

ESTUDOS SÓBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*. XLIV — INFECÇÃO NATURAL DA RA- PÔSA-DO-CAMPO, *DUSICYON (LYCALOPEX) VETULUS* (LUND, 1842) PELO *T. CRUZI*

Rosa Domingues Ribeiro ALBUQUERQUE e Mauro Pereira BARRETTO (1)

RESUMO

Amostra de *Trypanosoma cruzi* foi isolada, através do xenodiagnóstico e subsequente inoculação em camundongos brancos jovens, de um exemplar da rapôsa, *Dusicyon (Lycalopex) vetulus* (Lund, 1842), capturado no Município de Franca, SP. Esta amostra mostrou-se patogênica para camundongos jovens, infetando 100% dos animais inoculados por via peritoneal quer com fezes de triatomíneos, quer com sangue de doadores parasitados. As formas sanguíneas, nos camundongos, medem 24,91 μ de comprimento total médio e têm índice nuclear médio de 1,27. Nos animais infetados e mortos durante a fase aguda da infecção observaram-se ninhos de leishmânias sobretudo no coração. A infecção dos camundongos foi grave, observando-se parasitemias elevadas e taxa de letalidade de 76,7%. A amostra da rapôsa confere, aos camundongos que sobrevivem, alto grau de resistência contra reinfecção pela amostra Y de origem humana. Cultivava-se bem em meios difásicos e monofásicos (NNN e Warren) e infeta regularmente triatomíneos, dando os seguintes índices de infecção: *P. megistus* — 96,7%; *T. infestans* — 100,0%, *T. vitticeps* — 80,0% e *R. neglectus* — 82,9%.

INTRODUÇÃO

Em trabalho recente ALBUQUERQUE & BARRETTO¹ discutiram o problema da infecção natural de carnívoros silvestres da família *Canidae* pelo *T. cruzi* e concluíram que as seguintes espécies já foram encontradas parasitadas: *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1824), *Cerdocyon (?) entrierianus* (Burmeister 1861), *Dusicyon (Dusicyon culpaeus culpaeus)* (Molina, 1782), *Dusicyon (Dusicyon culpaeus andinus)* (Thomas, 1914), *Dusicyon (Dusicyon) griseus griseus* (Gray, 1837), *Dusicyon (Dusicyon) griseus gracilis* (Burmeister, 1861) e *Urocyon cinereo-argenteus (?) floridanus Rhoads*, 1895.

No curso de nossas investigações sobre reservatórios silvestres do *T. cruzi* pudemos examinar um exemplar de rapôsa-do-campo, *Dusicyon (Lycalopex) vetulus* (Lund, 1842), capturado em Franca, SP. Dêsse exemplar conseguimos, através do xenodiagnóstico, isolar uma amostra de *T. cruzi*, cujo estudo constituiu o objeto do presente trabalho.

A rapôsa-do-campo, também chamada jaguarapitanga, é um pequeno cãida cujo corpo (cabeça e tronco) mede cerca de 60 cm de comprimento e cuja cauda mede cerca de 30 cm. É um animal de porte elegante, assemelhando-se à rapôsa européia.

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

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

A coloração geral é cinzento-amarelada havendo, porém, exemplares mais melanóticos. A cabeça é cinzento-esbranquiçada; as orelhas, de tamanho médio, tem pêlos amarelo-ferrugíneos, exceto na ponta que é revestida de pêlos enegrecidos. O focinho, relativamente curto, é esbranquiçado, com a ponta negra. O mento e a garganta são esbranquiçados. O dorso é revestido de pêlos escuros mais longos, formando uma espécie de faixa que vai da cabeça à cauda; as partes laterais e ventrais são cinzento-amareladas. As pernas são amarelo-ferrugíneas. A cauda tem longos pêlos amarelados exceto na face dorsal e na extremidade distal onde os pêlos são escuros.

