

COMPORTAMENTO DE FORMAS SANGÜÍCOLAS DO *TRYPANOSOMA CRUZI* OBTIDAS DE CAMUNDONDOS UTILIZADOS COMO FILTROS BIOLÓGICOS, EM CULTURA E EM TRIATOMÍNEO.

Rosa Domingues Ribeiro*
Francisco Miguel Belda Neto**
José Clóvis do Prado Junior*
Sérgio de Albuquerque***

RIBEIRO, R.D. et al. Comportamento de formas sangüícolas do *Trypanosoma cruzi* obtidas de camundongos utilizados como filtros biológicos. em cultura e em triatomíneo. Rev. Saúde públ., S. Paulo. 20:129-32. 1986

RESUMO: Camundongos normais, utilizados como filtros biológicos, foram inoculados endovenosamente, com tripomastigotas sangüícolas da derivada RCL da cepa RC do *T. cruzi*. Decorridas 48 horas, os animais foram submetidos ao xenodiagnóstico e à punção cardíaca para sementeira do sangue em meio de Warren. No estômago dos triatomíneos e em cultura a 28°C, os tripomastigotas diferenciaram-se em formas arredondadas (esferomastigotas e/ou amastigotas). Esse comportamento das formas sangüícolas largas tem sido observado com freqüência e nos leva a inferir que a biologia do *T. cruzi* não estaria apenas relacionada com a cepa, mas, eventualmente, com populações do parasita.

UNITERMOS: *Trypanosoma cruzi*. Camundongos, infecção experimental. Triatomíneos, parasitologia. Macrófagos, parasitologia. Relações hospedeiro-parasita.

INTRODUÇÃO

A relação parasito-hospedeiro na doença de Chagas é assunto amplamente investigado e revela grande dificuldade quando se tenta correlacionar o polimorfismo do *T. cruzi* com o seu comportamento biológico, tanto no homem como em animais de experimentação (Ferriolli e col.⁹, 1968; Andrade e col.¹, 1970; Coura e col.⁷, 1966 e Belda Neto², 1974).

Entretanto, apesar da complexidade do assunto, existem algumas evidências de que a morfologia esteja relacionada a alguns aspectos do parasita, como por exemplo, à sua fisiologia (Pereira da Silva¹¹, 1959; Brener e Chiari⁶, 1963 e Brener³, 1965).

O estudo do comportamento das cepas do *T. cruzi*, em animais, tem mostrado diferenças quando se utilizam formas sangüícolas finas ou quando a amostra é constituída de elementos largos.

Segundo Brener⁴ (1969) as formas delgadas são capazes de penetrar mais rapidamente nas células do vertebrado do que as formas largas. A ação patogênica do parasita para o hospedeiro também é muito variável, e para Andrade e col.¹ (1970) isso se deve a vários fatores, dentre eles as características morfológicas do agente.

Recentemente, Melo e Brener citados por Brener⁵ (1979) estudaram a distribuição dos parasitas nos tecidos de animais inoculados com diferentes cepas, sob o ponto de vista quantitativo, e descreveram duas cepas "polares", com nítida diferença preferencial do *T. cruzi* relacionada com a sua morfologia.

Ribeiro e col.¹³ (1982) descreveram a possibilidade de fracionamento de uma cepa do *T. cruzi*, em duas subamostras, com distintas características morfológi-

* Do Departamento de Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo — Av. do Café, s/n.º — 14100 — Ribeirão Preto, SP - Brasil.

** Do Departamento de Ciências Bio-Clinicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho — R. Expedicionários do Brasil. 1641 — 14800 — Araraquara, SP - Brasil.

*** Acadêmico da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

cas, através de centrifugação diferencial descrita por Deane e col.⁸ (1976) e verificaram que a constituição da população de *T. cruzi* pode influir sobre o curso da infecção.

Pereira da Silva¹¹ (1959) sugeriu que apenas as formas largas do parasita teriam capacidade para evoluir no hospedeiro invertebrado, enquanto as finas sofreriam degeneração.

