

# INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *Calomys callosus* (RENGGER, 1830), (CRICETIDAE – RODENTIA) A QUATRO ESPÉCIES DE PARASITOS.\*

Dalva A. Mello\*\*

Neste trabalho foram estudados exemplares do roedor, *Calomys callosus*, nascidos em laboratório, a infecções experimentais com quatro parasitos: *Plasmodium berghei*, *Leishmania mexicana amazonensis*, *Schistosoma mansoni* e *Hymenolepis nana*. A positividade das infecções foi de 80% para os três primeiros parasitos e 0 para *H. nana*.

*C. callosus* é um roedor de excelente adaptação em laboratório e de fácil manuseio. Acredita-se que, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, este animal poderia ser um bom modelo experimental de laboratório para certos agentes patogênicos.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Calomys*, roedor de porte semelhante a camundongo, compreende atualmente quatro espécies: *sorellus*, *lepidus*, *laucha* e *callosus* (Hershkovitz, 1969).<sup>5</sup> As espécies *tener* e *expulsus*, foram colocadas em sinonímia com *callosus* por esse autor.

A biologia de *C. callosus* e alguns aspectos da ecologia, foram estudados por Justines et al.<sup>7</sup>, Petter e cols.<sup>13</sup> e Mello<sup>11</sup>.

Este roedor tem sido incriminado como reservatório do vírus da febre hemorrágica<sup>6,7</sup> do *Trypanosoma cruzi*<sup>12,14</sup> e *Yersinia pestis*<sup>1</sup>

O *C. callosus* é um cricetideo de excelente adaptação ao cativeiro como demonstraram os estudos dos autores acima citados sobre seu ciclo biológico.

Recentemente Mello<sup>11</sup>, desenvolveu uma grande colônia de *C. callosus* no laboratório de Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília. A colônia foi resultante de três fêmeas gestantes coletadas no norte do município de Formosa, estado de Goiás. Aproveitando assim a facilidade dos *C. callosus* nascidos em laboratório, procurou-se verificar as possi-

bilidades do uso deste roedor como modelo para infecções experimentais a alguns parasitos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho quatro espécies de parasitos, *Plasmodium berghei*, *Leishmania mexicana amazonensis*, *Schistosoma mansoni* e *Hymenolepis nana*, foram utilizados para as infecções experimentais.

### 1. Infecção com *Plasmodium berghei*

Dez *C. callosus* machos com idade de 2-3 meses, foram inoculados por via intraperitoneal com 0.2 ml de sangue de camundongos parasitados pelo *P. berghei*. A dose do inóculo correspondeu a 10<sup>5</sup> parasitos.

Os animais inoculados com o sangue infectado foram examinados a partir de 24 horas após a inoculação, e assim sucessivamente até determinar o período de prepatência da infecção. Os exames eram realizados inicialmente fazendo-se gota espessa corada com Giemsa, do sangue da cauda do animal. Após a primeira lâmina positiva, os exames continuaram sendo feitos todos os dias, porém, fazendo-se estiramentos sanguíneos, com o objetivo de

\* Trabalho realizado com auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico 6228/75 SIP/08 – 032) e Ministério da Saúde.

\*\* Prof.<sup>ª</sup> Dept.<sup>o</sup> Med. Comp., FCS – Univ. de Brasília – 70.000 – Brasília, DF.  
Recebido para publicação em 17.5.1978.

acompanhar a evolução da parasitemia, quantitativamente, até a cura ou morte do animal. A quantificação da parasitemia era baseada na contagem de parasitos em 50 campos microscópicos. Os animais negativos ou que se negativaram posteriormente, foram sacrificados no 37º dia após as inoculações. Destes animais, pool de baço e fígado foi inoculado em camundongos albinos, para comprovar a ausência de infecção pelo *P. berghei*.

#### 2. Infecção com *L. mexicana amazonensis*

A cepa de leishmania empregada foi isolada de caso humano hospitalizado na UISS. Esta cepa era mantida através de inoculações em hamster, no laboratório de Parasitologia da FCS da Universidade de Brasília.

Cinco *C. callosus* com 2,5 a 3 meses de idade foram inoculados com 0.1 ml de triturado de lesões ricas em amastigotas, por via subcutânea, na extremidade nasal e numa pata posterior. A evolução da infecção foi acompanhada fazendo-se exames semanais dos animais durante 3,5 meses, quando os sobreviventes eram então sacrificados. A pesquisa do parasito foi realizada em esfregaços por aposição corados pelo Giemsa, provenientes das lesões externas, fígado, baço, pulmões, rins e cérebro.

#### 3. Infecção com *Schistosoma mansoni*

A infecção experimental de *C. callosus* com *S. mansoni* foi realizada comparando-a com camundongos albinos cepa "swiss".