Embora possa ser encontrada em bosques ou matas de pequena densidade, a rapôsa vive de preferência nos campos e tem uma grande área de dispersão no Brasil, onde se distribui desde o Ceará até o Paraná, passando por Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e São Paulo. Esconde-se durante o dia, saindo à noite para caçar. Alimenta-se de pequenos vertebrados especialmente roedores e aves, mas quando está com fome come também insetos. Muito tímida e arisca, não vacila, porém, em defender-se furiosamente quando acuada ou quando a prole é molestada.

MATERIAL E MÉTODOS

O isolamento da amostra ora em estudos foi feito mediante o xenodiagnóstico e subsequente inoculação de tripanosomas metacíclicos em camundongos brancos com 20 dias de idade.

Os métodos usados para inoculação, estudo morfológico das formas sanguíneas e tissulares, seguimento de parasitemia, verificação da suscetibilidade de triatomíneos e pesquisa da existência de imunidade cruzada foram os descritos por ALBUQUERQUE & BARRETTO¹ e, por isso, deixamos de entrar em pormenores a respeito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia das formas sanguíneas — No sangue dos camundongos os tripanosomas se apresentam com aspecto algo variável, mas com os caracteres fundamentais do *T. cruzi*: cinetoplasto grande arredondado e subterminal, núcleo situado no terço médio do corpo, membrana ondulante delicada e flagelo livre relativamente curto (Figs. 1-32).

Em esfregaços de sangue colhidos de diversos camundongos em diferentes fases da infecção, há nítida predominância de formas em C com comprimento e largura médios. Raramente são encontradas formas largas e grandes, mas nunca tão grande quanto as observadas por FUNAYAMA & BARRETTO⁵ nas infecções pela amostra isolada do *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812). Por outro lado, são vistas algumas formas delgadas e longas mas nunca tão delgadas como as observadas por FUNAYAMA & BARRETTO^{3,4} nas infecções pelas amostras isoladas dos morcegos, *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810) e *Tadarida laticaudata* (Geoffroy, 1805).

Nas Figs. 1-30 apresentamos desenhos de tripanosomas sanguíneos observados ao acaso, desenhos êsses obtidos por decalque de imagens projetadas com um microprojektor Leitz. Os resultados da micrometria feita com curvímeter sobre êsses desenhos, são sumariados no Quadro I.

As medidas médias apresentadas nesse quadro caem dentro dos limites de variação observados por FERRIOLLI & col.² em amostras isoladas de casos humanos da doença de Chagas ou de outros animais silvestres com infecção natural pelo *T. cruzi*.

Morfologia das formas tissulares — O exame de cortes de tecidos de camundongos infetados e mortos durante a fase aguda da infecção revelou a presença de alguns ninhos de leishmânias sobretudo na musculatura cardíaca (Fig. 3). As leishmânias têm a estrutura típica e as dimensões das do *T. cruzi*.

Infecção de animais de laboratório — Com fezes de triatomíneos usados para o xenodiagnóstico da rapôsa, inoculamos três camundongos com 20 dias de idade; todos êles adquiriram a infecção, apresentando tripanosomas no sangue periférico no 14.º dia após a inoculação. A partir dêsses animais a amostra foi mantida em camundongos mediante inoculação intraperitoneal de sangue colhido de doadores durante a fase aguda da infecção, sendo os repiques feitos com 14 dias de intervalo. Todos os animais inoculados adquiriram a infecção.

Nos repiques de números 6,7 e 9 inoculamos lotes maiores de animais de experiência a fim de estudar o comportamento da in-



Figs. 1-30 — Desenhos de tripanossomos sanguicolas de camundongos infetados com *T. cruzi* isolado do *Dusicyon vetulus*

QUADRO I

Resultados da micrometria realizada sobre 30 tripanossomos do sangue periférico de camundongos infetados experimentalmente com a amostra do *Dusicyon vetulus*

Especificação	Medidas em micra		
	Mínima	Máxima	Média
Comprimento do flagelo	3,2	10,0	7,86
Distância NA	4,0	9,5	7,64
Distância PN	7,5	12,0	9,74
Comprimento do corpo	11,5	20,8	17,39
Comprimento total	17,5	29,6	24,91
Largura do corpo	1,5	5,0	2,75
Diâmetro do cinetoplasto	0,5	1,2	0,90
Relação PN/NA	0,93	1,87	1,27

fecção. No Quadro II resumimos os resultados obtidos em 30 camundongos.

