

# Sôbre o *Trypanosoma conorrhini*, hemoparasito do rato transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata*. Presença do vector infectado na cidade do Rio de Janeiro (\*)

por

Emmanuel Dias e C. A. Campos Seabra

(Com quatro figuras no texto e duas estampas)

## I N D I C E

	<i>Págs.</i>
Histórico. . . . .	303
Distribuição geográfica do <i>Triatoma rubrofasciata</i> . . . . .	305
Parasitismo do <i>T. rubrofasciata</i> por flagelados na América . . . . .	306
Verificação da presença do <i>Trypanosoma conorrhini</i> no Rio de Janeiro . . . . .	307
Morfologia do flagelado no inseto . . . . .	307
Semelhança do <i>T. conorrhini</i> e do <i>Schizotrypanum cruzi</i> no hospedeiro intermediario . . . . .	310
Comparação entre as formas metacíclicas de <i>T. conorrhini</i> e de <i>S. cruzi</i> no transmissor. . . . .	311
Evolução do <i>T. conorrhini</i> em outras espécies de barbeiro . . . . .	314
Experimentação em animais . . . . .	314
Morfologia do tripanosoma no sangue . . . . .	318
Possibilidade do <i>T. conorrhini</i> ter sido previamente encontrado na América do Sul . . . . .	321
Os triatomas como possíveis transmissores de parasitos do gênero <i>Trypanosoma</i> . . . . .	322
Resumo e conclusões . . . . .	324
English summary . . . . .	325
Bibliografia. . . . .	326

### *Histórico*

A existência de flagelados no conteúdo intestinal do *Triatoma rubrofasciata* foi primeiro assinalada por DONOVAN (1909), no decurso de investigações sôbre o problema da transmissão da leishmaniose visceral, em Madras, na Índia. Na suposição de que o flagelado fôsse um parasito próprio do inseto, deu-lhe o nome *Crithidia conorrhini*.

\* Recebido para publicação a 11 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

Pouco depois, LAFONT (1912 a, b) repete o achado em triatomas das ilhas Mauritius e Reunion, no Oceano Índico. Conseguiu, porém, inculcação positiva em camondongo, e considerou o protozoário como pertencente a uma nova espécie, á qual denominou *Trypanosoma boylei*.

Muito mais tarde SHORTT & SWANINATH (1928), no Assam (India), observaram a presença de flagelados no mesmo hematófago, obtendo também a transmissão ao camondongo por inoculação. Ao mesmo tempo KNOWLES (1928) refere o parasitismo do *Triatoma rubrofasciata* em Calcutá por uma "crithidia of its own".

Um estudo muito aprofundado do protozoário foi feito por MORISHITA (1935) na Ilha da Formosa, onde sua presença foi verificada em 238 de 385 triatomas examinados (61.8%). Fácilmente comprovada a transmissibilidade ao camondongo em diversas circunstâncias, foi então considerado como provável parasito digenético — *Tripanosoma conorrhini* (DONOVAN) possivelmente idêntico ao *Trypanosoma boylei* LAFONT. O hospedeiro vertebrado, entretanto, continuou ignorado. Talvez concorresse fundamentalmente para isso a maneira errônea do autor japonês encarar os fatos, que o teria desviado da procura adequada e pertinaz daquele hospedeiro, que tudo indicava existir: "The natural vertebrate host of *T. conorrhini*, which still remains to be found out, must be rather an animal with little chance of being attacked by the insect. But since the latter shows a high percentage of infection in nature, it is inferred that dissemination takes place from insect to insect by direct transmission"... (MORISHITA 1935, pág. 541).

A questão foi sèriamente investigada em Java depois que MALAMOS (1935) identificou o *Schizotrypanum cruzi* em macacos (*Macacus cynomolgus*) do Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo, procedentes daquela ilha. Como o *Triatoma rubrofasciata* é ali muito frequente, atraiu desde logo a atenção dos pesquisadores como o possível transmissor local do *S. cruzi*, mas o único flagelado nele encontrado em Java foi o *Trypanosoma conorrhini*, conforme o verificou BONNE (1935, 1936). E, interessante, a despeito de reiteradas pesquisas, mesmo com o recurso do xenodiagnóstico em macacos e em crianças, não só não tornou a ser encontrado o *S. cruzi*, como continuou desconhecido o provável hospedeiro definitivo do *T. conorrhini*.

Convencido porém de que o flagelado devia ter um ciclo no vertebrado, BONNE (1937) teve a boa idéia de mandar fazer a determinação da origem do sangue semi-digerido contido no estômago dos triatomas, pelo teste das precipitinas, afim de melhor orientar as suas investigações. O resultado foi o mais significativo possível, pois as reações foram sempre positivas em

presença dos soros anti-rato, negativas em presença dos soros anti-homem, cavalo, búfalo, carneiro, cabra, vaca, porco, cão e galinha (MEYER, 1936). O fato de ser o rato o animal mais procurado pelo triatoma explica-se perfeitamente pela preferência, que esse roedor tem, de construir o seu ninho no interior das duplas paredes de bambú das habitações dos nativos javaneses, local onde também se acoitam os hematófagos, donde a estreita convivência entre ambos.

Assim foi que, aplicando em ratos de casas com hemípteros parasitados o xenodiagnóstico com *T. rubrofasciata* "limpos", BONNE (1937) chegou finalmente à determinação do hospedeiro natural do *T. conorrhini* em Java, o *Rattus rattus diardi*. De 20 ratos sugados diversas vezes por lotes de triatomas, três se mostraram infectados pelo hemoflagelado.

BONNE & MOOY (1937) também relatam estas pesquisas, expressando o ponto de vista de pertencer a uma única espécie o flagelado até aquela época observado no conteúdo intestinal do *Triatoma rubrofasciata* em diferentes regiões do globo:

"Wir glauben, dass unser Parasit mit den von DONOVAN, SHORTT und SWANINATH, LAFONT und MORISHITA beschriebenen Trypanosomen identisch ist und werden im weiteren auch den Namen *Trypanosoma conorrhini* gebrauchten".

Ao encerrar este resumo histórico, cabe recordar que o *Trypanosoma conorrhini*, do mesmo modo que o *Schizotrypanum cruzi*, foi primeiramente encontrado, no mesmo ano de 1909, no organismo do inseto transmissor, um hemíptero hematófago. Entretanto, quase 30 anos transcorreram até que se conseguisse descobrir um hospedeiro vertebrado do *T. conorrhini*, muito embora a sua provável existência pudesse desde logo ser admitida pelos resultados da experimentação em animais. Valha o ensêjo para, evocando as breves etapas da descoberta da tripanosomose americana, tão rica em ensinamentos, rendermos mais uma homenagem à memória de CARLOS CHAGAS, o genial criador do magnífico capítulo de uma nova entidade mórbida do homem.

#### *Distribuição geográfica do TRIATOMA RUBROFASCIATA*

Esta é sem dúvida a espécie de *Triatoma* mais difundida no mundo. O mapa da fig. 1 dá uma idéia de sua ampla distribuição, cuja grande parte se encontra na faixa compreendida entre os trópicos de Cancer e de Capricórnio. Segundo NEIVA é originária da Asia, de onde se difundiu pelo tráfico marítimo, predominando ainda hoje na orla dos continentes e nas ilhas.

O *T. rubrofasciata* encontra-se espalhado sobretudo na Ásia e na Oceania (Arábia, Índia, Birmânia, Estados Malaios, Indochina, Tailândia, Península de Malacca, China e ilhas: Filipinas, Formosa, Andaman, Ceilão, Java, Sumatra, Bornéu, Nova Guiné, Tonga, Carolinas, Havai, etc.). Na África tem sido assinalado em diversas regiões (África Equatorial Francesa, Serra Leoa, Angola, Congo, África do Sul); nas ilhas do Oceano Índico, como Mauritius, Reunion, Madagáscar, Comores, Seychelles, Rodrigues, Zanzibar. Nos Açores, no Oceano Atlântico, acha-se o limite norte de sua distribuição geográfica. Na América do Norte parece só ter sido assinalado em Jacksonville, na Flórida, e na América Central na República do Salvador. Está presente em muitas das Antilhas, como Cuba, Haiti, Jamaica, São Tomaz, Antígua e Virgens.

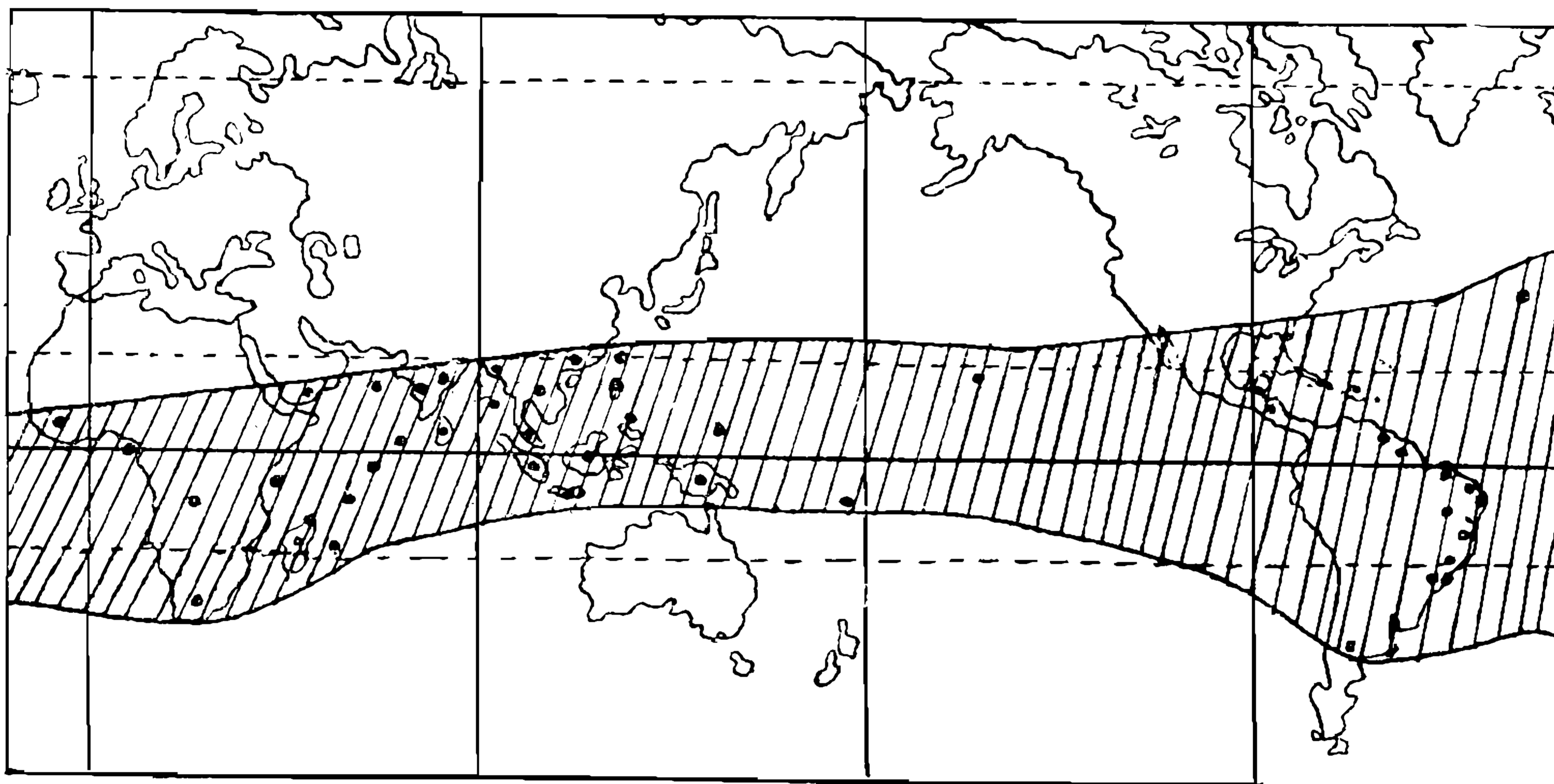


Fig. 1 — Distribuição geográfica do *Triatoma rubrofasciata* (De Geer). Segundo modificação do mapa de Hase, 1932, fig. 16, pág. 603.