Howells e Chiari¹⁰ (1975) usaram camundongos normais como "filtros biológicos", isto é, como modelos experimentais que permitem reter as formas delgadas nos tecidos e, assim, obter populações praticamente puras de formas largas 24 a 48 horas após a inoculação endovenosa dos parasitas. Essas formas largas circulantes mostraram-se significativamente menos infectantes para camundongos que a população normal de tripomastigotas da mesma cepa, mas produziram altos índices de infecção em triatomíneos. Esses dados levaram os autores a afirmar que tais parasitas não são estágios em degeneração e, provavelmente, representam formas pré-adaptadas à evolução no vetor. Essa sugestão estaria de acordo com Pereira da Silva¹¹ (1959).

Tais resultados foram confirmados por Ribeiro e col.¹² (1981) quando trabalharam com subamostras do *T. cruzi* em modelos experimentais utilizados como filtros biológicos do parasita.

Ainda, Ribeiro e col.¹³ (1982) observaram que as transformações do parasita no tubo digestivo do inseto se apresentaram de maneira diferente, em relação a subamostra utilizada.

Diante de toda a complexidade biológica das cepas e das subamostras do *T. cruzi*, resolvemos investigar o comportamento, em meio de cultura artificial e em triatomíneos, de formas sangüícolas largas da subamostra RCL do *T. cruzi*, obtidas de camundongos utilizados como filtros biológicos do parasita.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 camundongos normais pesando em média 25g e a subamostra RCL obtida da cepa RC do *T. cruzi*.

A cepa RC foi isolada do cachorro do mato, *Cerdocyon thous azarae* e vem sendo mantida regularmente, através de repiques a cada 12 dias, em camundongos e de passagens cíclicas em camundongos e triatomíneos.

A derivada RCL foi obtida do fracionamento da cepa RC, por passagens em cultura e centrifugação diferencial, de acordo com a metodologia adotada por Ribeiro e col.¹³ (1982). Essa subamostra é constituída quase que exclusivamente de formas sangüícolas largas.

Os modelos experimentais, isto é, camundongos normais, utilizados como filtros biológicos, foram inoculados na veia da cauda com tripomastigotas sangüícolas RCL, com o propósito de retenção das formas delgadas nos tecidos.

Decorridas 48 horas, após a infecção, os camundongos foram submetidos ao xenodiagnóstico, sendo empregadas 30 ninfas em 5.^o estágio de *Triatoma infestans*. Em seguida, os camundongos foram submetidos à punção cardíaca e o sangue, colhido com assepsia, foi semeado em meio de Warren, sendo os tubos de cultura mantidos a 28°C.

Foram efetuados os exames do conteúdo estomacal dos triatomíneos e da cultura, após 72 horas do repasto infectante e da sementeira. O material foi examinado a fresco e em esfregaços corados pelo Giemsa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em cultura no meio de Warren, após 72 horas, a 28°C, os tripomastigotas sangüícolas RCL transformaram-se em formas arredondadas (esfero e/ou amastigotas).

No estômago dos triatomíneos, a partir de 72 horas do repasto infectante,

ocorreram modificações dos tripomastigotas em elementos arredondados (esfero e/ou amastigotas) e piriformes.

Preliminarmente, devemos considerar que os camundongos normais funcionaram como filtros biológicos, selecionando as formas largas do *T. cruzi*, a exemplo do observado por Howells e Chiari¹⁰ (1975) e por Ribeiro e col.¹² (1981).

O comportamento dos tripomastigotas largos em triatomíneos confirma as observações de Pereira da Silva¹¹ (1959) e de Ribeiro e col.¹³ (1982), ou seja, essas formas largas têm grande capacidade de

evolução no hospedeiro invertebrado e de transformação em esfero e/ou amastigotas.

Por outro lado, em cultura, o fenômeno se repete e tal fato tem sido observado com frequência conduzindo à discussão de que a biologia do *T. cruzi* não estaria apenas relacionada com a cepa, mas, eventualmente, com populações do parasita.

AGRADECIMENTOS

À Sra. Terezinha Aparecida Rissato e Garcia, pela sua participação técnica no desenvolvimento do trabalho.