O exame desse quadro mostra que o período prepatente variou entre três e seis dias, com média de 4,03 dias.

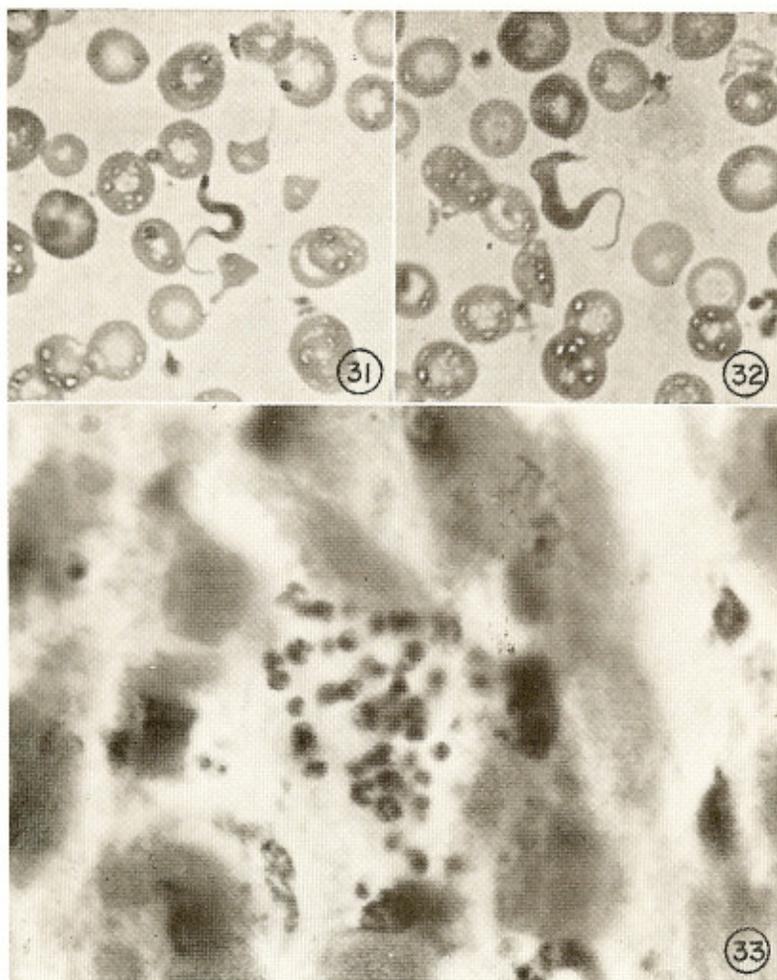
Os níveis parasitêmicos, embora variáveis mesmo de um animal para outro de um dado lote, foram, em geral, elevados, ultrapassando a cifra de 5.000 parasitas por mm³ de sangue em 73,3% dos camundongos inoculados. A parasitemia máxima ocorreu entre o 13.º e o 29.º dias após a inoculação.