No que diz respeito à América do Sul, o *T. rubrofasciata* é conhecido na Venezuela, Guiana Francesa, Guiana Holandesa, Brasil e Argentina. Curioso é que não tenha sido ainda encontrado nos países do Pacífico.

No Brasil, NEIVA & LENT (1941) dão-no como presente nos Estados de Pará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Baía, Minas Gerais, Distrito Federal e São Paulo. Recentemente foi assinalado no Maranhão (MIRANDA, 1943). A Divisão de Estudos de Endemias, do Instituto Oswaldo Cruz, já recebeu exemplares de Pará, Maranhão, Alagoas e Distrito Federal.

Na cidade do Rio de Janeiro (D. F.) a presença do *T. rubrofasciata* é há muito conhecida. Na literatura achamos referência à captura de exempla-

res em ruas centrais da cidade, como São José, Espírito Santo (hoje Pedro I), Andradas, São Pedro, nos bairros de Botafogo (Rua Marquês de Olinda), Santa Teresa, Tijuca (Haddock Lôbo) e nos subúrbios de São Francisco Xavier, Rocha e Riachuelo. Frei THOMAZ BORGMEYER comunicou verbalmente aos autores haver achado um barbeiro desta espécie no Convento de Santo Antônio, no morro do mesmo nome.

A Divisão de Estudos de Endemias possui exemplares de Santa Teresa (um macho), do Quartel da Polícia Especial, no Morro de Santo Antônio (um macho e uma fêmea) e no Largo da Carioca (um macho). Este último foi o em que verificamos a presença de flagelados, que adiante estudaremos.

#### *Parasitismo de TRIATOMA RUBROFASCIATA por flagelado na América*

Ao tratarmos da parte histórica, aludimos à presença do *Trypanosoma conorrhini* no intestino de *Triatoma rubrofasciata* em várias regiões da Ásia e nas ilhas do Oceano Índico e do Oceano Pacífico, onde o protozoário foi descoberto e bem estudado.

Na literatura que conhecemos sobre o assunto, não encontramos referência à ocorrência deste flagelado a não ser naquelas longínquas regiões.

No continente americano o *Triatoma rubrofasciata* foi encontrado com parasitismo intestinal por flagelados somente em duas localidades, a nosso conhecimento: em Recife, no Estado de Pernambuco, e em Caiena, capital da Guiana Francesa. O flagelado, entretanto, foi identificado como *Schizotrypanum cruzi*, não tendo sido devidamente excluída a possibilidade de ser o *Trypanosoma conorrhini*, conforme teremos ocasião de discutir mais adiante.

Destarte, a presença do *T. conorrhini* aparentemente nunca foi demonstrada nesta parte do mundo. Com o presente trabalho, sua distribuição geográfica conhecida torna-se consideravelmente expandida, ganhando o hemisfério ocidental e tornando-se o cosmopolita tripanosoma, tal como há muito se sabe ser o seu agente transmissor, o *T. rubrofasciata*, e o seu hospedeiro definitivo, o rato.

#### *Verificação da presença do TRYPANOSOMA CONORRHINI no Rio de Janeiro*

Em junho do corrente ano foi dado a um de nós (CAMPOS SEABRA) capturar, num restaurante de luxo no centro da cidade (largo da Carioca), um barbeiro adulto que pousou na cabeça de uma pessoa. Era noite e, sendo o local bem iluminado, provavelmente o inseto viera de fora, atraído pela luz, fato que tem sido comumente observado com barbeiros.

Tratava-se de um *Triatoma rubrofasciata*, que foi levado ainda vivo para a Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, onde se constatou a presença de flagelados no conteúdo do reto, extraído por punção anal. À primeira vista, ao simples exame a fresco, supôs-se que eram formas evolutivas de um *Schizotrypanum*, o que não era de estranhar em face do recente encontro de *Panstrongylus megistus* infectados por parasitos dêste gênero em pleno Distrito Federal (DIAS, 1943).

Entretanto, o exame de preparação corada pelo Giemsa levantou a suposição de serem os flagelados formas de evolução de um outro protozoário, o que se confirmou pelo resultado da inoculação em animal. De fato, um camondongo injetado apresentou dias depois um grande tripanosoma no sangue, o qual foi demoradamente observado a fresco e que não tornou a ser visto no mesmo material após coloração, nem em novas preparações de sangue feitas no mesmo e em outros dias.

Pesquisas que serão relatadas a seguir demonstraram cabalmente tratar-se do *Trypanosoma conorrhini* (DONOVAN, 1909), até então nunca identificado na América, quer no inseto transmissor, quer no hospedeiro definitivo.

#### *Morfologia do flagelado no inseto*

Os parasitos observados no primeiro e único *T. rubrofasciata* que encontramos infectado no Distrito Federal não eram muito numerosos. Grande parte do material foi inoculada em camondongo, tendo sido feito apenas um preparado que foi fixado pelo álcool etílico absoluto e corado pelo Giemsa.

As formas parasitárias presentes eram critídias e tripanosomas metacíclicos. As primeiras não chamavam a atenção por nenhuma particularidade, mas as segundas, evidentemente, não tinham aspecto conhecido das formas correspondentes do *Schizotrypanum cruzi*.

No primeiro material disponível não pudemos observar senão um número pequeno de formas bem coradas. Posteriormente, tornou-se possível o exame de barbeiros que se infectaram intensamente no laboratório por sucção dos animais inoculados. Em triatomídeos de várias espécies, assim infectados e dissecados a prazos variáveis, surpreendemos as diversas fases da evolução do flagelado, cujos aspectos fundamentais serão rapidamente descritos.

As formas de critídia, como de regra, são polimórficas e de dimensões bastante variáveis. Seu núcleo é ovóide, bem corado, e está colocado em posição inconstante no corpo do protozoário, mais ou menos nas proximidades da parte média. O blefaroplasto tem a forma de bastonete, é intensamente corado e na generalidade dos casos acha-se situado bem perto do núcleo e à

sua frente; dêle parte o flagelo aderente que depois de bordejar a membrana ondulante pouco nítida, prolonga-se por uma porção livre relativamente curta. A extremidade posterior do corpo é moderadamente afilada e também curta. O protoplasma geralmente não encerra granulações. As critídias são por excelência a forma de multiplicação, sendo freqüentes as formas em divisão binária. Observadas em estado fresco, algumas formas apresentam um movimento contínuo característico, locomovendo-se em linha reta como que puxadas por uma linha, flagelo para a frente.

Nas critídias pequenas o blefaroplasto ocupa posições variadas relativamente ao núcleo. Arredondando-se e saindo de sua posição anterior, desloca-se para o lado do núcleo e passa gradativamente para a extremidade posterior do corpo, estando então terminada a transformação em tripanosoma metacíclico: "*On constate tous les degrés de la retrogradation du blépharoplaste qui devient postérieur au noyau*" (LAFONT 1912 *b*, pág. 912). Esta transformação simples é um fenômeno geral entre os flagelados e não comporta, a nosso ver, interpretações hipotéticas às vêzes invocadas para explicar a formação do estágio final da evolução de outros tripanosomídeos (ELKELES, 1940, 1942).

A forma metacíclica do *T. conorrhini* possui um aspecto bastante peculiar. Chama a atenção, em primeiro lugar, pela exigüidade de suas dimensões. Em segundo lugar, é notável a posição em que se acha o núcleo, muito para trás, às vêzes em contigüidade com o blefaroplasto. Êste é arredondado, volumoso, terminal ou subterminal. O flagelo aderente é mais ou menos sinuoso e sua parte livre é bastante curta. O corpo do parasito freqüentemente é curto e largo, atarracado, de contornos às vêzes irregulares, piriforme. Outras vêzes, é alongado e incurvado em forma de C, casos em que o núcleo fica do lado da concavidade. A fresco, as formas metacíclicas são dotadas de ativos movimentos vermiculares *sur place* ou se deslocam velozmente no campo microscópico, conforme a boa descrição de LAFONT (1912, pág. 895):

"On rencontre aussi, tantôt très rares, tantôt très nombreuses, de petites formes se tordillant sur place comme des vers, avec des mouvements d'extension et de rétraction. Ce sont des *trypanosomes* de petites dimensions. Ces petits *trypanosomes* évoluent sur place, comme s'ils étaient gênés par le contenu intestinal ou comme s'ils sortaient d'un kyste; leurs mouvements sont vifs, rapides. Ils semblent aussi se détendre comme des ressorts pour traverser très vite le champ du microscope".

Três são as características que, segundo LAFONT (1912 *b*), são suficientes para distinguir estas formas do *T. conorrhini* das de outros tripanosomídeos: 1) blefaroplasto muito volumoso, arredondado ou muito ligeira-

mente alongado, terminal ou sub-terminal com relação à extremidade posterior; 2) núcleo volumoso, alongado, fortemente corado, na maioria das vezes acolado longitudinalmente à face côncava do parasito; 3) uma distância muito curta, que pode mesmo ser inapreciável, separando o blefaroplasto da extremidade posterior do núcleo. "La constance de ces trois caractères souffit, selon nous, à différencier ce petit trypanosome des espèces connues" (LAFONT 1912 *b*, pág. 900).

MORISHITA descreve dois tipos principais de metacíclicos, as formas alongadas e falciformes medindo de corpo 9 a 13  $\mu$ , e as formas curtas e largas, com apenas 4 a 8  $\mu$  de corpo. "The nucleus is generally elongated oval, but often kidney-shaped, quite a peculiarity of this short and rounded form. In slender examples it is posterior to the body centre, but in broad ones it is subcentral and is often attached to the concave side of body. The parabasal body is conspicuous and lies at or near the posterior extremity of the body. The axoneme, arising from near the parabasal body, runs along the convex side of the body and projects beyond it as a free flagellum, as a rule only 15 long. In broad examples, it often runs along almost the entire periphery of the body. Roughly speaking, short broad examples are more numerous than slender ones. Division has been observed, though not frequently. This form is easily recognisable by its very active and peculiar movement" (MORISHITA 1935, pág. 471).

A proposito da divisão das formas de tripanosoma, deixamos assinalado que ainda não nos foi dado observar indivíduos em via de divisão.

Estas descrições dão uma idéia da semelhança das formas parasitárias do *Triatoma rubrofasciata* do Rio de Janeiro com as do mesmo hemíptero das ilhas Mauritius, Reunião e Formosa. Melhor do que elas, porém, os desenhos e microfotografias do presente trabalho mostram a morfologia do flagelado em diferentes fases de sua evolução no inseto e no animal, figurando a documentação original ao lado da reproduzida de outros autores para maior facilidade de comparação (ver explicação das estampas).

Ainda a respeito do parasitismo do inseto, diremos que, segundo a larga experiência de MORISHITA, êle se desenvolve todo na luz do tubo digestivo, principalmente no intestino médio e no intestino posterior, excepcionalmente nos tubos de Malpighi. O aparecimento de parasitos nas fezes pode dar-se apenas 13 dias após a refeição infectante, em muitos casos, 20 ou mais dias. Quanto à persistência do parasitismo, observou-a até 520 dias sem haver nenhuma influência nas metamorfoses do inseto; a alimentação dêste em animais de diferentes espécies e imunes, inclusive aves, não exerce influência nefasta sobre a infecção do transmissor, uma vez estabelecida.



Ao contrário do que asseverou LAFONT (1912 *b*) a respeito da existência de "quistos" no inseto, diremos com MORISHITA "No cysts nor any resistant forms have been found in *T. conorrhini*"... (1935, pág. 541).

Ainda não encontramos evidência, entretanto, para justificar a sua opinião de que "the life cycle of this flagellate in the insect body proceeds in two different lines: one leading to the leishmania form (leishmania cycle) and the other to the metacyclic trypanosome form (trypanosome cycle)" (MORISHITA 1935, pág. 539).