Foram utilizados para isto, 5 camundongos e 5 *Calomys* com peso médio em torno de 19 gr. Os animais foram individualmente infectados pela cauda, por via transcutânea. A duração da exposição ao material infectado foi de 45 minutos sendo a dose por animal em torno de 45 cercárias.

A cepa de *S. mansoni* empregada nos experimentos, foi isolada de caso humano da cidade de Paulista, Pernambuco. Esta cepa era mantida no laboratório do Núcleo de Medicina Tropical da UnB em camundongos e *B. glabrata*, sendo o transmissor também proveniente da mesma região que o parasito.

Os animais submetidos a infecção tinham suas fezes examinadas 35 dias após as inoculações, pelo método coprológico quantitativo de Barbosa<sup>2</sup>.

Os exames coprológicos foram realizados em dias alternados até completar 50 dias de inoculação. Nos animais sacrificados era feita a perfusão do fígado e vasos mesentéricos com a contagem por sexo, dos vermes encontrados. Em dois *Calomys* e dois camundongos foi reali-

zido o oograma de maneira semelhante àquela descrita em Barreto et al.<sup>3</sup>.

#### 4. Infecção com *Hymenolepsis nana*

Dez *Calomys* foram usados para infecção experimental com amostra de *H. nana* proveniente de caso humano da UISS. A dose do inóculo foi de 20 ovos aproximadamente e a via de inoculação foi a oral. A técnica de inoculação e os exames dos animais, foram realizados como está recomendado em Mello<sup>10</sup>

### RESULTADOS

Na tabela I encontram-se resumidos os resultados das infecções experimentais realizadas no *C. callosus*.

TABELA I

Infecções Experimentais de *C. callosus*  
com quatro espécies de parasitos

PARASITOS	ANIMAIS INOCULADOS	
	TOTAL	POSITIVOS
<i>P. berghei</i>	10	8
<i>L. mexicana</i>	5	4
<i>S. mansoni</i>	5	4
<i>H. nana</i>	10	0

#### 1. *P. berghei*

De dez *Calomys*, inoculados com plasmodio, dois foram negativos. Dos *Calomys* positivos, um após o 19º dia de infecção, apresentou exames de sangue negativos. O pool de fígado e baço, deste animal sacrificado com 30 dias após a inoculação, foi infectante para camundongos albinos. O pool de fígado e baço, daqueles que tiveram sempre esfregaços sanguíneos negativos, não foi infectante para camundongo. Os sete *Calomys* restantes foram encontrados mortos após as inoculações como segue: três com 16 dias, três com 21 e 01 com 23 dias. A prepatência dos animais positivos foi: dois com 3 dias e seis com 5 dias.

A tabela II mostra a evolução da parasitemia durante as observações realizadas.

#### 2. *L. mexicana amazonensis*

Dos cinco *Calomys* inoculados com a cepa de leishmania, um foi encontrado morto após 10 dias da inoculação sem qualquer resultado positivo. Os quatro restantes, sacrificados com 3,5 meses, apresentaram lesões nodulosas, duras e não ulcerativas, nos locais de inoculações. As lesões começaram a tornar-se eviden-

TABELA II

Evolução da Parasitemia (Nº de parasitos/50 campos microscópicos) em *C. callosus* infectado experimentalmente com *P. berghei*

Nº DO ANIMAL	NÚMERO DE DIAS APÓS AS INOCULAÇÕES																			
	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	19	21	23	25	27	29	31
1	5	6	14	31	139	90	52	367	791	856	1.123	1.500	*	*	*	M	—	—	—	—
2	2	4	10	40.	618	796	921	1.356	*	*	*	*	M	—	—	—	—	—	—	—
3	0	2	5	80	510	485	589	37	33	128	521	99	1	0	4	0	0	0	0	S
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	S
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	S
6	0	3	5	13	444	913	1.323	1.491	*	*	*	*	M	—	—	—	—	—	—	—
7	0	2	3	175	889	1.002	1.315	1.500	*	*	*	*	M	—	—	—	—	—	—	—
8	0	2	5	174	935	1.012	1.395	1.493	*	*	*	*	M	—	—	—	—	—	—	—
9	0	2	3	25	552	134	255	791	1.105	*	*	*	M	—	—	—	—	—	—	—
10	0	1	3	100	693	1.563	1.498	1.581	1.673	*	*	*	*	*	*	*	M	—	—	—

\* Número de parasitos acima de 1.600/50 campos microscópicos.

M Animal encontrado morto.

S Animal sacrificado.

tes a partir do 40º dia após a infecção. Os esfregaços realizados com material dos nódulos apresentaram resultados positivos para formas amastigotas. Os resultados foram negativos para os esfregaços das vísceras.