A duração da fase aguda, em sete animais que sobreviveram variou entre 27 e 40 dias. A taxa de letalidade foi alta, 76,7% dos camundongos vindo a morrer entre o 19.º e o 30.º dia após a inoculação. Não houve relação estreita entre o grau de parasitemia e a

QUADRO II

Caracteres gerais da infecção de camundongos pela amostra de tripanossomo do *Dusicyon vetulus*

N.º do animal	Período prepatente (dias)	Parasitemia máxima		Duração da Fase aguda (dias)	Observações
		N.º/mm ³	Dias após inoculação		
CVI-1	4	6391	22º	27	Sobreviveu
CVI-2	4	6370	20º	—	Morreu no 21.º dias
CVI-3	4	14980	22º	—	Morreu no 24.º dia
CVI-4	4	15260	27º	32	Sobreviveu
CVI-5	6	15050	25º	—	Morreu no 26.º dia
CVI-6	4	14840	20º	29	Sobreviveu
CVI-7	4	14686	20º	—	Morreu no 26.º dia
CVI-8	4	8470	18º	—	Morreu no 19.º dia
CVI-9	4	11130	18º	—	Morreu no 19.º dia
CVI-10	6	9380	22º	—	Morreu no 23.º dia
CVII-1	4	6986	20º	—	Morreu no 22.º dia
CVII-2	4	9445	20º	—	Morreu no 22.º dia
CVII-3	5	7756	27º	29	Sobreviveu
CVII-4	6	19950	27º	—	Morreu no 28.º dia
CVII-5	4	22120	17º	—	Morreu no 22.º dia
CVII-6	5	14840	20º	—	Morreu no 26.º dia
CVII-7	5	6195	15º	—	Morreu no 20.º dia
CVII-8	4	1540	29º	32	Sobreviveu
CVII-9	3	11130	13º	—	Morreu no 22.º dia
CVII-10	3	8470	20º	—	Morreu no 22.º dia
CIX-1	3	4165	20º	—	Morreu no 21.º dia
CIX-2	3	7735	22º	—	Morreu no 24.º dia
CIX-3	5	3780	29º	—	Morreu no 31.º dia
CIX-4	3	3297	13º	—	Morreu no 24.º dia
CIX-5	3	1715	29º	40	Sobreviveu
CIX-6	3	2695	29º	—	Morreu no 31.º dia
CIX-7	3	10612	20º	—	Morreu no 21.º dia
CIX-8	3	3549	22º	—	Morreu no 24.º dia
CIX-9	3	1190	29º	38	Sobreviveu
CIX-10	3	7560	20º	—	Morreu no 21.º dia



Figs. 31-32 — Microfotografias de tripanossomos sanguícolas de camundongos infetados com *T. cruzi* isolado do *Dusicyon vetulus* (1200 X)
Fig. 33 — Microfotografia de leishmânias em fibra cardíaca de camundongos infetado com *T. cruzi* isolado do *Dusicyon vetulus* (1200 X)

sobrevivência. Assim, se três camundongos que sobreviveram, CVII-8, CIX-5 e CIX-9, tiveram parasitemias máximas inferiores a 2.000 flagelados por mm^3 de sangue, os demais que resistiram à infecção tiveram parasitemias elevadas, atingindo até 14.840 parasitas por mm^3 de sangue no ápice da curva (animal CVI-6). Em geral a morte sobreveio quando a parasitemia se achava em fase ascensional e a data da morte coincidiu com a parasitemia máxima. Mas em alguns casos a morte ocorreu quando a parasitemia já declinava.

Os tipos de curvas parasitêmicas variaram muito. De modo geral a parasitemia, após se tornar aparente, manteve-se em níveis relativamente baixos durante cerca de duas semanas, para depois subir; daí por diante o comportamento da curva variou muito. No Gráfico I apresentamos alguns exemplos de curvas observadas.

Em suma, o comportamento da infecção pela amostra da rapôsa, ora em estudo, aproxima-se do da amostra isolada do *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1824) e estudada por ALBUQUERQUE & BARRETTO¹. Mas a infec-