*Semelhança do TRYPANOSOMA CONORRHINI e do SCHIZOTRYPANUM CRUZI no hospedeiro intermediário*

Tratando-se de formas flageladas verificadas no intestino de hemípteros sugadores de sangue ocorrentes em regiões diametralmente opostas do globo, era natural que a semelhança entre elas fôsse inferida pela leitura de trabalhos realizados sem o confronto objetivo de ambas as espécies parasitárias.

Assim é que, logo ao descrever o seu *Trypanosoma boylei*, LAFONT (1912 *b*, pág. 914-915) refere expressivamente: "De même, beaucoup de nos formes: formes *Crithidia*, formes rondes et ovalaires, rapèllent les formes correspondantes de *Conorrhinus megistus* infectés de *Schizotrypanum cruzi*, à tel point qu'on les croirait parfois calqués les unes sur les autres". De passagem, faremos ressaltar que o autor não mencionou aqui as formas metacíclicas, que, como veremos, são as que mais distinguem um e outro parasito.

Aludindo aos trabalhos de LAFONT, LAVIER (1921) conjectura: "Aussi peut-on de demander s'il ne s'agirait pas de *Trypanosoma cruzi* avec lequel d'ailleurs il (*Trypanosoma boylei*) presente une grande ressemblance morphologique" (pág. 84).

WENYON (1926) também considera "closely related" ao *Schizotrypanum cruzi* o parasito estudado por LAFONT, cujas formas evolutivas "resemble very closely the stages of *T. cruzi* in its invertebrate host." Do mesmo modo SHORTT & SWANINATH (1928): The great resemblance shown by this parasite of *Triatoma rubrofasciata* to the forms of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma megista*"...

MORISHITA (1935) refere-se a "many points of resemblance" entre êstes flagelados no intestino do inseto, voltando a insistir sôbre isto em 1938, no Brasil: "Very interesting to note that morphologically this flagellate bears a close resemblance to the insectan forms of *Schizotrypanum cruzi*".

Diante destas citações, não é muito de admirar que as duas primeiras vêzes que flagelados foram encontrados no *Triatoma rubrofasciata* na Amé-

rica do Sul, não tenha sido feita uma identificação segura do protoziário, que foi tomado com o *Schizotrypanum cruzi*, conforme veremos mais adiante.

*Comparação entre as formas metacíclicas de TRYPANOSOMA CONORRHINI e de SCHIZOTRYPANUM CRUZI no transmissor*

Desde que os territórios de distribuição geográfica destes agentes parasitários, antigamente antípodas, pareceram confundir-se com a verificação do *Schizotrypanum cruzi* em macacos de Java e que agora definitivamente se confundem pelo encontro do *Trypanosoma conorrhini* na América do Sul, impõe-se a necessidade de procurarmos distinguir e caracterizar as respectivas formas evolutivas no barbeiro transmissor, já que no animal infectado os tripanosomas sanguícolas de cada um são de todo inconfundíveis.

As formas de críidia parecem-nos indistinguíveis e dificilmente poderão fornecer qualquer elemento de diferenciação, dada a sua extrema semelhança e variabilidade.

Quanto ao tripanosoma metacíclico, vimos que o do *T. conorrhini* tem um aspecto bastante peculiar, que o distingue com certa segurança e facilidade do *Schizotrypanum cruzi*. A forma metacíclica do *T. conorrhini* é bem menor que a do *S. cruzi* e tem o núcleo situado bem para trás, muito perto e às vezes junto do blefaroplasto. Além disto é muito característico o aspecto morfológico das formas atarracadas tão freqüentes nos barbeiros portadores do *T. conorrhini*. Claro está que ao exame individual de certas formas isoladas a distinção estará sujeita a dúvida, mas a observação de muitos elementos poderá facultar a identificação. O simples exame a fresco fornece dados de importância, relativos não só à forma e tamanho dos metacíclicos, como à mobilidade particular de certas formas *T. conorrhini*.

*Mensurações* — As medidas que obtivemos de 100 tripanosomas metacíclicos de *T. conorrhini* (de *Triatoma infestans* infectado por alimentação em animal inoculado) e de igual número de formas de *Schizotrypanum* (sendo 50 de *Triatoma rubrofasciata* de Nazaré, Pernambuco, e 50 de *P. megistus* do Distrito Federal) bem demonstram as diferenças de comprimento total entre os flagelados dos dois gêneros. Foi a seguinte a distribuição de frequência apurada:

	Comprimento total em $\mu$													Total medido		
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22		23	24
<i>T. conorrhini</i> . . . . .	2	9	24	15	25	17	5	3	—	—	—	—	—	—	—	100
<i>Schizotrypanum</i> . . . . .	—	—	—	—	—	1	1	8	28	15	18	22	5	1	1	100

Aplicado a estas distribuições o teste do  $\chi^2$ , obtivemos  $\chi^2 = 184,15$   $n' = 15$ , donde  $P = 0.000000$  (cf. DIAS & FREITAS 1943).

Pelos dados supra, a média do comprimento total foi de  $13.88 \mu$  para o *T. conorrhini* e de  $19.85 \mu$  para o *Schizotrypanum*. A variabilidade do comprimento total das formas metacíclicas em ambos os casos, avaliada

pelo desvio padrão, mostrou-se muito pequena e quase idêntica:  $\sigma = 1.532 \mu$  para o primeiro e  $\sigma = 1.625 \mu$  para o segundo.

O gráfico da fig. 2 representa expressivamente o resultado das referidas medidas, mostrando o grau de independência das duas distribuições de frequência.

Na figura 3 vemos algumas formas metacíclicas do intestino posterior de *Triatoma infestans*, 52 dias depois de sugar animal infectado com *Trypanosoma conorrhini* (camondongo n. 2.111).

Na marcação, à câmara clara, das 100 formas metacíclicas do *T. conorrhini* que foram medidas, houve seleção por parte do operador, que escolheu em farto material as formas mais perfeitas e bonitas, em detrimento

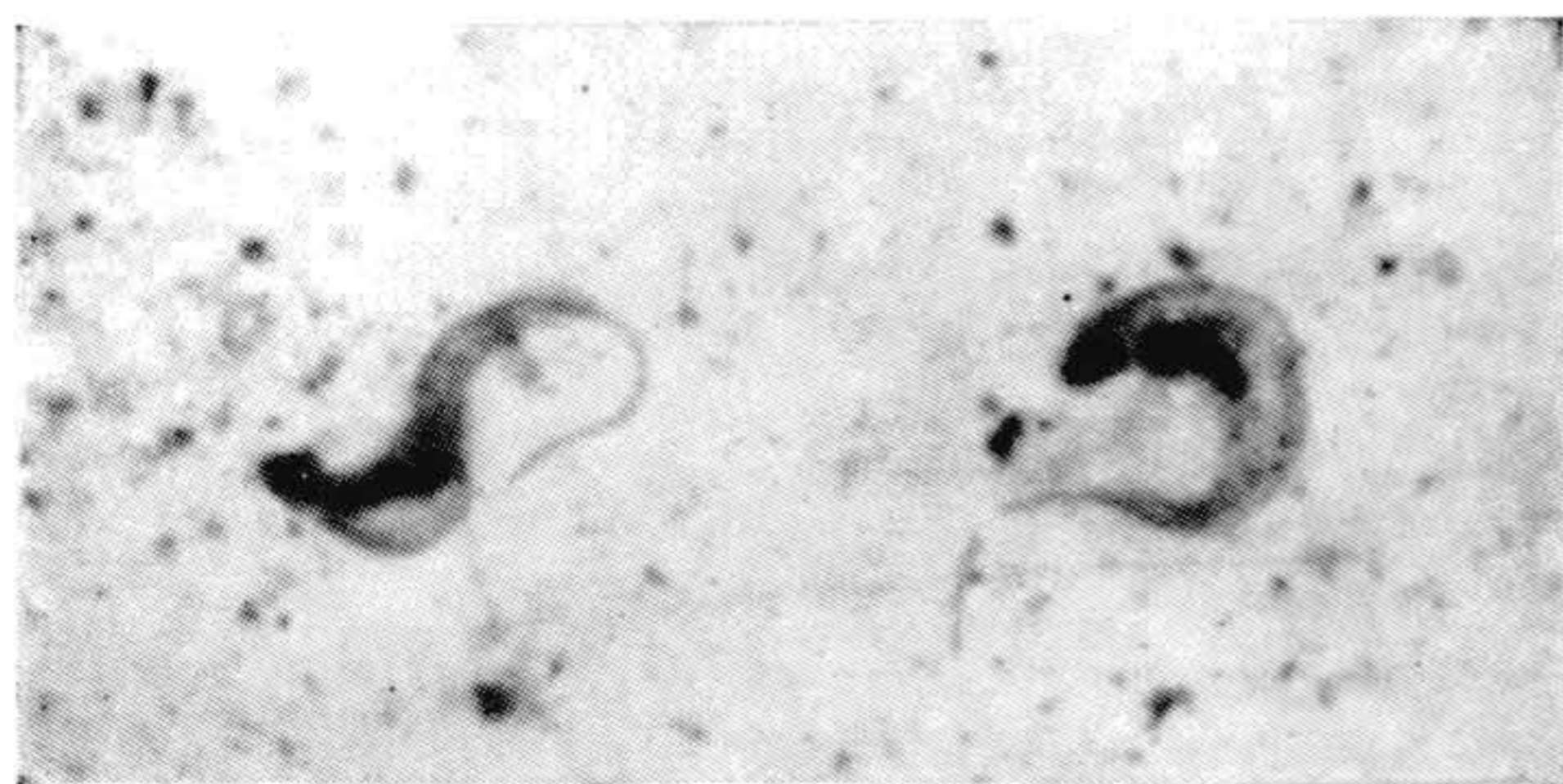


Fig. 3 — Trypanosomas metacíclicos de *T. conorrhini* no *Triatoma infestans*.

indivíduos com menos de  $10 \mu$ , inexistentes naquela distribuição.

Os primeiros dados que obtivemos sobre o comprimento total dos tripanosomas metacíclicos, comparativamente, em ambos os flagelados do barbeiro de que tratamos, referiam-se a apenas seis indivíduos de cada.

