

# Observações sôbre uma amostra brasileira do *Plasmodium circumflexum*

por

**W. Lobato Paraense**

(com 1 gráfico, 5 tabelas e 1 estampa em côres com 30 figuras)

## INTRODUÇÃO

Em março de 1949, examinando oito espécimes do *Gnorimopsar chopi chopi* (Vieillot, 1819) adquiridos no Mercado Municipal de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, encontramos dois entre êles infectados por hematozoários do gênero *Plasmodium*. Em uma das aves referidas o parasito pertencia ao grupo das chamadas pequenas espécies, parecendo tratar-se do *P. nucleophilum* Manwell, 1935. A outra ave apresentava o mesmo parasito associado ao *P. circumflexum* Kikuth, 1931. Esta última espécie foi isolada por inoculação de sangue em canário e sôbre ela foram feitas as observações que constam dêste trabalho.

O *P. circumflexum* foi descrito por KIKUTH (1931), que o isolou de um tordo (*Turdus pilaris*) na Alemanha. O nome *circumflexum* indica a tendência das formas adultas do parasito a rodearem o núcleo do eritrócito. Em seguida foi assinalado o referido plasmódio nos seguintes hospedadores: *Turdus illiacus*, na Itália (GIOVANNOLA, 1934); *Junco h. hyemalis*, *Melospiza m. melodia*, *Turdus m. migratorius* e *Zonotrichia albicollis*, nos Estados Unidos (MANWELL e HERMAN, 1935); *Agelaius p. phoeniceus* e *Molothrus a. ater*, nos Estados Unidos (HERMAN, 1937, 1938); *Turdus philomelos*, no Marrocos (GAUD e PETITOT, 1945); *Molothrus b. badius* e *M. b. bonariensis*, na Argentina (ROMAÑA, GIL e RACEDO, 1946); *Copsychus saularis musicus*, *Munia m. maja*, *M. punctulata*, *M. striata*, *Psittinus c. cyanurus* e *Columba livia*, na Península Maláia (OGAKI, 1949).

SCHWETZ descreveu, em 1930, um plasmódio da coruja *Syrnium nuchale*, cujas formas assexuadas são muito semelhantes às do *P. circumflexum*, denominando-o *P. fallax*. Não foi possível ao referido autor inocular canários, ficando assim indeterminada a provável identidade entre as duas espécies. Além disso, foi impraticável uma descrição de-

---

Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais.

finitiva do parasito, em vista da associação constante de um *Haemoproteus*, permanecendo SCHWETZ (1935) na incerteza de ter lidado com uma ou mais espécies de *Plasmodium* e sem reconhecer com segurança, entre os tipos de gametócitos encontrados, aquele que pertenceria ao *P. fallax*.

Também o *P. heroni*, descrito por BASU (1938) na *Ardeola grayi*, apresenta grande semelhança morfológica com o *P. circumflexum*, porém não é transmissível ao canário.

No presente trabalho é assinalada pela primeira vez a existência do *P. circumflexum* no Brasil e em novo hospedador, que tem vasta distribuição na sub-região Brasileira.

### O HOSPEDADOR VERTEBRADO

O *Gnorimopsar c. chopi* é uma ave da ordem Passeriformes, família Icteridae, cuja distribuição geográfica é a seguinte, segundo OLIVÉRIO PINTO (1944): sudeste extremo da Bolívia, Paraguai, norte da Argentina, Uruguai, e centro, sudeste e sul do Brasil. No Brasil tem sido assinalado nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás, e centro e sul da Bahia. A partir do norte da Bahia, na direção dos Estados do Nordeste, é substituído pelo *Gnorimopsar chopi sulcirostris* (Spix, 1824), que é a conhecida "graúna".

No Estado de Minas Gerais o *G. c. chopi* é denominado vulgarmente "pássaro prêto". Apesar da vasta extensão que se pode atribuir a esta denominação, em Minas ela significa precisamente aquela espécie ornitológica. O "pássaro prêto" vive em bandos, como é habitual entre os icterídeos. Durante o dia numerosos grupos devastam arrozais e milhais e à tardinha recolhem-se para dormir de preferência aos bambuzais ou às altas ramagens dos eucaliptos.

### O PARASITO

O estudo do parasito foi feito em preparados de sangue e de órgãos (cérebro, pulmão, fígado, baço e medula óssea) de 10 canários infectados experimentalmente, sendo usada a coloração de Giemsa após fixação a seco pelo álcool metílico.

### MORFOLOGIA E EVOLUÇÃO

*Trofozoíto.* O trofozoíto muito jovem reveste variadas formas: arredondada, ovalar, piriforme, triangular, etc. (figs. 1 e 2). Pouco depois de penetrar no glóbulo vermelho, começa a apresentar movimentos amebóides, assumindo múltiplos aspectos (fig. 6). Cerca de 6 horas após a penetração observam-se os primeiros indícios de pigmento, sob a forma de um pequeno grânulo de coloração castanha enegrecida, localizado quase sempre em um ponto da periferia do citoplasma do para-

sito. O pigmento, no entanto, é mais facilmente encontrado nos parasitos de 10 horas (fig. 7). Durante a fase de crescimento, o trofozoíto vacuoliza-se e alonga-se no sentido longitudinal do glóbulo, atingindo o comprimento máximo cêrca de 14 horas após a penetração, quando ainda se apresenta uninucleado (fig. 8). O núcleo nestas formas alongadas fica equidistante das duas extremidades do parasito ou, menos freqüentemente, desloca-se na direção de uma das extremidades. O grânulo de pigmento localiza-se quase sempre em uma das extremidades, que no caso de deslocamento do núcleo do parasito é a extremidade oposta ao núcleo. Aí também se acumulam os outros grânulos de pigmento que se vão formando, de modo que no fim do estágio uninucleado encontram-se reunidos cêrca de 5 a 7 grânulos no mesmo local (fig. 8).

