* (Rodentia) and albino mice. Results have shown that the infectivity was unchanged although the prepatent period decreased while the parasitemia increased.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 BARRETTO, M.P. & FERRIOLLI FILHO, F. - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* VIII: Observações sobre a infecção experimental de gambás por tripanosomos isolados destes animais. *Rev. Bras. Biol.*, 25:35, 1965.

2 BICE, D.E. & ZELEDON, R. - Comparison of infectivity of strains of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) *J. Parasit.* 56: 663, 1970.

3 CARVALHEIRO, J.R. & COLLARES, E. - Estudos sobre o comportamento em camundongos de uma amostra altamente virulenta de *Trypanosoma cruzi* (amostra Y), após passagens em triatomíneos, ratos e culturas. *Rev. Bras. Biol.*, 25: 169, 1965.

4 DEANE, M.P. BRITO, T. & DEANE, L. - Pathogenicity to mice of some strains of *Trypanosoma cruzi* isolated from wild animals of Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 5: 225, 1963.

5 GOBLE, F.C. - Studies on experimental Chagas disease in mice in relation to chemotherapeutic testing. 1951 *J. Parasit.*, 37:408, 1951.

6 MELLO, D.A., VALIN, E. & TEIXEIRA, M.L. - Alguns aspectos do comportamento de cepas silvestres de *Trypanosoma cruzi* em camundongos e *Calomys callosus* (Rodentia). *Rev. Saúde Públ. São Paulo*, 13:314, 1979.

7 MELLO, D.A. BORGES, M.M. & CHIARINI, L.H. Crescimento e diferenciação "in vitro" de cepas silvestres de *Trypanosoma cruzi*, isoladas de animais silvestres (em publicação), 1980.

8 NORMAN, L., BROOKE, M.M., ALLAIN, D.S. & GORMAN, G.W. - Morphology and virulence of *Trypanosoma cruzi*-like hemoflagellates isolated from wild mammals in Georgia and Florida. *J. Parasitol.* 54:457, 1959.

9 PACKHAMAN, A. & WEETS, Jr., H. H. - Infectivity of *Trypanosoma cruzi* after cultivation for 13 years "in vitro" without ani-

mal passage. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 64:169, 1947.

10 RIBEIRO, R.D. & BARRETTO, M.P. - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LXI. Aspectos do comportamento de amostras diversas de *T. cruzi* em cultura. *Rev. Bras. Biol.* 35:301, 1975.

11 RESENBERG, M.E., MARSDEN, P. & PETTITT, L. E. - The in-

fectivity of cultural forms of a Peru strain of *Trypanosoma cruzi* for CFI mice and bugs. *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, 63:207, 1969.

12 SILVA, L.H.P. & NUSSENZWEIG, V. - Sobre uma cepa altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clin. et Biol.*, 20: 191, 1953.