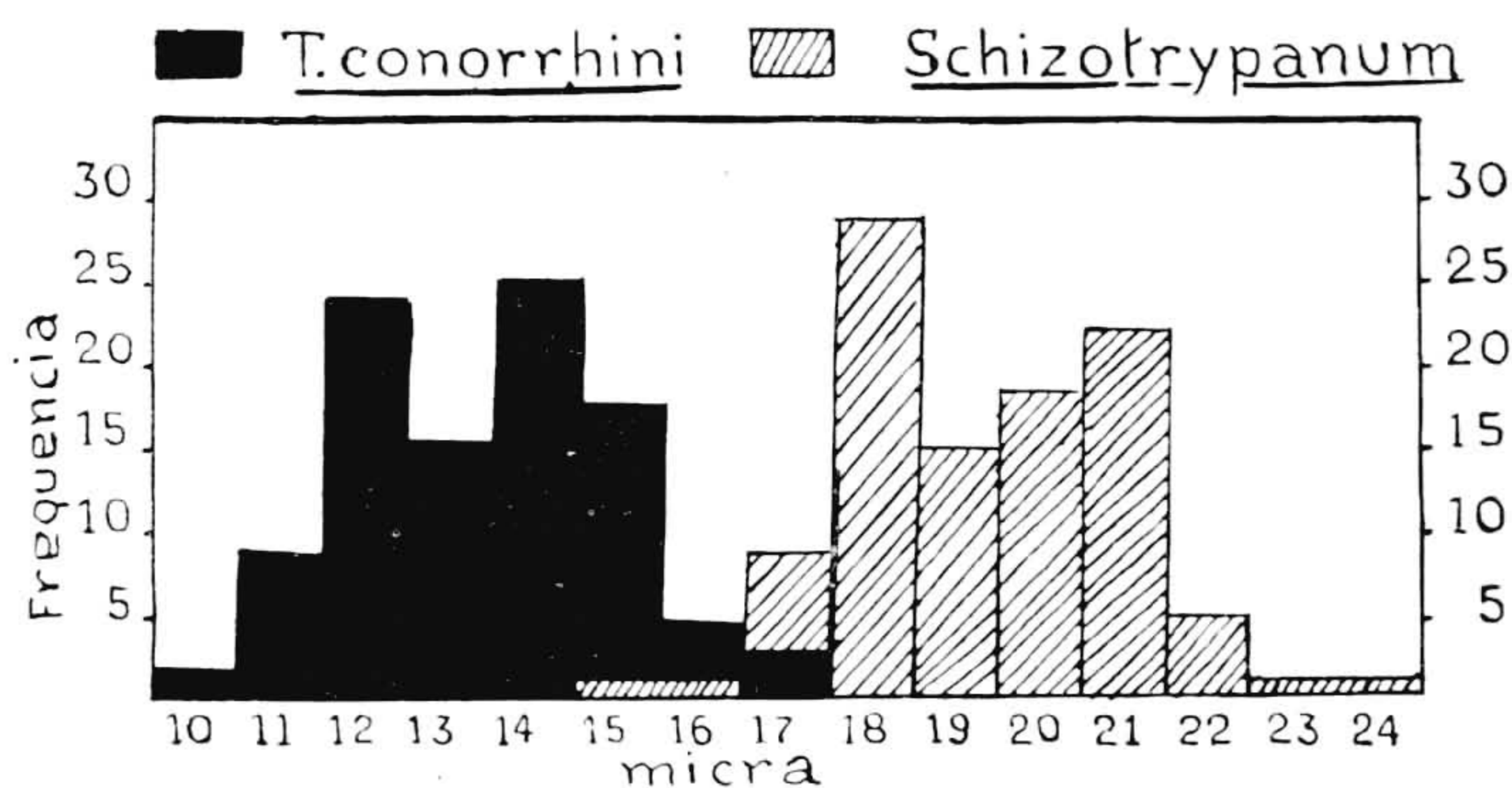


Fig. 2 — Distribuição de frequência das medidas do comprimento total de tripanosomas metacíclicos de *T. conorrhini* e de *Schizotrypanum* (100 formas de cada).

dos parasitos pequenos e largos, muitas vezes irregulares, cuja reprodução no desenho, em maior número, haveria de abaixar o limite inferior da distribuição de frequência verificada e portanto a média aritmética do comprimento total. Como já veremos, num escasso material que não comportava escôlha, em meia duzia de tripanosomas marcados foram encontrados

Vamos reproduzi-los, pois o *T. conorrhini* aqui foi medido em *T. rubrofasciata* espontâneamente infectado (Rio de Janeiro). O *Schizotrypanum cruzi* era também de barbeiro naturalmente parasitado (*Triatoma infestans* de Fartura, Estado de São Paulo), do qual foi isolada uma amostra com caracteres típicos do *S. cruzi* humano.

Tripanosoma n.	<i>T. conorrhini</i>	<i>S. cruzi</i>
1	9.7 $\mu$	22.0 $\mu$
2	12.8	21.3
3	16.4	20.1
4	13.4	18.3
5	10.9	20.7
6	8.5	23.1
Média	12.0	20.9

A estampa I do presente trabalho foi organizada com a finalidade de possibilitar a comparação entre as formas metacíclicas de *T. conorrhini* do intestino do *T. rubrofasciata* de diversas partes do mundo, entre si e também com as formas finais da evolução do *Schizotrypanum*. Assim, reproduzimos algumas figuras de LAFONT (1912b) (figs. 1-2-3) e de MORISHITA (1935) (figs 4 a 11), mostrando respectivamente os parasitos das ilhas Mauritius e Formosa; figuras originais mostram o parasito em *T. rubrofasciata* do Rio de Janeiro (figs. 12 a 16) e em *T. infestans* (figs. 17 a 39), e reproduzimos alguns dos desenhos de FLOCH & LAJUDIE (1940) mostrando o flagelado que observaram no *T. rubrofasciata* de Cayena. Na estampa II, composta sómente por desenhos originais, estão representados muitos aspectos da evolução do *T. conorrhini* do Rio de Janeiro, no *T. infestans*.

Quanto às formas sanguícolas de ambas as estampas, delas trataremos mais adiante.

Para maiores detalhes quanto ao material que serviu para as ilustrações, vide explicações das estampas I e II.

#### *Evolução em outras espécies de barbeiro*

Na natureza o *T. conorrhini* ainda não foi encontrado em invertebrados a não ser no seu agente transmissor intermediário, o *Triatoma rubrofasciata*.

Em condições experimentais MORISHITA (1935) verificou a possibilidade dele se desenvolver em outro hemíptero hematófago, o *Rhodnius prolixus*.

A amostra de *T. conorrhini* do Rio de Janeiro evoluiu facilmente nas seguintes espécies: *Triatoma infestans*, *Triatoma vitticeps*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus*. Novos resultados estão sendo esperados a êste respeito.

*Experimentação em animais*

Aparentemente, os primeiros ensaios no sentido de transmitir o *T. conorrhini* a animais, por inoculação e por picada de insetos naturalmente infectados, foram realizados por LAFONT (1912-a). Os resultados foram negativos em cobaia, coelho mangusta e macaco (*M. cynomolgus*). Nos ratos (*Mus decumanus* e *Mus rattus*), quando adultos, parasitos foram vistos até 24-30 horas, depois da inoculação intraperitoneal, na serosidade da cavidade abdominal, mas não no sangue periférico. No camondongo selvagem o parasito foi achado na circulação em período que variou entre seis horas e sete dias aí permanecendo visíveis somente de um a cinco dias. Nas primeiras horas, os parasitos assemelham-se às formas injetadas do inseto, transformando-se depois em tripanosomas grandes (28 a 42 $\mu$ ), de extremidade posterior muito afilado ou em forma de bico, com núcleo e blefaroplasto próximos um do outro. Os ensaios por picada foram sempre negativos.

No seu trabalho seguinte LAFONT (1912b) dá novos detalhes sobre a infecção do rato e do camondongo (*Mus musculus*) e refere a observação de um *Macacus cynomolgus* injetado no peritoneo com dose maciça de conteúdo intestinal de 5 *T. rubrofasciata*. No sangue do animal, 10 dias depois, um único tripanosoma de grandes dimensões foi observado a fresco, parasitos não tendo sido encontrados em preparados corados.

SHORTT & SWANINATH (1928) inocularam por via peritoneal dois camondongos brancos e uma cobaia com material de 8 *T. rubrofasciata* do Assam, examinando-lhes o sangue a curtos intervalos. A cobaia morreu negativa 10 dias depois e os camondongos apresentaram raros tripanosomas no sangue 13, 14 e 15 dias mais tarde, desaparecendo em seguida ao exame direto.

BONNE (1935, 1937) também estudou o assunto em Java: "Intraperitoneal injection of these Crithidia in mice produced infections of these animals with trypanosomes of large size... The trypanosomes were always very scanty and usually difficult to find even in thick drop preparation. If trypanosomes could not be detected in the blood of the mice by direct microscopical examination it was usually possible to demonstrate their presence by BRUMPT'S xenodiagnostic method" (BONNE 1937, pág. 395).

No rato (*Rattus rattus diardi*) com infecção natural, segundo o mesmo autor, os tripanosomas são também muito escassos e talvez inconstantemente presentes no sangue. Mesmo num rato no qual o xenodiagnóstico revelou a existência de uma infecção duradoura, parasitos nunca puderam ser encontrados no sangue periférico em gotas espessas. Uma de suas importantes

conclusões é a de que "*A leishmania tissue stage is absent in the vertebrate host*".

A infecção experimental do camundongo foi minuciosamente estudada por MORISHITA (1935), que nas seguintes conclusões de seu trabalho resume os principais fatos a respeito :

- “16. *T. conorrhini* may appear in the peripheral blood as soon as after the intraperitoneal injection of the gut contents, although in some cases the first appearance was as late as 8 days after. This difference in the incubation period seems to be attributable to variable number of metacyclic trypanosome forms present in the injected material; in oral infections the incubation period was 1 day and in percutaneous 11 days. days.
17. Under experimental conditions the infection by *T. conorrhini* lasts in normal mice for 1.36 days, correlated to the number of the trypanosomes appearing in the blood. Heavy infections last on the average for 12.8 days; light infections for 19.4 days.
18. The number of parasites in the peripheral blood is not subject to much variation, but depends upon the number introduced by the inoculation.
19. Similar peculiarity is also observed in young mice, contrary to the expectation that they may be less resistant.
20. Sub-inoculation of the mammalian form has not succeeded beyond the first and even the first sub-inoculation resulted in very light infections.”

Voltando mais tarde ao assunto, MORISHITA (1938) assinala que: “this early appearance in the peripheral blood reveals that they do not undergo their division in any tissue of host, which is, however the case in *Schizotrypanum cruzi*.” Este é um caráter de grande importância para a distinção entre os gêneros *Trypanosoma* e *Schizotrypanum* (v. DIAS 1939).

O referido autor aparentemente não trabalhou senão com poucas espécies animais, pois no sumário refere apenas que o *T. conorrhini* pode transformar-se em tripanosomas típicos quando inoculado em camundongos e em ratos, mas não em pombos.

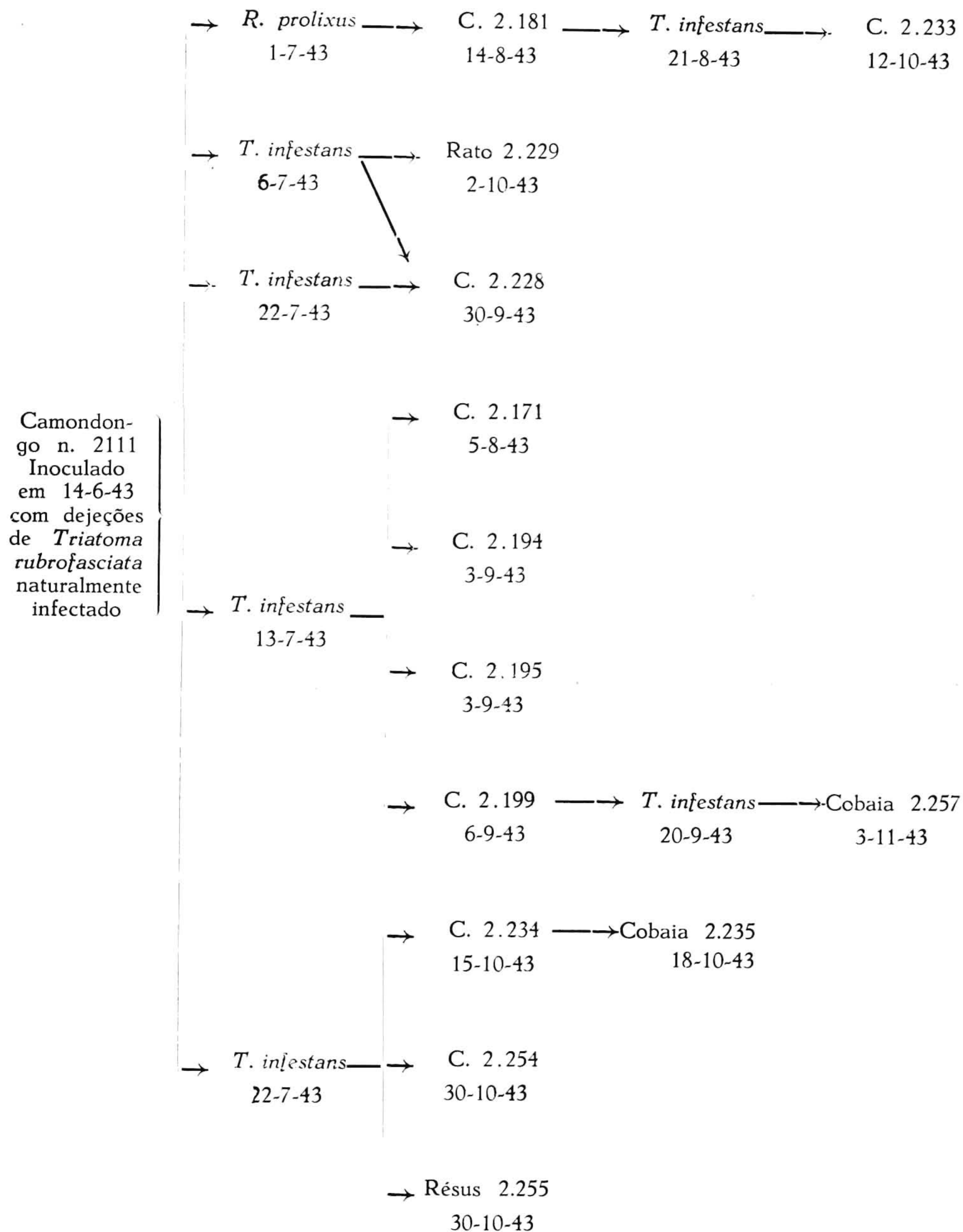
Uma verificação sua que muito nos interessa é a de que “Animals recovered from the infection of *T. conorrhini* can be readily infected with *T. cruzi*...” (MORISHITA 1935, pág. 541), acrescentando porém, sem que pos-

samos atinar com suas razões, "... which seems to be biologically similar to the former".