*Formas binucleadas.* A primeira divisão do núcleo do parasito, que dá origem a dois grãos de cromatina, realiza-se cêrca de 18 horas após a penetração do merozoíto no glóbulo vermelho. O parasito aparece mais alongado e o pigmento continua a acumular-se em uma das extremidades, agora em grânulos mais numerosos, refringentes e de côr castanha escura com brilho metálico amarelado (fig. 9). A partir da fase binucleada, o parasito começa a revelar a circunflexão característica, a qual se acentua nos estádios ulteriores (fig. 10).

*Formas pré-segmentares.* Durante as 6 horas seguintes prossegue a divisão da cromatina, de modo que na 22.<sup>a</sup> hora predominam os esquizontes quase maduros, com 6 e mais núcleos, ou sejam, as formas pré-segmentares (figs. 11 e 12). Na maioria destas formas, principalmente nas mais adiantadas, é difícil, senão impossível, reconhecer exatamente o número de núcleos. A cromatina apresenta-se num amontoado confuso de grânulos (figs. 11 e 12) que se resolvem em merozoítos ao fim da divisão esquizogônica. Os grânulos de pigmento, cada vez mais abundantes, continuam a reunir-se em um ponto do parasito.

*Formas segmentares.* Transcorridas 24 horas após a sua penetração no glóbulo vermelho, o parasito atinge a última etapa do ciclo assexuado, produzindo merozoítos (figs. 13 a 18).

Na maioria dos casos (70.6% de 500 formas segmentares) os merozoítos dispõem-se em um dos lados do núcleo do glóbulo, defletindo-se na altura de um ou dos dois pólos nucleares, sem entretanto ultrapassá-los (figs. 13, 14, 17 e 18) ou ultrapassando apenas um dos pólos. Neste último caso os merozoítos fazem uma volta incompleta em tórno do núcleo do eritrócito.

Outras vêzes (29.4% de 500 segmentares) os merozoítos rodeiam inteiramente, como uma coroa, o núcleo do eritrócito (figs. 15 e 16).

Os grânulos de pigmento nas formas segmentares estão conglomerados em um bloco aparentemente compacto de côr castanha escura, localizado em um ponto do parasito. Esta situação localizada do pigmento foi assinalada em 172 de 200 formas segmentares (86%) e é tão característica a ponto de indicar infecção dupla quando aparecem duas massas pigmentares no mesmo glóbulo. É pouco freqüente o encontro de grãos pigmentares espalhados pelo corpo da forma segmentar; tal-

vez seja êste aspecto devido à desagregação do bloco pigmentar, artificialmente provocada durante a confecção do preparado.

O número de merozoítos existentes nas formas segmentares varia de 6 a 22, sendo a média  $13.5 \pm 2.44$  (desvio-padrão). Êstes valores foram obtidos pela contagem de 1 000 segmentares (tabelas 1 e 2). Neste cômputo só entraram segmentares que produziam infecção simples no glóbulo.

Foi feita uma contagem à parte, incluindo 200 segmentares encontradas em glóbulos com infecção dupla (tabela 3). Nestas segmentares o número de merozoítos variou de 6 a 16, sendo a média  $10.5 \pm 1.96$ .

A diferença de 3 merozoítos, observada entre as médias referidas, é altamente significativa\*. Dêste modo, podemos admitir que os esquizontes que evoluem juntamente com outras formas num mesmo eritrócito produzem menor número de merozoítos.

Como se vê nas tabelas 2 e 3, existem segmentares, relativamente poucas, nas quais é encontrado um número ímpar de merozoítos. É provável que em muitos casos a imparidade seja aparente e devida à ocultação de um merozoíto sob o bloco de pigmento. Entretanto, existem merozoítos em número ímpar em segmentares com pigmento disperso, não havendo dúvida quanto à exatidão das contagens nestes casos.

*Gametócitos.* Não encontramos elementos morfológicos que nos permitissem distinguir com certeza os gametócitos muito jovens dos esquizontes uninucleados. Como veremos depois, as formas esquizogônicas nesta amostra são altamente sincrônicas. Dêste modo, seria muito provável que algumas das formas uninucleadas encontradas extemporaneamente fôssem na realidade gametócitos jovens.

Os gametócitos de tamanho médio (figs. 19 e 20) podem ser distinguidos, em muitos casos, dos esquizontes uninucleados de tamanho correspondente, levando-se em conta os seguintes caracteres: o corpo do parasito tende a ser mais largo no gametócito, ocupando no glóbulo todo o espaço compreendido entre um lado do núcleo e a margem correspondente do citoplasma; o núcleo do parasito tende a ser central no gametócito, e no esquizonte tende a ser subcentral ou desloca-se para uma extremidade; o pigmento tende a ficar mais próximo do núcleo no gametócito, e a deslocar-se para uma das extremidades no esquizonte; nos estádios em que esquizonte e gametócito possuem núcleos de dimensões aproximadamente iguais, o pigmento é mais abundante no gametócito; o pigmento, com o crescimento do parasito, tende a dispersar-se no gametócito e a concentrar-se em um ponto no esquizonte.

Os gametócitos adultos são do tipo *halteridium* e apresentam os conhecidos caracteres morfológicos dos dois sexos.

Microgametócitos (figs. 21 e 22): Cromatina dispersa em grande parte da área citoplasmática, sob a forma de finos grânulos dispostos

\*  $\sigma_a = 0.19$

$t = 15.87$  (nível de 1% = 2.576 para graus de liberdade =  $\infty$ ).

em retículo, entre os quais destacam-se alguns grãos maiores e arredondados. Citoplasma finamente vacuolado, apresentando tonalidades variáveis desde o azul claro até quase incolor; nestas formas mal coradas aparecem apenas o pigmento e traços de cromatina (fig. 22). Pigmento em grãos irregularmente distribuídos.