RIBEIRO, R.D. et al. [Behaviour of the *T. cruzi* blood forms obtained from mice used as biological filters in culture and triatomine]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 20:129-32, 1986

ABSTRACT: The study of the behaviour of *T. cruzi* strains in animals as in human beings, runs into great difficulties when the attempt is made to relate the morphology of this parasite to its biological behaviour. The thin forms are able to penetrate vertebrate cells faster than the broad forms. So, faced with the biological complexity of the *T. cruzi* strains and substrains it was decided to investigate the behaviour of its blood forms obtained from normal mice as biological filters. These mice were endovenously inoculated with blood trypomastigotes from derivated RCL of the *T. cruzi* RC strain. Forty-eight hours later, the animals went through xenodiagnosis and heart punch in order to sow the blood in Warren's medium. The trypomastigotes became round (spheromastigotes and/or amastigotes) in the stomach of the triatomines and cultures at 28°C. The behaviour of the broad forms has been frequently observed and leads to the conclusion that the biology of the *T. cruzi* is not only related to the strain, but, sometimes, to the parasite population.

UNITERMS: *Trypanosoma cruzi*. Mice, experimental infections. Triatomidae, parasitology. Machophages, parasitology. Host-parasite relations.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, S.G.; CARVALHO, M.L. & FIGUEIRA, R.M. Caracterização morfológica e histopatológica de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. *Gaz. med. Bahia*, 70:32-42, 1970.
2. BELDA NETO, F.M. Estudo sobre a existência de correlação entre os dados biométricos e o grau de patogenicidade de amostras humanas do *Trypanosoma cruzi*, Chagas, 1909. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 8:27-36, 1974.
3. BRENER, Z. Comparative studies of different strains of *Trypanosoma cruzi*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 59: 19-26, 1965.
4. BRENER, Z. The behaviour of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood-stream of normal and immune mice. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 63: 215-20, 1969.
5. BRENER, Z. O parasito: relações hospedeiro-parasito. In: Brener, Z. & Andrade, Z. "*Trypanosoma cruzi*" e doença de Chagas. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1979. p. 1-41.
6. BRENER, Z. & CHIARI, E. Variações morfológicas observadas em diferentes amostras do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop.* S. Paulo, 5: 220-4, 1963.

RIBEIRO, R.D. et al. Comportamento de formas sanguícolas do *Trypanosoma cruzi* obtidas de camundongos utilizados como filtros biológicos, em cultura e em triatomíneo. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **20**: 129-32, 1986

7. COURA, J.R.; FERREIRA, L.F.; RUBENS, J.; PEREIRA, N.C. & SILVA, J.R. *Trypanosoma* do "complexo cruzi" em reservatório silvestre do Estado da Guanabara. Estudo de sua patogenicidade. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, **8**: 134-8, 1966.
8. DEANE, M.P.; KLOETZEL, J. & MILDNER, R. Polimorfism of *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, **18**: 145-6, 1976.
9. FERRIOLLI FILHO, F.; BARRETTO, M.P. & CARVALHEIRO, J.R. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV. Variação dos dados biométricos obtidos em amostras do *T. cruzi* isoladas de casos humanos de Doença de Chagas. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, **2**: 1-8, 1968.
10. HOWELLS, R.E. & CHIARI, E. Observations on two strains of *Trypanosoma cruzi* in laboratory mice. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **69**: 435-48, 1975.
11. PEREIRA DA SILVA, L.H. Observações sobre o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, **1**: 99-118, 1959.
12. RIBEIRO, R.D. & BELDA NETO, F.M. Modelos experimentais utilizados como filtros biológicos do *Trypanosoma cruzi*. [Apresentado a 8.^a Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambu, MG, 1981].
13. RIBEIRO, R.D.; FERRIOLLI FILHO, F. & BELDA NETO, F.M. Comportamento de subamostras do *Trypanosoma cruzi* em hospedeiros vertebrados e invertebrados. *Rev. bras. Biol.*, **42**: 51-4, 1982.

Recebido para publicação em 12/09/1985

Aprovado para publicação em 18/12/1985