Nossa experiência em animais é ainda limitada, com o *T. conorrhini*. Obtivemos a infecção inicialmente em camondongo branco por inoculação intraperitoneal de dejeções de *T. rubrofasciata*, e depois em outros animais, como ratos e résus. A via mencionada foi constantemente a usada, embora às vezes simultaneamente utilizássemos outra vias, como a subcutânea, a digestiva e a conjuntival.

O esquema genealógico anexo mostra o passado de nossa amostra, desde o seu isolamento em junho de 1943. Por êle se vê que não foram feitas inoculações diretas de animal a animal, mas sempre com passagem pelo triatomídeo, alternando o animal com o inseto, a não ser no caso da cobaia 2.235. Na sua grande maioria as infecções obtidas foram inaparentes, só reveladas pelo xenodiagnóstico. Sòmente em três oportunidades nos foi dado observar o tripanosoma em exame de sangue entre lâmina e lamínula no camondongo 2.111 (14 dias depois da inoculação), no camondongo 2.234 (três dias e) no resus 2.255 (cinco dias). Nas outras vezes a infecção é evidenciada pelo xeno, como dissemos, motivo pelo qual ainda não há tempo para apurarmos o resultado de certas inoculações mais recentes (cobaia 2.257, cobaia 2.235 e outras).

"GENEALOGIA" DA AMOSTRA DE *TRYPANOSOMA CONORRHINI* DE *TRIA-TOMA RUBROFASCIATA* DO RIO DE JANEIRO



As datas, quando sob o nome de barbeiros, indicam o dia de alimentação destes em animais infectados, e sob animais indicam o dia da inoculação. C = camundongo branco.



O animal que pudemos observar por tempo mais prolongado foi o camondongo nº 2111 primeiro inoculado. Contra um único exame a fresco positivo teve 25 negativos, até a data da morte, 24-8-1943. No mesmo dia em que foi positivo no sangue (26-8-43) o exsudato peritoneal, puncionado e examinado a fresco, estava negativo.

Todos os xenodiagnósticos praticados neste animal foram positivos:

#### XENODIAGNÓSTICOS DO CAMONDONGO 2.111

Data	Resultado	Espécies infectadas	Data 1. <sup>o</sup> exame positivo
28-6-43	positivo	<i>Rhodnius prolixus</i>	17-7-43
1-7-43	positivo	<i>T. infestans</i> , <i>R. prolixus</i>	14-8-43
6-7-43	positivo	<i>T. infestans</i>	14-8-43
13-7-43	positivo	<i>T. infestans</i>	5-8-43
22-7-43	positivo	<i>P. megistus</i> , <i>T. infestans</i>	3-9-43
6-8-43	positivo	<i>T. infestans</i>	3-9-43

Uma infecção inaparente foi portanto revelada até 53 dias depois da inoculação, enquanto que ao exame a fresco foi visto apenas uma vez um tripanosoma.

Uma indicação de que a infecção pode durar muito mais tempo em estado inaparente é o fato de que os animais que sobrevivem adquirem, segundo MORISHITA (1935), uma imunidade absoluta contra re-infecção, a qual pode ser retida até 107 dias, e vai decrescendo daí por diante de modo a que 165 dias depois do desaparecimento dos parasitos da circulação, a reinfecção é possível: "After a certain duration of infection, however, complete immunity is the result, even if splenectomy is carried out" (p. 541).

Em ratos com infecção natural acompanhados pelo xeno, BONNE (1937) observou a persistência do parasitismo durante pelo menos três meses.

#### MORFOLOGIA DO TRIPANOSOMA NO SANGUE

Para MORISHITA (1935, pág. 539), "The most striking characteristics of the mammalian form of *T. conorrhini* is its extraordinarily elongated body with thread-like posterior part, and the presence of a pot-shaped structure just in front of the parabasal body".

BONNE (1937) considera característicos os seguintes *items*: 1) a posição típica do macronúcleo, adjacente ao corpúsculo parabasal; 2) as amplas curvas da membrana ondulante; 3) a extremidade posterior muito longa e pontea-guda.

Estas descrições correspondem aos tripanosomas por nós observados no sangue do camundongo branco e do rêsus, como se pode ver pelas nossas figuras (Estampa I, 59-60, Est. II, 1-2-3-4) que muito se assemelham às de LAFONT (1912*b*), MORISHITA (1935) e BONNE (1937) (Est. I, 56-57-58, respectivamente). Além disto, tivemos ensêjo de examinar uma preparação do Dr. MORISHITA, por êle doada à Secção de Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz, quando ali esteve em 1937. Ao Dr. JULIO MUNIZ, chefe desta Secção, agradecemos a oportunidade dêste exame, que nos permitiu estabelecer com maior segurança a identidade do tripanosoma transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata* no Rio de Janeiro, com o do mesmo inseto na ilha da Formosa, no Oriente.

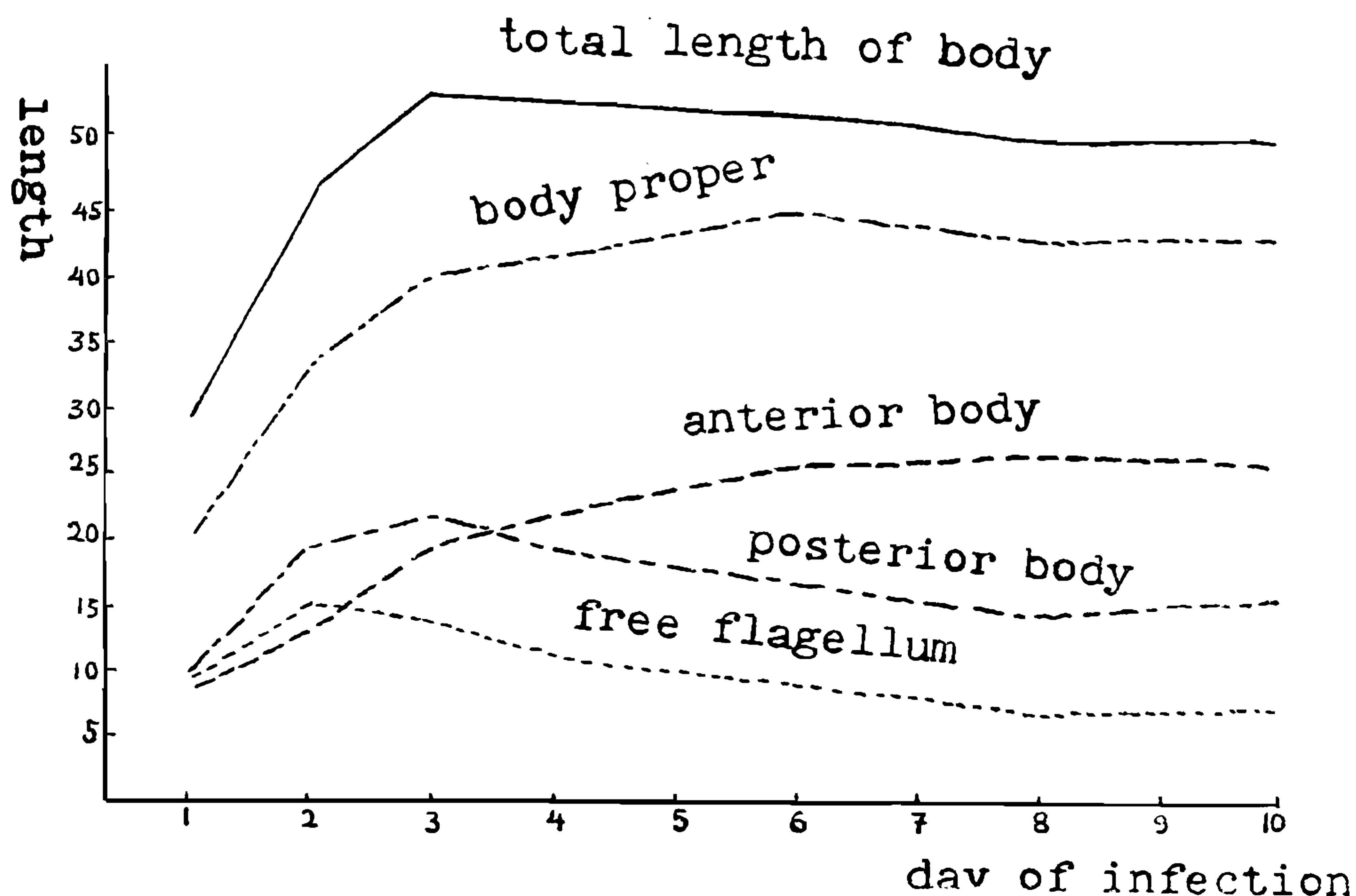


Fig. 4 — Modificações do comprimento das diferentes partes do tripanosoma no decurso da infecção no camundongo; média de 10 indivíduos para cada dia. Segundo Morishita 1935, fig. 3, pág. 489.

Desde LAFONT (1912*b*) sabe-se que nas primeiras horas após a inoculação de dejeções contaminadas, os flagelados passam para o sangue, onde conservam por algum tempo o mesmo aspecto dos tripanosomas do inseto, transformando-se depois nos grandes tripanosomas já descritos. MORISHITA (1935) estudou em detalhe a marcha inicial da infecção, acompanhando dia a dia as dimensões dos parasitos no sangue, cujas variações representou em gráfico que reproduzimos na figura 4.

Como tem sido muito escassas as infecções que temos obtido, ainda não conseguimos encontrar tripanosomas no sangue em esfregaços fixados e corados. Entretanto, pudemos observá-los em gotas espessas feitas por um processo bastante adequado ao estudo da morfologia do hemoflagelado, como se vê pelas nossas figuras (Est. I, 59-60, Est. II, 1-2-3-4) que mostram parasitos desenhados de referidas preparações. É um processo muito bom, que será brevemente descrito pelo Dr. ERRECART, do Uruguai; dêle tivemos conhecimento por intermédio do Professor RODOLFO TÁLICE, que nô-lo aconselhou para a observação, em boas condições, do *S. cruzi* em gotas espessas.

Dos tripanosomas que vimos e figurámos foram tomadas as medidas que estão abaixo relacionadas.

#### MEDIDAS DO *T. CONORRHINI* NO SANGUE DE ANIMAIS ( $\mu$ )

Tripanosomas	Camond. 2234		Résus 2255			
	I	II	I	II	III	IV
Extr. post — blefaropl.....	9.1	6.7	12.8	12.2	12.8	13.4
Blefaroplasto — núcleo.....	4.2	3.0	6.1	4.8	5.4	4.8
Núcleo — extr. anterior.....	17.0	20.7	26.8	27.5	28.1	26.8
Flagelo livre.....	10.9	9.1	9.1	10.4	11.0	11.0
Comprimento total.....	41.2	40.0	54.8	54.9	57.3	56.0

Nos dois animais os tripanosomas foram medidos no quarto dia de infecção, mas apesar disto observam-se sensíveis diferenças de tamanho, sendo os do camondongo bem menores do que os do résus. Estas diferenças, entretanto, podem perfeitamente estar dentro dos limites de variação, o que não pode ser esclarecido em número tão reduzido de espécimens observados e medidos.