Macrogametócitos (figs. 23 e 24): Cromatina tendendo a concentrar-se na parte média do parasito. Citoplasma finamente vacuolado, apresentando tonalidades azuladas. Pigmento em grãos com tendência a assumirem uma distribuição regular.

As extremidades dos gametócitos infletem-se nos pólos dos núcleos dos eritrócitos. Comumente observa-se o parasito envolvendo completamente o núcleo do glóbulo, como nas figs. 21 a 23.

TABELA 1

NÚMEROS EXTREMOS E MÉDIOS DE MEROZOÍTOS, VERIFICADOS EM 1000 FORMAS SEGMENTARES DO PLASMODIUM CIRCUMFLEXUM, DISTRIBUÍDAS POR 10 AMOSTRAS DE 100 SEGMENTARES

(Eritrócitos com infecção simples)

AMOSTRA NÚMERO	Dia do período patente	Horas	Números extremos	Número médio $\pm$	Desvio padrão
1.....	2.º	13	6 — 22	14,2	2,99
2.....	3.º	13	6 — 18	12,6	2,40
3.....	4.º	12	8 — 18	13,8	2,04
4.....	4.º	13	8 — 18	14,0	1,93
5.....	4.º	12	8 — 18	13,6	2,48
6.....	5.º	12	8 — 17	12,8	2,36
7.....	5.º	13	6 — 18	13,3	2,56
8.....	6.º	12	8 — 18	13,3	2,34
9.....	7.º	12	8 — 22	13,9	2,68
10.....	8.º	12	8 — 22	13,9	2,73
			6 — 22	13,5 $\pm$	2,44

#### DURAÇÃO DO CICLO ESQUIZOGÔNICO

Os estudos sôbre a duração do ciclo assexuado no *P. circumflexum* foram feitos por MANWELL e WOLFSON (1934) e por WOLFSON (1936).

No primeiro dos trabalhos referidos os autores utilizaram a amostra alemã, isolada por KIKUTH, não chegando a conclusões definitivas.

No segundo trabalho foram usadas a amostra alemã e principalmente uma amostra americana isolada por MANWELL, sendo obtidos

resultados equivalentes em ambas. O parasito revelou um sincronismo relativamente alto e uma acentuada periodicidade. A duração observada para o ciclo assexuado foi de 48 horas.

As nossas verificações sobre esse aspecto foram feitas em três canários inoculados por via intravenosa e deram resultados concordantes. No gráfico 1 estão representados os dados referentes a um dos canários observados.

TABELA 2

DISTRIBUIÇÃO DOS NÚMEROS DE MEROZOÍTOS EM 1000 FORMAS SEGMENTARES DO PLASMODIUM CIRCUMFLEXUM

(Eritrócitos com infecção simples)

NÚMERO DE MEROZOÍTOS	Frequência
6.....	7
7.....	0
8.....	37
9.....	8
10.....	79
11.....	15
12.....	264
13.....	17
14.....	240
15.....	20
16.....	259
17.....	13
18.....	31
19.....	0
20.....	7
21.....	0
22.....	3
MÉDIA 13,5 ± 2,44..	1 000

TABELA 3

DISTRIBUIÇÃO DOS NÚMEROS DE MEROZOÍTOS EM 200 FORMAS SEGMENTARES DO PLASMODIUM CIRCUMFLEXUM

(Eritrócitos com infecção dupla)

NÚMERO DE MEROZOÍTOS	Frequência
6.....	7
7.....	1
8.....	32
9.....	6
10.....	69
11.....	4
12.....	66
13.....	3
14.....	8
15.....	0
16.....	4
MÉDIA 10,5 ± 1,96..	200

Os preparados de sangue desta ave foram feitos de 4 em 4 horas, e algumas vezes com intervalos menores, do 2.<sup>o</sup> ao 8.<sup>o</sup> dia do período

patente. Em cada preparado foram contados 100 parasitos assexuados, agrupados de acôrdo com a seguinte distribuição: 1. estágio uninucleado, 2. estádios com 2 a 5 núcleos, e 3. estádios com 6 e mais núcleos. Foi também assinalado o número de gametócitos maduros encontrados durante a contagem das formas assexuadas.

*Estádio uninucleado.* Às 10 horas de cada dia as formas uninucleadas são difìcilmente encontradas. Às 14 horas elas constituem a quase totalidade das formas assexuadas existentes. Isto mostra que a maturação dos esquizontes completa-se entre as 10 e 14 horas de cada dia. No 4.º dia do período patente foram feitos preparados adicionais às 11, 12 e 13 horas, sendo verificado que a esporulação ocorre em tórno das 12 horas.

A observação do gráfico 1 mostra que o parasito mantém-se durante considerável período na fase uninucleada. Depois das 2 horas declina ràpidamente o número de formas uninucleadas, em consequência da divisão que então se inicia.

*Estádios com 2 a 5 núcleos.* A divisão nuclear inicia-se às 2 horas e progride ràpidamente, de modo que às 6 horas as formas com 2 a 5 núcleos alcançam a freqüência máxima. Depois estas formas tornam-se bruscamente raras, ficando praticamente ausentes das 14 horas até às 6 horas do dia seguinte.

*Estádios com 6 e mais núcleos.* Estas formas atingem a máxima freqüência às 10 horas ou, mais precisamente, em tórno das 11 horas, como se verifica no gráfico 1 (4.º dia do período patente). Logo em seguida inicia-se a esporulação, passando a dominar as formas uninucleadas.

*Gametócitos.* A curva dos gametócitos, traçada no gráfico 1, mostra um máximo diário em tórno das 10 horas, coincidindo com o predomínio das formas assexuadas de 6 e mais núcleos.