### 3. *S. mansoni*

Dos cinco *Calomys* inoculados com *S. mansoni*, dois morreram antes de completar as observações. Destes, um (D) foi encontrado morto no 42º dia após a inoculação, tendo ainda exames coprológicos negativos. O segundo (B), morreu no 50º dia após a inoculação, porém já com resultados positivos nos exames coprológicos. Como este animal estava em estado de putrefação não foi feito oograma, nem pesquisa de parasitos adultos.

Os três restantes (A, C e E) foram todos positivos nos exames coprológicos, até o 50º dia após as inoculações quando foram então sacrificados. O período de prepatência nestes animais foi: A e B com 43 dias, C e E com 44 dias. Nos camundongos a prepatência foi de 40 dias.

Na tabela III estão resumidos os resultados dos exames coprológicos, e na tabela IV estão os dados referentes ao oograma e o número de parasitos recuperados nos animais infectados.

### 4. *H. nana*

Nenhum animal inoculado com ovos de *H. nana* adquiriu a infecção por este cestodeo.

## COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Numerosos trabalhos sobre infecções experimentais de roedores com *P. berghei* têm sido realizados. No Brasil, Lima<sup>9</sup> estudou a suscetibilidade de várias espécies de roedores neotropicais ao *P. berghei*, não sendo entretanto incluído em seu trabalho experiências com *C. callosus*. Este autor verificou que, de sete,

entre as nova espécies de roedores estudadas, a infecção foi geralmente letal com parasitemia intensa. Estes suscetíveis pertenciam a família Cricetidae. Numa outra espécie, *Sciurus ingrami* (Sciuridae) a infecção só se produziu após a esplenectomia do animal, sendo discreta e com baixa parasitemia. Finalmente, a nona espécie testada por este autor *Cercomys cunicularius* (Echimyinae), não se infectou, mesmo quando o animal era esplenectomizado.

Os resultados dos *C. callosus* testados neste trabalho, indicaram que este roedor revelou-se muito sensível a infecção experimental com *P. berghei* pois entre 10 animais testados, 8 foram positivos (tabela I e II). Entre os positivos, 7 morreram em decorrência da infecção e o outro restante teve parasitemia negativada a partir do 19º dia após a inoculação. O pool de baço e fígado deste animal sacrificado um mês após a inoculação, infectou camundongo por via intraperitoneal.

Os resultados da infecção dos *C. callosus* a *L. mexicana* mostraram que eles foram bem sensíveis a este parasito. Entre cinco animais testados, quatro desenvolveram a infecção com lesões nodulares e intenso parasitismo. Este roedor ainda não havia sido inoculado experimentalmente com espécies de *Leishmania*.

A infecção experimental de *C. callosus* com *S. mansoni* foi estudada por Borda<sup>4</sup>, verificando alta letalidade e patogenicidade deste parasito. Acredita-se entretanto, que provavelmente a dose do inóculo utilizada nos seus experimentos (200 cercárias) tenha influenciado na evolução da infecção interferindo diretamente no equilíbrio hospedeiro-parasito. Os resultados obtidos no presente trabalho indicam (tabela III), que o período prepatente foi mais curto tanto em camundongos (40 dias) quanto em *C. callosus* (43-44 dias), do que naqueles

encontrados por Borda<sup>4</sup>. A recuperação dos vermes foi também maior neste trabalho (tabela IV) do que naquele do autor citado (20%).

Os resultados negativos de *C. callosus* à infecção por *H. nana*, vêm reforçar a idéia que se tem da especificidade pelo hospedeiro entre os cestodeos. Schiller (1959) entretanto conse-

TABELA III

Eliminação de ovos de *S. mansoni* em *C. callosus* e camundongos albinos, infectados experimentalmente

Exames Coprológicos (dias *)	Animais infectados ovos/gr. de fezes									
	<i>C. callosus</i>					Camundongos				
	A	B	C	D	E	1	2	3	4	5
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	00	0	0	25	36	66	25	39
41	0	0	0	0	0	20	40	8	75	15
42	0	0	0	0**	0	280	70	75	130	140
43	120	36	0	-	0	39	55	70	120	40
44	120	42	90	-	50	72	66	72	84	68
45	36	160	126	-	40	280	120	234	520	60
47	180	20	240	-	16	72	65	56	40	20
48	70	90	120	-	60	18	28	8	45	27
49	48	400	30	-	8	45	18	60	160	40

\* Número de dias a partir da data de inóculo.

\*\* Animal encontrado morto.