*Multiplicação.* Não se conhece ainda o processo de multiplicação do *T. conorrhini* no animal sensível, e nem se sabe mesmo se há multiplicação. Tripanosomas nunca foram vistos no sangue com evidência de divisão, embora intensas infecções já tenham sido obtidas. Formas especiais de multiplicação também não foram encontradas nos tecidos dos animais infectados.

*Pesquisa do T. Conorrhini em ratos do Rio de Janeiro.* — Até agora os autores tiveram oportunidade de praticar o xenodiagnóstico em cinco ratos do Quartel da Policia Especial, onde tem sido capturado exemplares de *T. rubrofasciata*, tendo sido negativos todos os resultados.

*Possibilidade do T. conorrhini ter sido previamente encontrado na América do Sul.*

Esta hipótese não pode deixar de ser feita após a leitura dos trabalhos de LUCENA (1940) e de FLOCH & DE LAJUDIE (1942), que passamos a resumir e analisar.

O primeiro autor encontrou no Recife, em abril de 1939, à noite e dentro de casa, quatro *T. rubrofasciata* adultos, três dos quais apresentavam no intestino critídias e tripanosomas metacíclicos. Estes últimos, a fresco, “assemelhavam-se consideravelmente” ao *S. cruzi*; corados, “as formas menores mediam  $9.8 \mu$  e as maiores  $13.3 \mu$ . Inoculações foram praticadas em duas cobaias jovens, de 15 dias de idade, em 8-4-1939, morrendo os animais em 17-4-39. Exames negativos do sangue foram feitos nos dias 10, 11, 12 e 13. Exame histológico, negativo. Xenodiagnósticos positivos são referidos nos dias 11, 13 e 15-4-39, não havendo porém referência à morfologia dos flagelados observados nos insetos de prova, que foram das espécies *T. rubrofasciata* e *P. megistus*.

FLOCH & LAJUDIE (1942) encontraram em Cayena 2 *T. rubrofasciata* infectados por um “esquizotripanosoma” de que dão vários desenhos. Mencionam inoculação positiva em rato branco, sem dizer, contudo, se chegaram a observar o parasito no sangue, nem como.

Se de um lado, em ambos os casos, faltou a demonstração de que fôsse um *Schizotrypanum* o flagelado observado, de outro lado consideramos muito possível que se tratasse do próprio *Trypanosoma conorrhini*, pelas razões que passaremos a expor.

a) no sangue dos animais inoculados não foi observado, ou descrito, o aspecto morfológico do tripanosoma;

b) a morfologia das formas metacíclicas, mostrada pelas figuras dos citados trabalhos, é bastante sugestiva do estágio final do *T. conorrhini* no inseto (v. nossa estampa I, figs. 40-41-42-43);

c) as dimensões das formas metacíclicas referidas por LUCENA (1940), de  $9.8 \mu$  a  $13.3 \mu$ , acham-se bem dentro dos limites de variação do comprimento das mesmas formas do *T. conorrhini* e fóra dos do *S. cruzi*. Os autores franceses não referem mensurações e não indicam o aumento de sua figura n. 4;

d) LUCENA consigna um xenodiagnóstico positivo em cobaia inoculada com dejeções de barbeiro havia apenas três dias, o que fala a favor do *T. conorrhini*, que passa rapidamente para o sangue, e contra o *S. cruzi*, que nas

inoculações de metacíclicos só aparece no sangue quatro a cinco dias depois, em seguida à evolução característica do gênero no interior dos tecidos (v. DIAS 1936-b, pág. 113-117). Terminando estas considerações sobre o trabalho deste pesquisador patricio, não podemos deixar de referir que um de nós (E. D.) teve ensêjo de sugerir-lhe verbalmente, ao ser solicitada sua opinião sobre o trabalho, que aguardasse a observação das formas sanguícolas, que identificariam fóra de qualquer dúvida o parasito, antes de publicar as suas observações. Aliás, sobre o assunto já havia aparecido uma nota prévia, por LUCENA e MAGALHÃES NETTO (1939).

Com referência ainda às investigações na Guiana Francesa, FLOCH (1943) relata que dentre 88 exemplares de *T. rubrofasciata* capturados e examinados, 31 estavam infectados por flagelados indenticos ao *S. cruzi*; inoculações em cobaia, porém, não determinaram infecções aparentes e apenas uma vez foi evidenciada a presença de parasitos por meio de xenodiagnóstico. Estes resultados vêm ainda corroborar na hipótese de que aquela espécie de barbeiro cosmopolita é também portadora do *T. conorrhini* na referida colônia francesa sul-americana.

A existência da infecção natural do *T. rubrofasciata* por flagelados do gênero *Schizotrypanum* foi demonstrada no Estado de Pernambuco por DIAS e NEVES (1943), em trabalho que deverá aparecer juntamente com o presente.

#### *Os triatomas como possíveis transmissores de parasitos do gênero Trypanosoma*

Baseado na opinião de WENYON (1926), DIAS (1936) chegou a admitir que provavelmente todos os flagelados encontrados no tubo digestivo de hemípteros hematófagos (Reduviidae) fôsem formas evolutivas de flagelados do gênero *Schizotrypanum*, considerando entre eles o *Trypanosoma boylei* LAFONT, do *Triatoma rubrofasciata*. Reforçava aparêntemente este ponto de vista, o fato de que tôdas as tentativas realizadas no sentido de se conseguir a evolução de verdadeiros tripanosomas nos triatomídeos, haviam sempre resultado negativas. A verdade, porém, é que o *T. conorrhini* é um *Trypanosoma* cujo vector intermediário natural é um triatoma, o *T. rubrofasciata*, capaz além disto de evoluir em outras espécies de triatomídeos em condições experimentais. Além deste tripanosoma ainda não se conhecem outros do mesmo gênero certamente capazes de desenvolver-se nestes hemípteros.

Julgamos de utilidade reunir no quadro anexo uma série de espécies do gênero *Trypanosoma* cuja evolução artificial foi tentada sem resultado em diferentes espécies de barbeiro. Dentre êsses tripanosomas têm especial importância o *T. lewisi* e o *T. neotomae* que, como o *T. conorrhini*, são para-

sitos de ratos; aqueles, porém, têm como transmissores naturais as pulgas. Assim, o xenodiagnóstico com barbeiros "puros" representa um meio para a distinção entre aqueles dois tripanosomas e o *T. conorrhini*. Não se deve, porém, esquecer que a dissecação dos insetos de prova nas primeiras horas pode ainda revelar a existência de formas móveis de *T. lewisi* ou de *T. neotomae* no estômago, em via de destruição. Com o *T. conorrhini*, ao contrário, o parasitismo tende a estabelecer-se no barbeiro, particularmente no *Triatoma rubrofasciata* e no *Triatoma infestans*, como vimos.

Recentemente FLOCH, LAJUDIE & ABONNENC (1941) descreveram num tamanduá da Guiana Francesa, *Myrmecophaga tridactyla*, um grande tripanosoma do grupo *lewisi*, suscetível, a seu ver, de evoluir no *Rhodnius prolixus*. Alimentando uma larva de *Rhodnius* no segundo estágio no animal infectado, verificaram que o inseto "à présenté au 2ème jour, de nombreux flagellés dans ses déjections". Referem os autores que "l'aspect du parasite rappelle indiscutablement celui de la forme sanguine", achando também que esse aspecto lembra o figurado por TEJERA (1920) para o *Trypanosoma rangeli* do intestino do *Rhodnius prolixus* da Venezuela. Se bem que seja perfeitamente possível a existência de mais de um tripanosoma suscetível de evolução em triatomídeo, julgamos dever-se esperar a confirmação do fato em melhores condições de observação.

Ainda mais recentemente FLOCH & ABONNENC (1942), fazendo *R. prolixus* picar um *Cebus* sp. (*fulvus*?), em cujo sangue não haviam encontrado tripanosomas ao exame em gota espessa, verificaram nas dejeções do inseto flagelados com a morfologia muito semelhante à do *Trypanosoma rangeli*, não precisando, entretanto, as condições em que trabalharam.

#### ENSAIOS NEGATIVOS DE EVOLUÇÃO DE TRIPANOSOMAS EM BARBEIROS

TRYPANOSOMA	BARBEIRO	AUTORIDADE
<i>T. akodoni</i>	<i>T. infestans</i>	CARINI & MACIEL 1915.
<i>T. brucei</i>	<i>T. protracta</i>	PACKCHANIAN 1938
"	<i>P. megistus</i>	"
"	<i>T. sanguisuga ambigua</i>	"
<i>T. equinum</i>	<i>T. infestans</i>	"
"	"	MAYER (cit. por MALAMOS 1935)
"	<i>P. megistus</i>	MUNIZ & DIAS (cit. por DIAS 1936)
"	<i>T. sordida</i>	" " " " " " "
<i>T. equiperdum</i>	<i>P. megistus</i>	DIAS 1936-A
<i>T. evansi</i>	<i>T. rubrofasciata</i>	LAFONT 1912
<i>T. gambiense</i>	<i>P. megistus</i>	DIAS 1936
<i>T. hippicum</i>	<i>T. protracta</i>	PACKCHANIAN 1938
"	<i>T. sanguisuga ambigua</i>	"
"	<i>P. megistus</i>	"
<i>T. lewisi</i>	<i>T. infestans</i>	MAGGIO & ROSEMBUSCH 1936

TRYPANOSOMA	BARBEIRO	AUTORIDADE
<i>T. lewisi</i>	<i>T. infestans</i>	MALAMOS 1935
"	<i>T. protracta</i>	KOFOID & DONAT 1933
"	"	WOOD 1936
"	<i>T. rubrofasciata</i>	BONNE 1936
<i>T. minasense</i>	<i>T. infestans</i>	DIAS 1936-B
<i>T. neotomae</i>	<i>T. protracta</i>	WOOD 1936
<i>T. neveulemairei</i>	<i>T. rubrovaria</i>	BRUMPT 1928
<i>T. venezuelense</i>	<i>T. prolixus</i>	TORREALBA 1935
"	<i>T. maculata</i>	TORREALBA 1935
<i>Trypanosoma</i> sp. (*)	<i>T. prolixus</i>	REY MATIZ 1941

### Resumo e conclusões

Os autores, após historiar a descoberta do *Trypanosoma conorrhini* (DONOVAN, 1909) (sinonimia *Crithidia conorrhini* DONOVAN, 1909, *Trypanosoma boylei* LAFONT, 1912) no inseto transmissor e no hospedeiro vertebrado, o *Rattus rattus diardi*, fazem um estudo sumário do seu vector intermediário, o barbeiro cosmopolita *Triatoma rubrofasciata* (DE GEER, 1773).

Em seguida, referem a captura, no centro da cidade do Rio de Janeiro, Brasil, de um exemplar adulto d'êste barbeiro parasitado por flagelados que foram identificados ao *Trypanosoma conorrhini*, fato êste pela primeira vez verificado no Novo Mundo.

Certas formas evolutivas d'êste parasito no inseto são muito semelhantes às do *Schizotrypanum cruzi*, mas os tripanosomas metacíclicos apresentam alguns caracteres morfológicos que permitem seu reconhecimento: os mais notáveis são o pequeno tamanho e a colocação do núcleo muito para trás, bem junto ao blefaroplasto. São dadas as medidas de 100 tripanosomas metacíclicos do *T. conorrhini* e de *Schizotrypanum*, cujo comprimento total médio foi, respectivamente, 13.88  $\mu$  e 19.85  $\mu$ .

Nas seguintes espécies de barbeiro foi facilmente obtida a evolução do *Trypanosoma conorrhini*: *Triatoma infestans*, *Triatoma vitticeps*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*.

