

Caracterização bioquímica de flagelados (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) isolados de mamíferos (Mammalia: Rodentia, Edentata, Marsupialia) do Estado do Amazonas e Rondônia, Brasil

Ana Lúcia Souza das CHAGAS¹; Luanda de Paula FIGUEIRA³; Francimeire Gomes PINHEIRO³; Antonia Maria Ramos FRANCO²

¹ Bolsista PIBIC INPA/FAPEAM; ² Orientador CPCS/INPA; ³ Colaboradores PCI/MCT/INPA /CPCS

No ano de 2004, com apoio de FURNAS foi realizado um inventário de roedores e marsupiais (Mammalia: Rodentia, Marsupialia) e seus endoparasitas (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) do rio Madeira (área de aproveitamento hidrelétrico no trecho que envolve a localidade da Cachoeira de Santo Antônio e Jirau) em Rondônia. Dos animais examinados, foram isoladas 12 amostras de tripanosomatídeos que fazem parte deste estudo. Da mesma forma, 10 flagelados foram isolados de mamíferos de diversas localidades do Estado do Amazonas, amostras estas também obtidas de hemocultivo e que foram caracterizadas pela análise de eletroforese de isoenzimas. Desta forma, o levantamento dos hemoparasitas, vem agregar conhecimento sobre a circulação de protozoários flagelados nestas espécies animais, principalmente os patogênicos ao homem como o *Trypanosoma cruzi* sendo importante para os estudos de distribuição e circulação de parasitas, correlacionando seus hospedeiros naturais e seu provável envolvimento em ciclos zoonóticos de infecção humana. Este estudo teve como objetivo caracterizar molecularmente amostras de *T. cruzi* isoladas (Protozoa: Kinetoplastida: Trypanosomatidae) de mamíferos (Mammalia: Rodentia, Edentata, Marsupialia) dos Estados do Amazonas e Rondônia, Brasil (Tabela). Foram caracterizadas por eletroforese de isoenzimas 22 cepas de tripanosomatídeos, sendo 12 isoladas do Estado de Rondônia e 10 do Amazonas. As cepas foram isoladas de roedores, marsupiais e edentado. Foram utilizadas cepas de referência de *T. cruzi* representantes dos zimodemas Z2 e Z1/Z3 (Cepa Y e Colombiana) e seus perfis isoenzimáticos foram comparados com os das amostras isoladas. Seis sistemas enzimáticos foram utilizados: Glicose-6-fosfato Desidrogenase G6PDH (E.C.1.1.1.49), Glicose-6-Fosfato Isomerase GPI (E.C..5.3.1.9), Malato Desidrogenase MDH (E.C.1.1.1.37), 6-Fosfogluconato Desidrogenase 6PGDH(E.C.1.1.1.44), Fosfoglucomutase PGM (E.C.2.7.5.1) e Enzima Málica ME (E.C.1.1.1.40). Todas as amostras de *Trypanosoma* analisadas através de eletroforese de isoenzimas (N=22), isoladas de marsupiais, roedores e edentado capturados na área de aproveitamento hidrelétrico no trecho que envolve a localidade da Cachoeira de Santo Antônio e Jirau em Rondônia e isoladas no Amazonas apresentaram perfil bioquímico compatível com *T. cruzi*, agrupando-se em 11 zimodemas (Figura) com características de populações que circulam em ambientes de transmissão silvestre. Observou-se heterogeneidade populacional

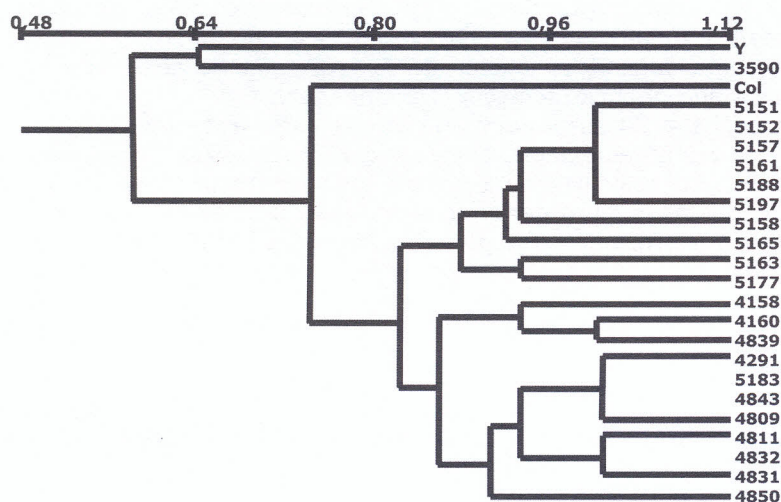


Figura - Análise fenética das amostras de *Trypanosoma cruzi*. Dendrograma obtido pelo coeficiente de similaridade Simple Matching/UPGMA, programa NTSYS.