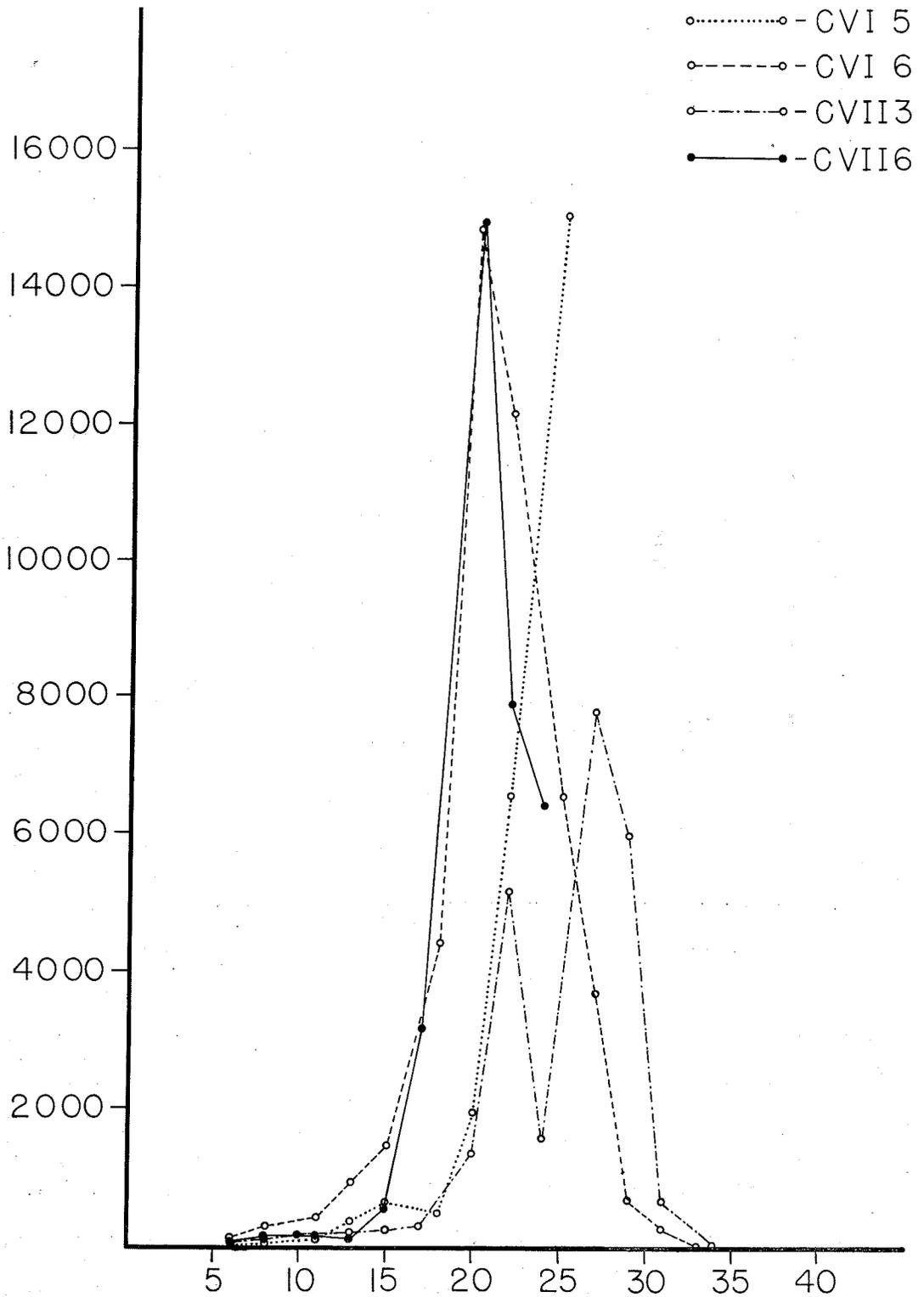


Gráfico I — Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos infetados com *T. cruzi* isolado do *Dusicyon vetulus*

ção se mostrou algo mais benigna e com mortalidade menor e menos precoce.

Infetividade para triatomíneos — Para verificar a suscetibilidade de triatomíneos à amostra da rapôsa, usamos um total de 119 ninfas em quinto estágio, pertencentes às espécies seguintes: *P. megistus*, *T. infestans*, *T. vitticeps* e *P. neglectus*. Esses triatomíneos foram alimentados em camundongos na fase aguda da infecção. Os resultados dos exames, praticados no conteúdo intestinal obtido por dissecação, são sumariados no Quadro III.