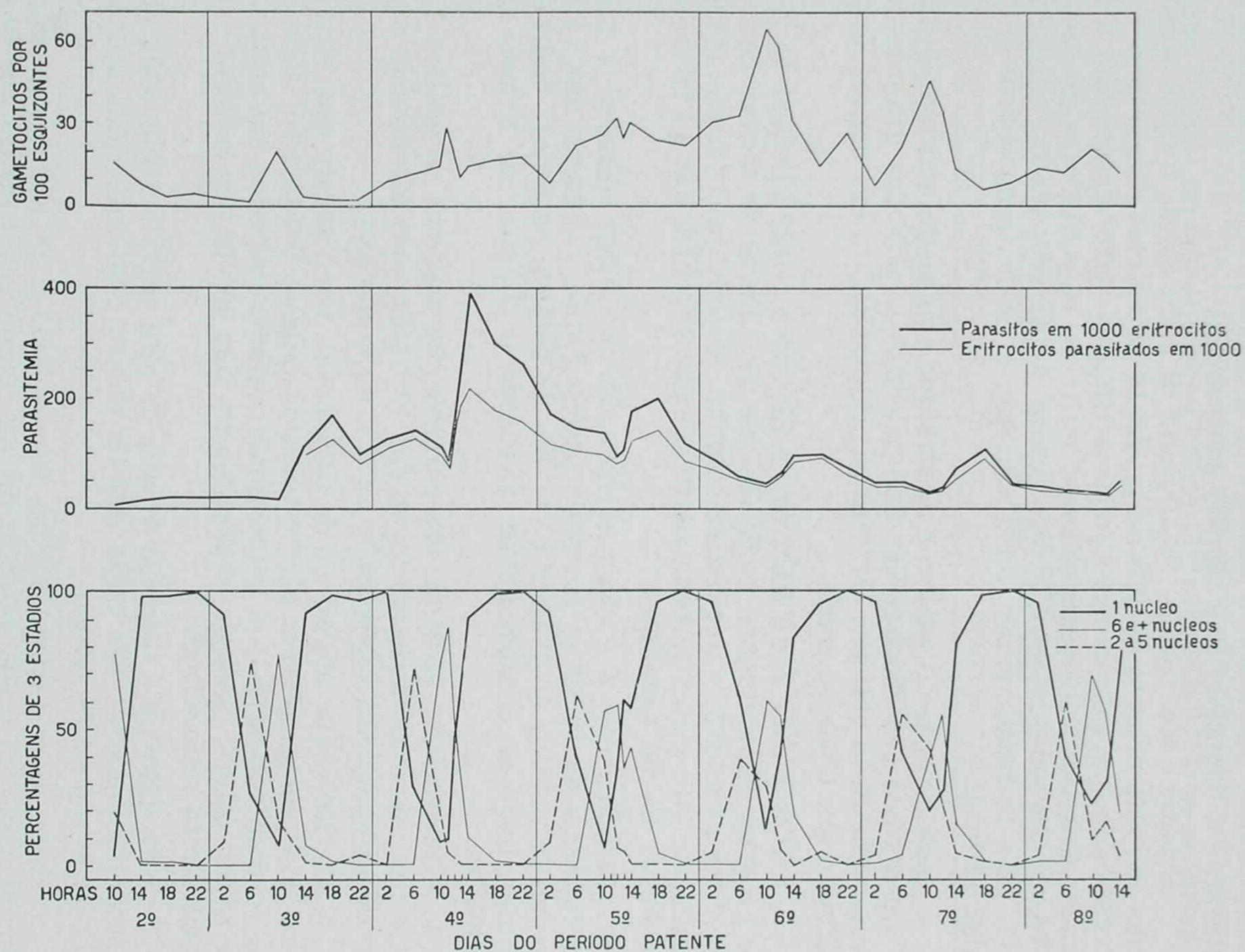
Os dados que acabamos de apresentar demonstram que esta amostra do *P. circumflexum* possui um sincronismo muito alto. Com efeito, a predominância de um determinado estágio evolutivo em certas horas é muito nítida, havendo momentos em que só um dos estádios considerados está representado.

Esta amostra é também dotada de alta periodicidade, visto como a predominância de um dado estágio ocorre com intervalos iguais, que no caso são de 24 horas.

Estas duas características, sincronismo e periodicidade, são mais acentuadas em nossa amostra do que naquelas estudadas por WOLFSON (1936).

Os dados referentes à periodicidade revelam que a duração do ciclo assexuado nesta amostra é de 24 horas. Deve-se notar que nas amostras estudadas por WOLFSON o referido ciclo dura 48 horas.

GRAFICO 1  
 NUMEROS DE PARASITOS ERITROCITARIOS VERIFICADOS DO 2º AO 8º DIA DO PERIODO PATENTE, EM CANARIO INFECTADO  
 COM PLASMODIUM CIRCUMFLEXUM



## ALGUNS ASPECTOS DA PARASITEMIA

Na parte média do gráfico 1 estão registrados os números de parasitos encontrados em 1 000 eritrócitos e os números de eritrócitos parasitados em 1 000. Foram assim obtidas duas curvas de parasitemia, que podem ser analisadas comparativamente.

Observa-se uma variação regular da parasitemia, com um pico diário que ocorre logo em seguida à esporulação, ou seja, no período de predomínio das formas uninucleadas. Este pico traduz a invasão de novos eritrócitos pelos merozoítos libertados no fim de cada período esquizogônico. Em seguida, a parasitemia vai gradualmente decrescendo, em consequência da destruição dos glóbulos parasitados. A curva dos parasitos em 1 000 eritrócitos apresenta uma inflexão mais acentuada que a curva dos eritrócitos parasitados em 1 000, significando que aquela destruição incide de preferência sobre os eritrócitos poliparasitados. Por este motivo, ambas as curvas tendem a se reunir no fim de cada período esquizogônico, separando-se novamente depois da segmentação.