TABELA IV

Parasitas recuperados e oograma realizado em *C. callosus* e camundongos albinos infectados experimentalmente com *S. mansoni*

OBSERVAÇÕES	<i>C. callosus</i>		Camundongos			
	A	C	1	2	4	5
<i>Parasitas Recuperados</i>						
Fêmeas	5	11	13	15	24	14
Machos	15	13	18	27	18	11
%	44,4	53,3	60,9	93,3	93,3	55,5
<i>Oograma</i>						
Ovos maduros	34	187	242	221		
1º estágio	49	177	100	355		
2º estágio	15	81	50	276		
3º estágio	25	77	85	243		
4º estágio	34	61	92	210		
Ovos imaturos	3	43	-	55		
Ovos granulados	3	35	41	85		
Ovos retraídos	5	32	18	110		
Cascas	4	40	56	130		
Hemitransparentes	6	0	0	0		

Não foi realizado oograma

guiu com sucesso estabelecer a infecção de *H. nana* em dez espécies de roedores entre murídeos e sciurídeos.

O trabalho aqui desenvolvido teve como objetivo principal o estudo da sensibilidade de *C. callosus* à infecção experimental com alguns parasitos de interesse médico. No entanto, foi sem dúvida o fato deste roedor se adaptar tão bem em laboratório<sup>7, 11, 13</sup>, que se procurou verificar a possibilidade dele vir se tornar um bom animal de laboratório fornecendo assim a possibilidade a novos modelos experimentais.

#### SUMMARY

*Results of the experimental infections of the laboratory bred rodent Calomys callosus are presented in this paper. The following parasites were as infective agents: Plasmodium berghei, Leishmania mexicana amazonensis, Schistosoma mansoni and Hymenolepis nana. C. callosus was refractory to H. nana while it has shown to be susceptible to the other three parasites. The infection rates for each one this parasites was 80 per cent.*

*C. callosus has been maintained under laboratory conditions for six generations showing excellent adaptation and easy handling. It is believed that this animal can be used as laboratory experimental model for certain parasitic diseases.*

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, C. R. de.: Relatório das Pesquisas do Plano Piloto de Peste em Exu. *Centro Pesqui. Ag. Magalhães*. Ministério da Saúde, 1973.
- BARBOSA, F. S.: A method for counting Schistosome eggs in faeces. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 11: 442, 1969.
- BARRETO, A. C., SANTOS, J. & OLIVEIRA, V. S.: Epidemiologia da esquistossomose mansônica e infecção natural de *Cavia aperea aperea*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 6: 233, 1964.
- BORDA, C. E.: Infecção natural e experimental de alguns roedores pelo *Schistosoma mansoni* Sambom, 1907. Tese. *Inst. Ciênc. Biol. Univ. Fed. M. Gerais*, 1972.
- HERSHKOVITZ, P.: Evolution of neotropical Cricetinae Rodents (Muridae) with special reference to the Phylotiline group. *Feldiana. Zool.* 46: 1-524, 1969.
- JUSTINES, G. & JOHNSON, K. M.: Immune tolerance in *Calomys callosus* infected with machupo virus. *Nature*. 222: 1090, 1969.
- JUSTINES, G. & JOHNSON, K. M.: Observations on laboratory breeding of the cricetinae rodent *Calomys callosus*. *Lab. Anim. Care* 20: 57, 1970.
- JOHNSON, K. M., MACKENZIE, R. B., WEBB, P. A. & KUNS, M. L.: Chronic infection of rodents by machupo vírus. *Science* 150: 1618, 1975.
- LIMA, J. D.: Suscetibilidade de algumas espécies de roedores neotropicais brasileiros ao *Plasmodium berthei*. Tese. *Inst. Ciências Biol. Univ. Fed. M. Gerais*, 1973.
- MELLO, D. A.: Alguns aspectos do parasitismo, experimental em murídeos e natural em humanos, por *Hymenolepis nana* (Von Siebold, 1852) Blanchard 1891 (Cestoda Hymenolepididae). Tese. *Inst. Ciências Biol. Univ. Fed. M. Gerais*, 1975.
- MELLO, D. A.: Note on breeding of *Calomys callosus* Lund, 1841 (Rodentia, Cricetidae) under laboratory conditions. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 10: 107, 1977.
- MELLO, D. A. & TEIXEIRA, M. L.: Nota sobre a infecção natural de *Calomys expulsus* Lund, 1841 (Cricetidae-Rodentia) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Saúde Públ. S. Paulo*, 11: 561, 1977.
- PETTER, F., KARIMI, Y. & ALMEIDA, C. R. de: Un nouveau rongeur de laboratoire le cricetidé *Calomys callosus*. *C. R. Acad. Sc. Paris*. 265: 1974, 1967.
- RIBEIRO, R. D.: Novos reservatórios do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Bras. Biol.* 33: 429, 1973.

#### Agradecimentos:

Aos Professores C. E. Tosta, C. C. Cuba e M. Radke, respectivamente, pelo fornecimento das cépas de *P. berghei*, *L. mexicana* e *S. mansoni*.