QUADRO III

Suscetibilidade de quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo isolada do *Dusicyon vetulus*

Espécies	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		N.º	%
<i>P. megistus</i>	30	29	96,7
<i>T. infestans</i>	30	30	100,0
<i>T. vitticeps</i>	30	24	80,0
<i>R. neglectus</i>	29	24	82,9

Tais resultados indicam maior suscetibilidade do *T. infestans*, se bem que em todos os triatomíneos usados o tripanossomo da rapôsa se desenvolvesse bem.

Culturas — Semeando algumas gotas de sangue de camundongos com infecção aguda em meios NNN e de Warren, obtivemos bom crescimento inicial. A amostra foi, depois, facilmente mantida nesses meios mediante repiques quinzenais.

Imunidade cruzada — Procurando verificar se camundongos previamente infetados com a amostra de tripanossomo ora em estudo desenvolvem resistência contra posterior infecção por amostra de *T. cruzi* virulenta, reinoculamos sete camundongos que passaram para a fase crônica, com a amostra Y, usando como inóculo 0,2 ml de sangue citratado, obtido por punção cardíaca de animais e com o mesmo inóculo, sete camundongos limpos, com idade e peso equivalente aos do lote anterior.

Cinco dias após a inoculação todos os animais do lote testemunha já apresentavam parasitemia elevada, vindo a morrer entre o 15.º e o 20.º dia após a inoculação. Dos animais com infecção prévia pelo tripanossomo da rapôsa, apenas um teve uma parasitemia discreta; os seis restantes continuaram negativos em repetidos exames a fresco.

SUMMARY

Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi. XLIV — Natural infection of the fox, Dusicyon (Lycalopex) vetulus (Lund, 1848) by T. cruzi

A strain of *Trypanosoma cruzi* was isolated, through xenodiagnosis and subsequent inoculation into mice, from a specimen of a fox, *Dusicyon (Lycalopex) vetulus* (Lund, 1842) trapped at Franca, State of São Paulo, Brazil. This strain is pathogenic for baby white mice inoculated with metacyclic or blood trypanosomes, giving an infection rate of one hundred per cent. Blood trypanosomes in experimentally infected mice have a mean total length of 24.91 μ and a mean nuclear index of 1.27. Leishmanial forms are present in tissue section, specially in the heart of mice killed during the acute phase of infection. The infection of mice is severe, with short prepatent period, high parasitemia and mortality rate of 76.7 per cent. Cross immunity tests show that mice which recovered from an infection by the fox trypanosome have a high resistance against reinfection with the Y strain of *T. cruzi*. The fox strain is easily cultivated in diphasic and monophasic media. It infects regularly triatomines tested, giving the following infection rates: *P. megistus* — 96.7 per cent, *T. infestans* — 100.0 per cent, *T. vitticeps* — 80.0 per cent, and *R. neglectus* — 82.9 per cent.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALBUQUERQUE, R. D. R. — Estudos sobre reservatórios e vectores 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.
- FERRIOLLI FILHO, F.; BARRETTO, M. P. & CARVALHEIRO, J. R. — Estudos sobre re-

ALBUQUERQUE, R. D. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XLIV — Infecção natural da rapôsa-do-campo, *Dusicyon (Lycalopex) vetulus* (LUND, 1842) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:375-382, 1970.

servatórios e vetores silvestres do *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.

3. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVIII — Infecção natural do morcêgo, *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* (Em publicação).

4. FUNAYAMA, G. K. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silves-

tres do *Trypanosoma cruzi*. XLI — Infecção natural do morcêgo, *Tadarida laticaudata* (Geoffroy, 1805) pelo *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* (Em publicação).

5. 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.

Recebido para publicação em 2/6/1970.