Estas observações confirmam aquelas de HARTMAN (1927), feitas com o *P. praecox*, sobre o decréscimo gradual do número de parasitos através de cada ciclo esquizogônico, e as de HEGNER e HEWITT (1938) que, trabalhando com o *P. cathemerium*, explicaram esse decréscimo pela destruição preferencial dos glóbulos poliparasitados.

## OBSERVAÇÕES SOBRE A PRODUÇÃO DE GAMETÓCITOS

Os números obtidos pela contagem dos gametócitos estão registrados na parte superior do gráfico 1.

Verifica-se que há uma variação do número destes elementos durante as 24 horas do ciclo esquizogônico, ocorrendo um pico diário que coincide com o predomínio das formas assexuadas de 6 e mais núcleos. Esta periodicidade no aparecimento de gametócitos completamente desenvolvidos e a sua ocorrência juntamente com a segmentação das formas assexuadas são fatos observados por SHAH (1934) no *P. cathemerium*.

A nítida inflexão da curva dos gametócitos em seguida ao aparecimento do máximo diário de elementos completamente desenvolvidos indica a destruição dos eritrócitos parasitados por estes elementos, como no caso das formas assexuadas.

A curva dos gametócitos, como indicam as máximas diárias, ascendeu gradualmente até atingir o ponto mais alto dois dias depois de ter sido atingido o máximo da parasitemia. Este fato foi observado por HUFF (1927) no *P. cathemerium*.

## AÇÃO DO PARASITO SOBRE O NÚCLEO DA CÉLULA HOSPEDADORA

Segundo KIKUTH (1931), o *P. circumflexum* não desloca, mas circunda, o núcleo do eritrócito. Os autores que depois dele estudaram o

parasito repetem esta observação. GIOVANNOLA, que em 1934 dizia que o núcleo *nunca* é deslocado, em 1939 declara que o plasmódio *não tende* a deslocar o núcleo.

Na maioria dos casos os esquizontes adultos da nossa amostra não tendem a deslocar o núcleo do eritrócito. Entretanto, um grande número dessas formas e a maioria relativa dos gametócitos possuem nítida ação deslocadora.

TABELA 4

PERCENTAGENS DAS FORMAS SEGMENTARES E DOS GAMETÓCITOS DO PLASMODIUM CIRCUMFLEXUM (500 PARASITOS DE CADA ESTÁDIO), SEGUNDO O GRAU DE AÇÃO DESLOCADORA SÔBRE O NÚCLEO DO ERITRÓCITO

ESTÁDIOS	AÇÃO SÔBRE O NÚCLEO DO ERITRÓCITO		
	Nenhuma %	Deslocamento ligeiro %	Deslocamento acentuado %
Segmentares.....	58,4	15,0	26,6
Gametócitos.....	29,8	24,4	45,8

Na tabela 4 estão representados os resultados das contagens de parasitos (segmentares e gametócitos) segundo a sua ação sôbre o núcleo do eritrócito. Uma discriminação como esta não consta de nenhum dos trabalhos até agora publicados. Por isso não se pode afirmar se as expressões *não desloca* ou *nunca desloca* significam efetivamente a ausência total de núcleos afastados ou se antes referem-se à tendência preponderante ao não afastamento. É possível que a tendência ao deslocamento, apresentada por uma parte dos parasitos da nossa amostra, seja mais acentuada do que nas amostras estudadas por outros autores. Se assim fôr, êste fato representará apenas uma variação e não bastará para distinguir do *P. circumflexum* o parasito aqui estudado, nem para considerar a existência de infecção mista.

As formas segmentares que deslocam o núcleo do eritrócito podem pertencer a qualquer dos tipos referidos sob o título MORFOLOGIA E EVOLUÇÃO. As que menor ação têm sôbre o núcleo são aquelas que o circundam mais ou menos completamente. Algumas vêzes a maioria dos merozoítos acumula-se em um dos lados do núcleo, ficando o lado oposto ocupado por uma fileira simples de merozoítos; nestes casos observa-se ligeiro deslocamento.

Um afastamento mais acentuado, que pode levar o núcleo à periferia do glóbulo, é provocado pelas formas que ocupam um só lado e apenas infletem-se nos pólos nucleares sem, entretanto, ultrapassá-los (fig. 17). Em casos pouco freqüentes, estas formas imprimem ao núcleo do eritrócito uma rotação quase sempre de uns 45 graus em torno do eixo menor, de modo a tornar perpendiculares entre si os eixos maiores

do glóbulo e do respectivo núcleo. Nestes casos os merozoítos podem localizar-se nos dois lados do núcleo ou em um lado só. Na primeira alternativa o núcleo sofre apenas a rotação; na segunda é também recalçado contra um pólo do glóbulo, como se vê na fig. 18.

Os gametócitos maduros apresentam acentuada tendência a deslocar o núcleo do eritrócito. As formas que não mostram ação deslocadora são quase sempre aquelas que envolvem completamente o núcleo.

Não foi observada qualquer tendência do parasito a expulsar o núcleo da célula hospedadora. Muito raramente foram vistos parasitos em glóbulos vermelhos anucleados; entretanto, o número destes últimos não era maior do que o normalmente encontrado no sangue das aves.

#### TIPOS DE GLÓBULOS VERMELHOS PARASITADOS POR TROFOZOÍTOS

As observações sobre este aspecto foram feitas em dois canários, designados A e B, sendo obtidos os resultados constantes da tabela 5.

Do primeiro canário foram utilizados preparados de sangue corados pelo Giemsa, que é suficiente para revelar os eritroblastos basófilos e policromatófilos (figs. 3 a 7). Os preparados do segundo canário foram corados supravitalmente pelo azul cresil brilhante, e em seguida supercorados pelo Giemsa. As amostras de sangue de ambas as aves foram tomadas nas horas de predomínio dos trofozoítos.