Por inoculação de triatomas infectados foi obtida a transmissão do *T. conorrhini* ao camondongo branco, ao rato e ao macaco *rhesus*. As infecções foram muito fracas, custando-se a ver o tripanosoma no sangue, a fresco. Em gotas espessas êle é encontrado com mais facilidade, mas o método de escôlha para verificação da sua presença no sangue dos animais é o xenodiagnóstico. Nesta prova o *Triatoma infestans* foi empregado com os resultados mais favoráveis. Por êste processo foi observada a infecção inaparente de um camondongo até 53 dias depois da inoculação.

(\*) Parasito de roedor, *Dasyprocta variegata*.

A forma sanguícola do *T. conorrhini* é um tripanosoma típico, de grande dimensões (40-60 $\mu$ ), de extremidade posterior muito alongada e pontuda, membrana ondulante ampla e com largas pregas, blefaroplasto subcentral; em muitos indivíduos é notável uma estrutura particular, junto e à frente do blefaroplasto.

Poucas horas depois de inoculados com as dejeções, os flagelados passam para a circulação, transformando-se em 3-4 dias nos grandes tripanosomas que acabam de ser descritos. O número de parasitos depende do número de flagelados inoculados. Não se conhece o processo de multiplicação do *T. conorrhini* no vertebrado, nunca tendo sido observados tripanosomas em via de divisão no sangue nem formas proliferativas nos tecidos. As sub-inoculações (de animal a animal) em geral não passam da primeira (MORISHITA, 1935).

Tentativas até agora realizadas por outros pesquisadores no sentido de cultivar o *T. conorrhini* a partir do sangue de animais infectados, têm sido negativas.

Por enquanto as pesquisas tendentes a determinar o hospedeiro vertebrado do parasito no Rio de Janeiro limitam-se à aplicação do xenodiagnóstico em cinco ratos do Mórro de Santo Antônio, cujo resultado foi negativo.

A presença do *T. conorrhini* na América do Sul, onde ha extensas zonas de doença de Chagas, deve estar bem presente no espírito dos investigadores durante as pesquisas neste terreno, para evitar possíveis enganos, que provavelmente já ocorreram antes de demonstrada a existência daquele flagelado, cujo transmissor é também um hemiptero hematófago.

Até agora o *T. conorrhini* parece ser o único do gênero *Trypanosoma* transmitido em condições naturais por triatomídeos. Os autores dão uma lista de varias espécies cuja evolução foi ensaiada com resultados negativos em diversas espécies dêstes hematófagos.

#### *English summary*

In the present paper details are given on the discovery of *Trypanosoma conorrhini* (DONOVAN, 1909) (syn. *Crithidia conorrhini* DONOVAN, 1909; *Trypanosoma boylei* LAFONT, 1912) in its insect vector, *Triatoma rubrofasciata* (DE GEER, 1773) and in its vertebrate host, the rat (*Rattus rattus diardi*). The universal geographic distribution of *Triatoma rubrofasciata* is recorded.

The writers report the finding in Rio de Janeiro, Brazil, of an adult example of *T. rubrofasciata* infected with flagellates that are referable to *Trypanosoma conorrhini*.



The close resemblance of certain forms of this flagellate to the insectan forms of *Schizotrypanum cruzi* is emphasized. Metacyclic trypanosome forms of each species, however, may be distinguished; those of *Trypanosoma conorrhini* are shorter and their nucleus is closer to the parabasal body than in *Schizotrypanum cruzi*. Data concerning the measures of 100 metacyclic forms of each species are given: The mean total length of *T. conorrhini* was 13.88 $\mu$  and that of *Schizotrypanum* was 19.85 $\mu$ .

The experimental evolution of *T. conorrhini* has been easily obtained in *Triatoma infestans*, *Triatoma vitticeps*, *Rhodnius prolixus* and *Panstrongylus megistus*.

By the intraperitoneal inoculation of white mouse, rat and Rhesus monkey light infection were produced. Parasites were rarely seen in fresh blood preparations, but could be easily demonstrated in the peripheral blood of apparently recovered mice until 53 days after the inoculation, by "xenodiagnosis".

The blood form of *Trypanosoma conorrhini* is a large trypanosome with long and pointed posterior end, a sub-central parabasal body with a particular pot-shaped structure just in front of it, and a wide undulating membrane.

A few hours after the peritoneal inoculation of the gut contents of infected *Triatoma rubrofasciata* parasites may appear in the blood, where in 3-4-days they reach the large size of the typical trypanosome form. The number of trypanosomes in the peripheral blood depends upon the number of parasites in the inoculum.

It is interesting to note that so far division forms of *T. conorrhini* have never been found in the blood or tissues of infected animals. Sub-inoculation of the blood forms usually do not succeed beyond the first, and even the first sub-inoculation result in very light infection. Cultures from the infected animal blood have not yet succeeded (MORISHITA, 1935).

So far *Trypanosoma conorrhini* appear to be the only species of *Trypanosoma* transmitted by reduviid-bugs; a list is given of trypanosomes which failed to develop in such bugs on experimental conditions.

#### BIBLIOGRAFIA CITADA

BONNE, C.

1935. Over de Crithidien van *Triatoma rubrofasciata* de Geer. Geneeskundig Grydschrift voor Nederlandsch Indie 75 (17) : 1490; 75 (25) : 2.098-2.100.

1936. Over de Crithidien van *Triatoma rubrofasciata* de Geer. Ref. no Trop. Dis. Bul. 34 (7) : 565-566.

BONNE, C.

1937. The natural host of *Trypanosoma* (Crithidia) *conorrhini*, Donovan. Am. Jour. Trop. Med. 17 (3) : 393-399.

BONNE, C. & MOOY, W.

1937. Ueber *Trypanosoma conorrhini*, eine Trypanosomenart der Hauratte auf Java und ihre Uebertragung.  
Festschrift Bernhardt Nocht, Hamburg, : 46-48.

BRUMPT, E.

1928. Un nouveau Trypanosome : *Trypanosoma neveu-lemairei* n. sp. de la grenouille verte (*Rana esculenta*).  
Anales Parasit. 6 (1) : 18-22.

CARINI, A. & MACIEL, J.

1915. Sur une hémogregarine et un trypanosome d'un Muridé (*Akodon fuliginosus*)  
Bull. Soc. Path. Exotique 8 (4) : 165-169.

DIAS, E.

- 1936-a) Revisão geral dos Hemoflagelados de Chirópteros.  
IX Reunião Soc. Argentina Patol. Reg., 1 : 10-88.
- 1936-b) Xenodiagnóstico e algumas verificações epidemiológicas na molestia de Chagas.  
IX Reunião Soc. Argentina Patol. Reg., 1 : 89-119.
1939. O gênero *Schizotrypanum* Chagas, 1909.  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 34 (2) : 193-227.  
(in Port. & English).
1943. Presença de *Panstrongylus megistus* infectado por *Schizotrypanum* no Rio de Janeiro, D. F.  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 38 (2) : 177-180.

DIAS, E. & FREITAS L.

1943. Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero *Schizotrypanum*.  
I — Introdução, material e técnica, problema e métodos estatísticos.  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 38 (3) : 427-436.

DIAS, E. & NEVES, O.

1943. Determinação de infecção natural por *Schizotrypanum* em *Triatoma rubrofasciata* no Estado de Pernambuco.  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 39 (3) : 329-332.

DONOVAN, C.

1909. Kala-azar in Madras. Tran. Bombay Med. Congr., 1909 Feb., 24 th. 159.  
(Citado por Morishita, 1935).

ELKELES, G.

1940. Investigaciones sobre la evolución del *Trypanosoma cruzi*.  
Objeciones contra el concepto actual, y fundamentos para un nuevo concepto sobre la evolución del trypanosoma.  
Rev. Soc. Argentina Biol. 16 (8) : 763-776.
1942. Investigaciones sobre el ciclo evolutivo del *Trypanosoma cruzi*.  
Nueva teoría sobre la evolución de la forma tripanosómica.  
Nueva técnica de fijación húmeda.  
Semana Med., B. Aires, 49 (2.529) : 1-17.

FLOCH, H.

1943. Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et du Territoire de l'Inini pendant l'année de 1942. Cayenne, Impr. du Gouv. 71 pág.

FLOCH, H. & ABONNENC, E.

1942. Trypanosomes évoluant dans le tube digestif de *R. prolixus*.  
Inst. Pasteur Guyane Fr. Terr. l'Inini 54 : 1-2.

FLOCH, H. & DE LAJUDIE, P.

1942. *Cabassus lugubris* et *Didelphis cancrivora* naturellement infectés par *S. cruzi* en Guyane Française. *Triatoma rubrofasciata* vecteur naturel.  
Ins. Pasteur Guyane Terr. l'Inini 45 : 1-4.

FLOCH, H., DE LAJUDIE, P. & ABONNENC, E.

1941. Un trypanosome d'un édenté (*Myrmecophaga tridactyla*) susceptible d'évoluer dans le tube digestif de *Rhodnius prolixus*.  
Inst. Pasteur Guyane Fr. Terr. l'Inini 25 : 1-6.

HASE, A.

1932. Beobachtungen an venezolanischen Triatoma-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der Triatomidae (Hemipt.-Heterop.).  
Zeitschr. f. Parasitenk. 4 (4) : 585-652.

KNOWLES, R.

1928. An Introduction to medical Protozoology. Calcutta.

KOFOID, C. & DONAT, F.

1933. Experimental infection with *Trypanosoma cruzi* from intestine of cone-nose bug *Triatoma protracta*.  
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 30 : 489-491.

LAFONT, A.

- 1912-a) Note sur un Trypanosomide du *Conorrhinus rubrofasciata* et son inoculation au rat et à la souris.  
C. R. Soc. Biol. 72 : 380-382.  
1912-b) Trypanosomide d'un Réduvide (*Conorrhinus rubrofasciata*) inoculable à la souris.  
An. Inst. Pasteur 26 : 893-922.

LAVIER, G.

1921. Les parasites des invertébrés hématophages. Parasites qui leur sont propres. Parasites qu'ils transmettent aux vertébrés.  
Lab. Paras. Fac. Med., Paris, Vigot Frères, 218 pág.

LUCENA, D.

1940. Infecção natural do *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) pelo *Trypanosoma cruzi*. Chagas 1909.  
O Hospital, Rio de Janeiro, 18 (1) : 91-93.

LUCENA, D. & MAGALHÃES NETTO, B.

1939. Infecção natural de *Triatoma rubrofasciata* pelo *Trypanosoma cruzi*.  
(nota prévia).  
Rev. Assoc. Paulista Med. 15 (2) : 177.

MAGGIO, C. & ROSENBUSCH, F.

1916. Studien über die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der  
"Vinchucas" (Wanzen, *Triatoma infestans*, Klug.).  
Centralbl. f. Bakt. 77 : 40.

MALAMOS, B.

1935. Ueber Vorkommen von *Schizotrypanum cruzi* bei Affen in Niederländisch-  
Indien.  
Arch. f. Schiffs — u. Tropenhyg. 39 (4) : 166-171.

MEYER, F. H.

1936. Citado por Bonne, 1937.

MIRANDA, C.

1943. Nota sobre os transmissores da molestia de Chagas no Estado do Maranhão,  
Brasil.  
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 39 (3) : 297-300.

MORISHITA, K.

1935. An Experimental Study on the Life History and Biology of *Trypanosoma co-*  
*norrhini* (Donovan), Occurring in the Alimentary Tract of *Triatoma rubro-*  
*fasciata* (De Geer) in Formosa.  
Jap. Jour. Zool. 6 (3) : 459-546.

MORISHITA, K.

1938. On some Parasitological Interests in Formosa with Special References to *Try-*  
*panosoma conorrhini* and Tsutsugamushi Disease.  
Rev. Med. Cir. Brasil 46 (2) : 225-232.

NEIVA, A.

1914. Contribuição para o estudo dos redúvidas hematófagos. I. Notas sobre os re-  
dúvidas hematófagos da Bahia com a descrição de uma nova espécie.  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 6 (1) : 35-39.

NEIVA, A. & LENT, H.