Em todos os preparados foi estabelecida a percentagem de células jovens, baseada na contagem de 200 glóbulos vermelhos. Depois foram contados 100 glóbulos invadidos por trofozoítos (parasitos uninucleados e ainda não pigmentados), estabelecendo-se a proporção entre glóbulos parasitados jovens e maduros, e anotando-se o número de cada um dos tipos parasitados por 2, 3 e mais trofozoítos.

Os dados contidos na tabela 5 indicam que os parasitos da nossa amostra têm nítida preferência pelos glóbulos vermelhos jovens, preferência esta que KIKUTH (1931) refere não existir na amostra por ele isolada.

O número de glóbulos jovens parasitados por trofozoítos apresenta flutuações que aparentemente não estão relacionadas com as percentagens dos referidos glóbulos jovens. Parece haver alguma correlação entre o número de células jovens infetadas e o número de dias da infecção.

#### FORMAS EXOERITROCITÁRIAS

Dos 10 canários inoculados, apenas os dois primeiros apresentaram formas exoeritrocitárias nos órgãos examinados.

Na primeira dessas aves a infecção durou 15 dias (3 do período pré-patente + 12 do período patente), terminando pela morte. A contagem das formas exoeritrocitárias deu os seguintes resultados: em 100 campos microscópicos — 60 no pulmão, 2 no baço, 1 no fígado, 0 na medula óssea; em 100 capilares — 57 no cérebro.



Na segunda ave a infecção durou 17 dias (4 no período pré-patente + 13 do período patente), terminando também pela morte. Os tecidos estavam autolisados, ficando prejudicada a contagem dos parasitos. Entretanto, observamos que êles eram numerosos no pulmão e no cérebro.

As oito aves restantes morreram no período sub-patente da infecção, sendo negativas as pesquisas de formas exoeritrocitárias.

Estas formas acham-se representadas nas figs. 25 a 30, sendo semelhantes àquelas descritas nas outras espécies de plasmódios, menos *elongatum*. No *P. circumflexum* elas foram assinaladas pela primeira vez por MANWELL e GOLDSTEIN (1938, 1939).

### CONCLUSÕES

No presente trabalho é assinalada pela primeira vez a ocorrência do *P. circumflexum* Kikuth, 1931, no Brasil e em novo hospedador, *Gnorimopsar c. chopi* (Vieillot, 1819), ave da família *Icteridae*.

O parasito foi isolado por inoculação em canário, sendo estudada a sua evolução em 10 exemplares desta ave.

A segmentação ocorre diariamente em torno das 12 horas, com a produção de 6 a 22 merozoítos (média  $13.5 \pm 2.44$ ) nos eritócitos com infecção simples, e de 6 a 16 (média  $10.5 \pm 1.96$ ) nos eritrócitos com infecção dupla. Sendo a diferença entre os dois grupos altamente significante, pode-se admitir que os esquizontes que evoluem juntamente com outras formas num mesmo eritrócito produzem menor número de merozoítos.

A amostra estudada apresenta alto grau de sincronismo e de periodicidade; o ciclo assexuado tem a duração de 24 horas.

Foi observado um decréscimo gradual do número de parasitos através de cada período esquizogônico, decréscimo êste que é explicado pela destruição de glóbulos parasitados, preferencialmente daqueles com infecção múltipla.

A produção de gametócitos maduros é periódica e o seu máximo coincide com a segmentação das formas assexuadas. A curva dos gametócitos atinge o máximo cerca de dois dias após ter sido atingido o máximo da curva parasitêmica.

A maioria das formas segmentares não desloca o núcleo da célula hospedadora. Entretanto, um grande número dessas formas (26.6%) e a maioria relativa dos gametócitos (45.8%) possuem nítida ação deslocadora. O parasito não tem ação expelente sobre o núcleo do eritrócito.

Os merozoítos invadem de preferência os glóbulos vermelhos jovens.

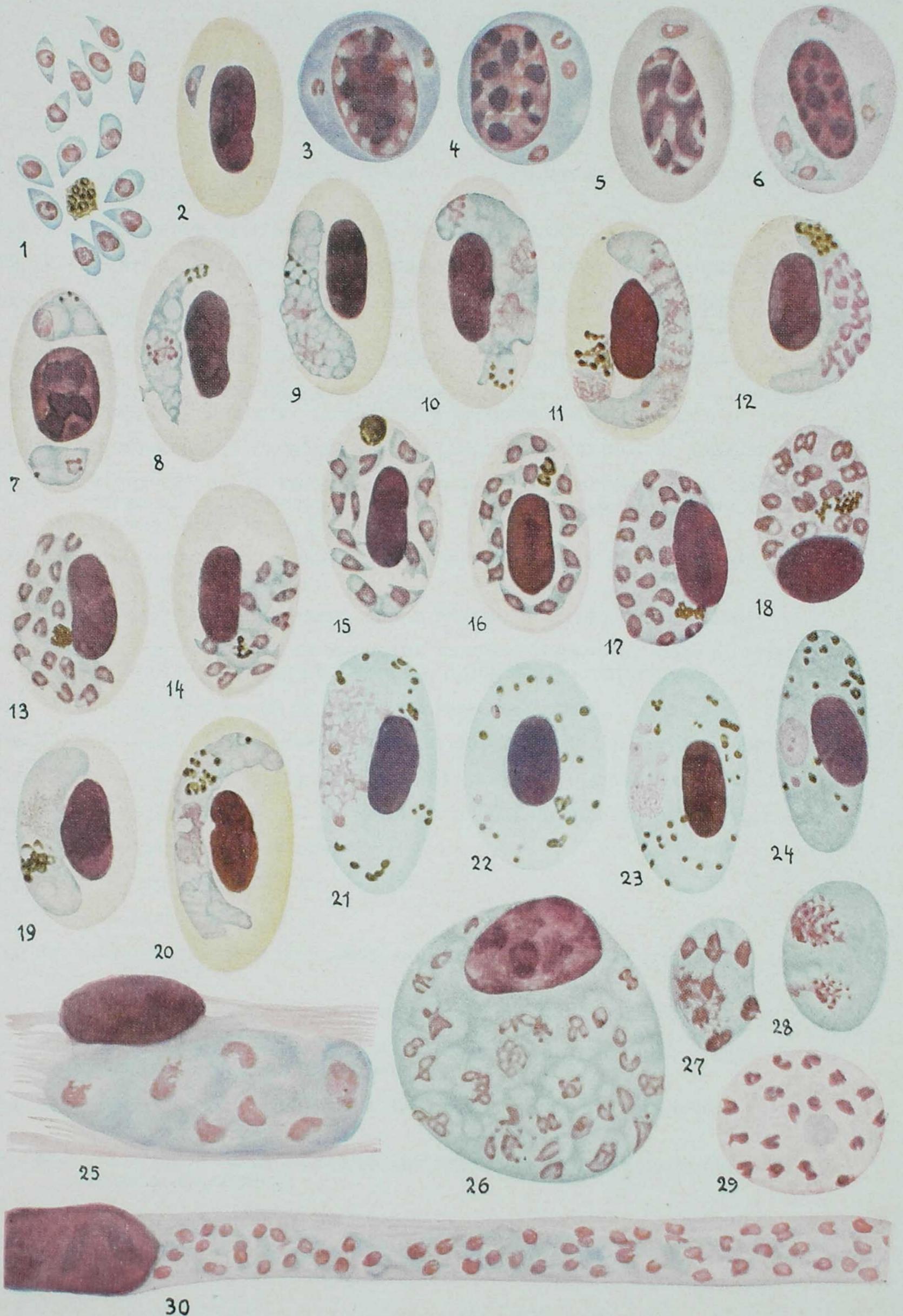
Foram encontradas formas exoeritrocitárias em duas aves que morreram no período patente da infecção, respectivamente, 15 e 17 dias após a inoculação. As aves restantes, que morreram no período subpatente, não mostraram formas exoeritrocitárias.

## REFERÊNCIAS

- BASU, B. C.,  
1938 Studies on a malarial infection in a paddy bird. *Jour. Mal. Inst. India* 1(3) : 273-284.
- GAUD, J. & PETITOT, M. L.,  
1945 Hématozoaires des oiseaux du Maroc. *Arch. Inst. Pasteur du Maroc* 3(4) : 149-171.
- GIOVANNOLA, A.,  
1934 Sulla presenza in Italia del *Plasmodium tenue* (Laveran & Marullaz, 1914) e del *P. circumflexum* (Kikuth, 1931). *Riv. Malariol.* 13(1) : 92-96.
- GIOVANNOLA, A.,  
1939 I plasmodi aviari. *Riv. Parassit.* 3(3) : 221-266.
- HARTMAN, E.,  
1927 Certain interrelations between *Plasmodium praecox* and its host. *Amer. Jour. Hyg.* 7(4) : 407-432.
- HEGNER, R. e HEWITT, R.,  
1938 The influence of young red cells on infections of *Plasmodium cathemerium* in birds. *Amer. Jour. Hyg.* 27(2) : 417-436.
- HERMAN, C. M.,  
1937 Occurrence of malaria in young and adult red-wing blackbirds (*Agelaius p. phoeniceus*). *Jour. Parasit.* 23(6) : 553-554.
- HERMAN, C. M.,  
1938 Mosquito transmission of avian malaria parasites (*Plasmodium circumflexum* and *P. cathemerium*). *Amer. Jour Hyg.*, 27(2) : 345-350.
- HUFF, C. G.,  
1927 Studies on the infectivity of plasmodia of birds for mosquitoes, with special reference to the problem of immunity in the mosquito. *Amer. Jour. Hyg.* 7(6) : 706-734.
- KIKUTH, W.,  
1931 Immunobiologische und chemotherapeutische Studien an verschiedenen Staemmen von Vogel malaria. *Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig.* 121(7-8) : 401-409.
- MANWELL, R. D. e GOLDSTEIN, F.,  
1938 Life history and immunity studies of the avian malaria parasite, *Plasmodium circumflexum*. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 39(3) : 426-428.
- MANWELL, R. D. e GOLDSTEIN, F.,  
1939 Exoerythrocytic stages in the asexual cycle of *Plasmodium circumflexum*. *Amer. Jour. trop. Med.* 19(3) : 279-295.
- MANWELL, R. D. e HERMAN, C.,  
1935 The occurrence of the avian malarias in nature. *Amer. Jour. trop. Med.* 15(6) : 661-673.
- MANWELL, R. D. e WOLFSON, F.,  
1934 The question of periodicity in the asexual cycle of *Plasmodium circumflexum*. *Anat. Rec.* 60, supp. p. 79.