1941. Sinópsese dos Triatomídeos.  
Rev. Ent., Rio de Janeiro, 12 (1-2) : 61-92.

PACKCHANIAN, A.

1938. Susceptibility and resistance of various species of *Peromyscus* (American deer  
mice) to infection with *Trypanosoma hippicum*, and the possibility of certain  
"wild mice" being reservoir hosts to pathogenic trypanosomes.  
Am. Jour. Trop. Med. 18 (5) : 587-593.

REY MATIZ, H.

1941. Observaciones sobre Trypanosomas em Colombia.  
Rev. Fac. Med., Bogotá, 10 (1) : 25-49.

SHORTT, H. E. & SWANINATH, C. S.

1928. Preliminary note on three species of Trypanosomidae.  
Ind. Jour. Med. Res. 16 : 241.

TORREALBA, J. F.

1935. Pequeñas notas sobre relaciones biológicas experimentales negativas entre algunos reduvidos y el *Trypanosoma venezuelense* o de la derrengadera.  
Gaceta Med. Caracas 42 (9) : 140-141.

WENYON, C. M.

1926. Protozoology. London.

WOOD, F. D.

1936. *Trypanosoma neotomae*, sp. nov., in the dusky-footed wood rat and the wood rat flea.  
Univ. Calif. Publ. 2 vol. 41 11) : 133-144.

## ESTAMPA 1

### a) Formas metacíclicas do *Trypanosoma conorrhini*.

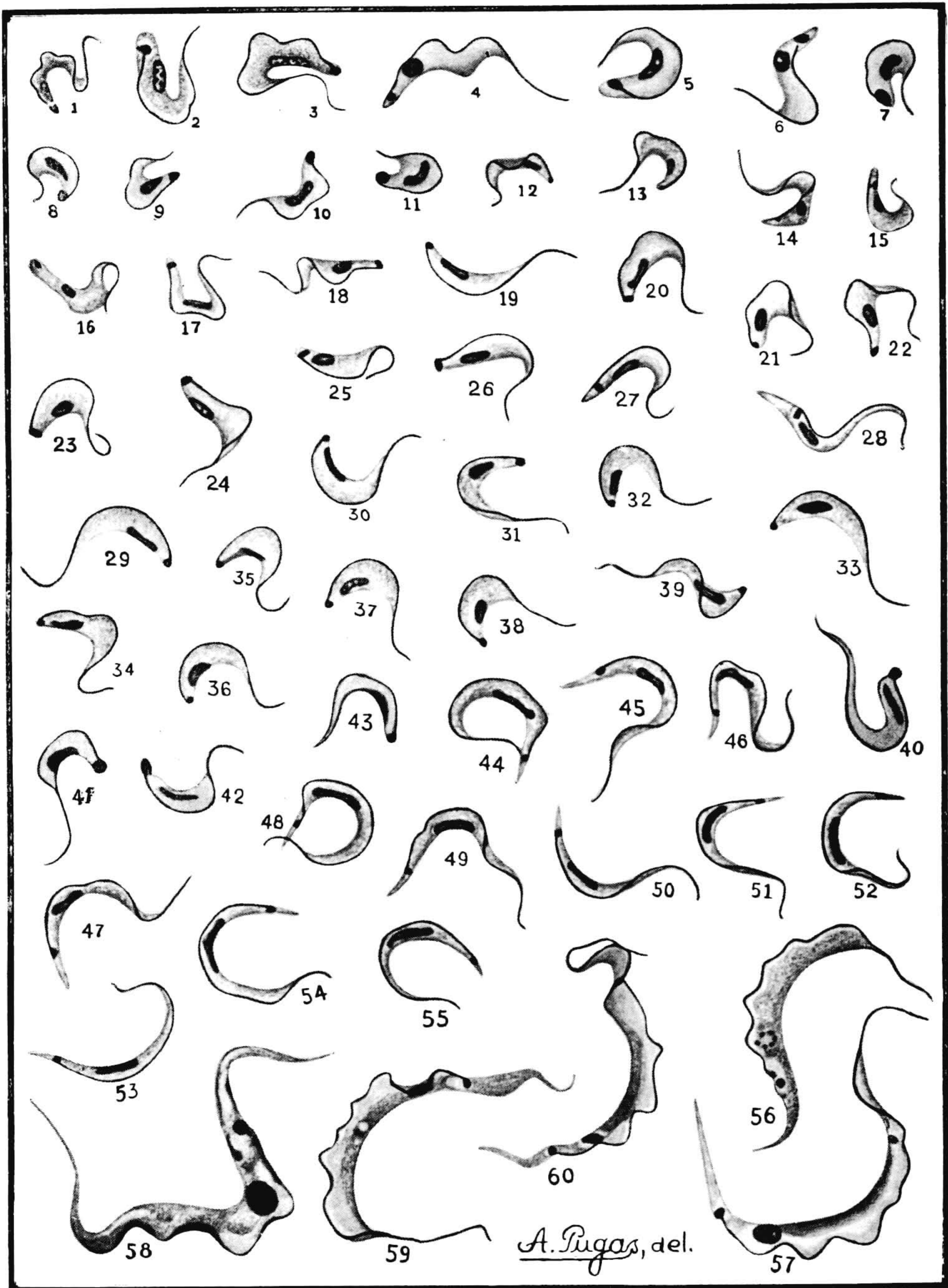
- Figs. 1- 3: Reprodução das figuras 24-25-26 de LAFONT, 1912-*b*, intestino de *Triatoma rubrofasciata* de Mauritius.
- Figs. 4-11: Reprodução das figuras 119-121-122-123-126-127-129-132 de MORISHITA, 1935, *T. rubrofasciata* de Formosa, Japão.
- Figs. 12-16: De *Triatoma rubrofasciata* do Rio de Janeiro, infecção natural.
- Figs. 17-28: De *Triatoma infestans* de xenodiagnóstico (camondongo 2.111, insetos alimentados em 22-7-43 e dissecados em 30-9-43).
- Figs. 29-39: Idem, idem, insetos alimentados em 13-7-43 e dissecados em 3-9-1943.
- Figs. 40-43: Reprodução de algumas das formas da fig. 4 de FLOCH & LAJUDIE, 1942; de *T. rubrofasciata* de Cayena, Guiana Francesa.

### b) Formas metacíclicas de *Schizotrypanum*.

- Figs. 44-49: De *Triatoma rubrofasciata* de Nazaré, Pernambuco.
- Figs. 50-55: De *Panstrongylus megistus* do Rio de Janeiro (Santa Tereza).  
(Nota: as figuras originais foram obtidas de preparações fixadas pelo álcool absoluto e coradas pelo Giemsa).

### c) Formas sanguícolas do *Trypanosoma conorrhini*.

- Figs. 56: Reprodução da figura 81 de LAFONT, 1912-*b*. (Mauritius).
- Figs. 57: Reprodução da figura 14 de MORISHITA, 1935 (Formosa).
- Figs. 58: Reprodução da figura 1 de BONNE, 1937 (Java).
- Figs. 55-60: Originais. De Camondongo, n. 2.234, quarto dia de infecção. Gota espessa preparada pelo método de Errecart e corada pelo Giemsa.  
(Nota: Todas as figuras originais foram marcadas à câmara clara com o mesmo aumento que o indicado pela escala da estampa II, que aqui não reproduzimos para não causar confusão devido às figuras tomadas de outros autores a escalas diversas).

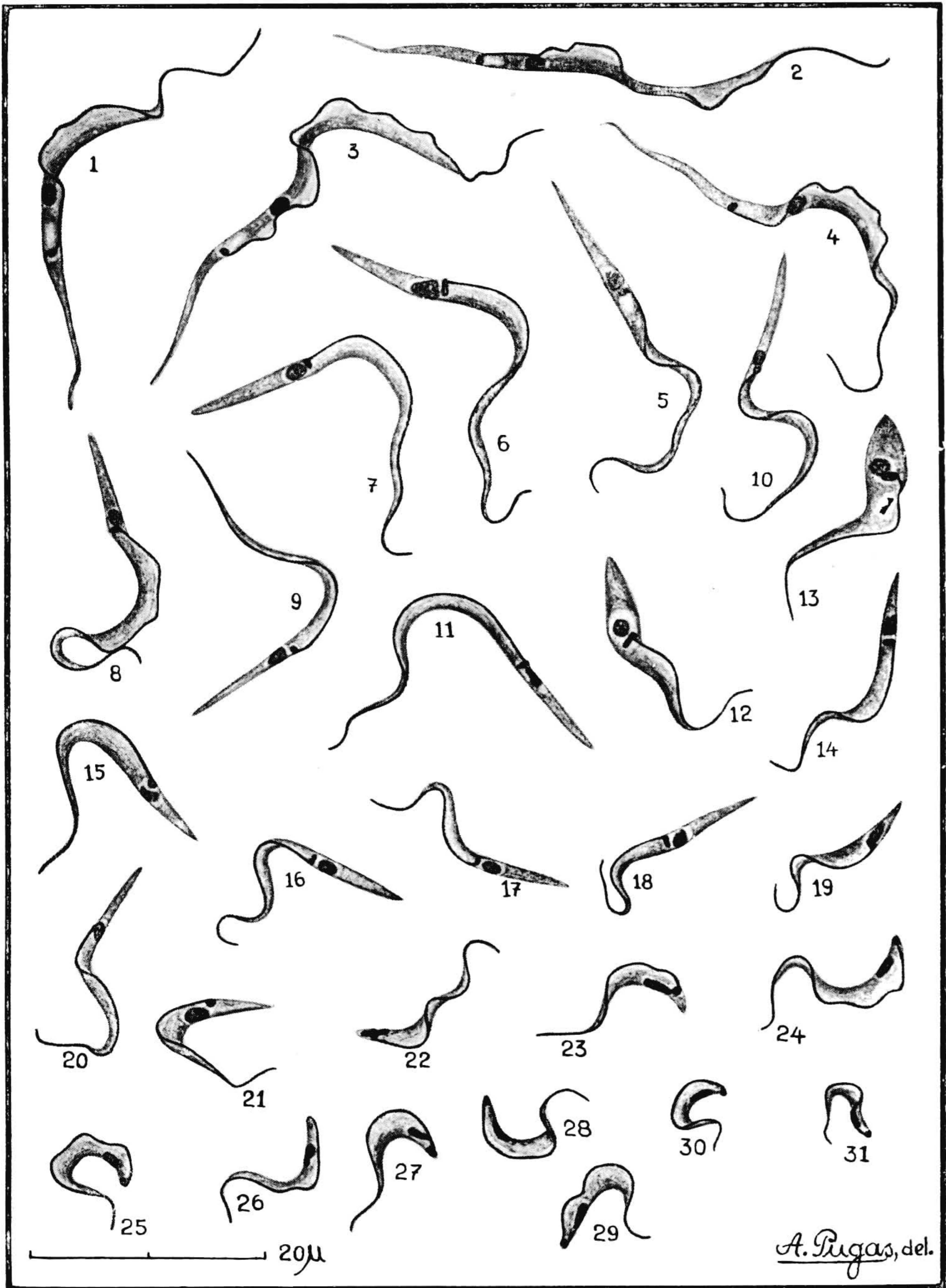


Dias e Campos Seabra: *Trypanosoma conorrhini*

## ESTAMPA 2

- Figs. 1-4: *Trypanosoma conorrhini* no sangue do rhesus 2.255 (quatro dias após a inoculação). Gota espessa corada pelo Giemsa e preparada pelo método de ERRECART.
- Figs. 6-20: Formas de crídiã do *T. conorrhini* no *Triatoma infestans*.
- Figs. 21-22-23: Formas de transição.
- Figs. 24-31: Tripanosomas metacíclicos.
- Nota: As figuras 6 a 31 foram obtidas de preparados de um *Triatoma infestans* que sugou o camundongo 2.111 no dia 22-7-43 e que foi dissecado no dia 30-10-43, fornecendo material para a inoculação do rêsus 2.255. Fixação pelo álcool absoluto, coloração pelo Giemsa.





Dias e Campos Seabra: Trypanosoma conorrhini