- OGAKI, M.,  
1949 Bird malaria parasites found in Malay Peninsula. *Amer. Jour. trop. Med.* 29(4) : 459-462
- PINTO, O.,  
1944 Catálogo das aves do Brasil. 2.<sup>a</sup> parte. Ordem Passeriformes (cont.): Superfamília Tyrannoidea e Subordem Passeres. *Pub. Dep. Zool. Sec. Agric. Ind. Com.* São Paulo.
- ROMAÑA, C., GIL, J. e RACEDO, P.,  
1946 Paludismo de aves argentinas. I. Infección de tordos *Molothrus bonariensis bonariensis* (Gmelin) por *Plasmodium relictum* y *Plasmodium circumflexum*; y *Molothrus badius badius* (Vieillot) por *Plasmodium circumflexum*. *An. Inst. Med. reg.* 1(3) : 309-312.
- SCHWETZ, J.,  
1930 Sur un *Plasmodium* aviaire à formes de division allongées. *Plasmodium fallax*, n.sp. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie* 8(3-4) : 289-296.
- SCHWETZ, J.,  
1935 Recherches morphologiques sur un *Haemoproteus* spécial et deux *Plasmodiums* du hibou *Syrnium nuchale* et sur deux *Plasmodiums* du petit tisserin *Brachycope anomala* (Fam. *Ploceidae*). *Riv. Malar. 14*(3) : 214-247.
- SHAH, K.,  
1934 The periodic development of sexual forms of *Plasmodium cathe-merium* in the peripheral circulation of canaries. *Amer. Jour. Hyg.* 19(2) : 392-403.
- WOLFSON, F.,  
1936 Periodic phenomena of the asexual cycle of *Plasmodium circumflexum* in canaries. *Amer. Jour. Hyg.* 24(1) : 207-216.
-

Estampa 1  
Plate 1



0 10 20  $\mu$

## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 1

*Desenhos de A. LEAL (câmara clara)*

- 1-18 — esquizontes eritrocitários. 19-24 — gametócitos. 25-30 — esquizontes exoeritrocitários.
- Fig. 1 — merozoítos libertados no fim da segmentação.
- Fig. 2 — eritrócito recentemente infetado por um merozoíto (trofozoíto).
- Fig. 3-4 — eritroblastos de citoplasma basófilo, com infecção múltipla por trofozoítos.
- Fig. 5 — eritroblasto de citoplasma policromatófilo, infetado por um trofozoíto.
- Fig. 6 — eritroblasto de citoplasma policromatófilo, infetado por 4 trofozoítos com prolongamentos amebóides e vacúolos citoplasmáticos.
- Fig. 7 — trofozoítos de 10 horas, com os primeiros grânulos de pigmento.
- Fig. 8 — trofozoíto de 14 horas, de corpo alongado, núcleo único, citoplasma vacuolado e pigmento acumulado em uma extremidade, na qual observa-se o início da inflexão.
- Fig. 9 — esquizonte de 18 horas, binucleado, em inflexão mais acentuada que o precedente.
- Fig. 10 — esquizonte de 19 horas, com 3 núcleos e acentuada inflexão.
- Fig. 11-12 — esquizontes de 22 horas, na fase pré-segmentar, com a cromatina dividida em numerosos grânulos dificilmente distinguíveis.
- Fig. 13-18 — esquizontes de 24 horas, na fase segmentar.
- Fig. 13-14 — segmentares situadas em um dos lados do núcleo do glóbulo.
- Fig. 15-16 — segmentares que rodeiam inteiramente o núcleo do glóbulo.
- Fig. 17-18 — segmentares que deslocam o núcleo do glóbulo para a periferia.
- Fig. 19-20 — gametócitos jovens.
- Fig. 21-22 — microgametócitos.
- Fig. 23-24 — macrogametócitos.
- Fig. 25 — esquizonte exoeritrocitário imaturo em célula endotelial de capilar do cérebro.
- Fig. 26 — esquizonte exoeritrocitário no citoplasma de um macrófago do pulmão.
- Fig. 27-28 — esquizontes exoeritrocitários do pulmão, livres em consequência da rotura das células hospedadoras.
- Fig. 29 — esquizonte exoeritrocitário dentro dos restos de uma célula cujo núcleo foi destruído.
- Fig. 30 — esquizonte exoeritrocitário em segmentação em célula endotelial de capilar do cérebro.

## EXPLANATION OF PLATE 1

*Drawn by A. LEAL (camera lucida)*

- 1-18 — erythrocytic schizonts. 19-24 — gametocytes. 25-30 — exoerythrocytic schizonts.
- Fig. 1 — merozoites set free after segmentation.
- Fig. 2 — erythrocyte newly infected by a merozoite (trophozoite).
- Fig. 3-4 — erythroblasts of basophilic cytoplasm, multiple-infected with trophozoites.
- Fig. 5 — erythroblast of polychromatic cytoplasm, infected with one trophozoite.
- Fig. 6 — erythroblast of polychromatic cytoplasm, infected with 4 trophozoites showing ameboid processes and cytoplasmic vacuoles.
- Fig. 7 — 10-hour trophozoites, showing the first pigment granules.
- Fig. 8 — 14-hour trophozoite, elongate, uninucleate, vacuolated; pigment at one end, where the parasite body is inflecting around the erythrocyte nucleus.
- Fig. 9 — 18-hour schizont, binucleate, more markedly inflected than the preceding one.
- Fig. 10 — 19-hour schizont, with 3 nuclei, and markedly inflected.
- Fig. 11-12 — 22-hour schizonts, at the presegmentar stage; the chromatin appears as a confusing cluster of grains.
- Fig. 13-18 — 24-hour schizonts, at the segmenter stage.
- Fig. 13-14 — segmenters situated on one side of the erythrocyte nucleus.
- Fig. 15-16 — segmenters completely surrounding the erythrocyte nucleus.
- Fig. 17-18 — segmenters causing the erythrocyte nucleus to dislocate toward the periphery.
- Fig. 19-20 — young gametocytes.
- Fig. 21-22 — microgametocytes.
- Fig. 23-24 — macrogametocytes.
- Fig. 25 — immature exoerythrocytic schizont within the endothelium of a brain capillary.
- Fig. 26 — exoerythrocytic schizont within the cytoplasm of a lung macrophage.
- Fig. 27-28 — exoerythrocytic schizonts of lung, set free after the bursting of the host cells.
- Fig. 29 — exoerythrocytic schizont within the remains of a cell, the nucleus of which was lost.
- Fig. 30 — exoerythrocytic schizont segmenting within an endothelial cell of a brain capillary.