Tabela. Origem e identificação de estoques de *Trypanosoma cruzi* e cepas de referência utilizadas neste estudo para identificação das amostras isoladas

No. estoque	Designação ^a	Origem Geográfica
Cepa	Referência	
Y	M/HOM/VE/53/Y	Venezuela
Colombiana	M/HOM/CO/64/Colombiana	Colômbia
Isolados	da Amazônia	
3590	MDAS/BR/89/IM3590	BR, RO, Samuel
5151	MDID /BR/04/IM5151	BR, RO, Jirau
5152	MMIC/BR/04/IM5152	BR, RO, Jirau
5157	MMIC/BR/04/IM5157	BR, RO, Jirau
5158	MDID /BR/04/IM5158	BR, RO, Abunã
5161	MMIC/BR/04/IM5161	BR, RO, Jirau
5163	MDID/BR/04/IM5163	BR, RO, Jirau
5177	MDID/BR/04/IM5177	BR, RO, Abunã
5188	MMIC/BR/04/IM5188	BR, RO, Morrinhos
5197	MMIC/BR/04/IM5197	BR, RO, Morrinhos
4158	MDID/BR/95/IM4158	BR, AM, Barcelos
4160	MDID/BR/95/IM4160	BR, AM, Barcelos
4291	MRAT/BR/96/IM4291	BR, AM, Manaus
4809	MDID/BR/00/IM4809	BR, AM, Manaus
4811	MDID/BR/00/IM4811	BR, AM, Manaus
4831	MDID/BR/00/IM4831	BR, AM, Manaus
4832	MDID/BR/00/IM4832	BR, AM, Manaus
4839	MDID/BR/00/IM4839	BR, AM, Manaus
4843	MDID/BR/00/IM4843	BR, AM, Manaus
4850	MDID/BR/00/IM4850	BR, AM, Manaus
5165	MDID/BR/04/IM5165	BR, RO, Jirau
5183	MMIC/BR/04/IM5183	BR, RO, Abunã

a: designação: hospedeiros[M=Mammalia: HOM: *Homo sapiens*; DID: *Didelphis*; MIC: *Micoureous demerarae*; DAS: *Dasyus kapleri*; RAT: *Rattus rattus*/país de origem/ano de isolamento/código de origem]

entre as cepas dos animais capturados. A análise de isoenzimas demonstrou que das 22 amostras testadas pelo perfil isoenzimático, todas são de *T. cruzi*. A maioria das amostras agrupadas por análise numérica apresentou perfis de cepas silvestres, sendo apenas uma das amostras isoladas, a de tatu (IM3590) com característica distinta das outras cepas agrupadas. Observou-se heterogeneidade populacional entre as cepas silvestres dos animais (mucura, rato e cuíca) procedentes das localidades de Jirau, Morrinhos e Abunã (Rondonia), Barcelos e Manaus (Amazonas) demonstrando-se a possibilidade de ciclos epidemiológicos distintos nos diversos ambientes estudados. Souto *et al.* (1996), com base em diferentes marcadores moleculares demonstraram que a heterogeneidade dos isolados de *T. cruzi* poderia ser resumida em 2 grupos ou linhagens: a Linhagem 1, associada ao ciclo doméstico, e Linhagens 1 e 2, associadas ao ciclo silvestre. A correlação com os zimodemas Z1 e Z3 associados ao ciclo silvestre e Z2 ao ciclo doméstico, proposto por Miles *et al.* (1980), evidenciou uma associação entre L1 e Z2 e L2 e Z1. Com bases nestes resultados Zingales *et al.* (1999) sugerem uma reavaliação da posição taxonômica de *T. cruzi*. De acordo com Souza *et al.* (1986) a doença de Chagas pode se tornar endêmica na bacia amazônica, se as espécies silvestres se adaptarem ao ciclo doméstico ou mesmo se espécies já domiciliadas procedentes de áreas endêmicas chegarem através das rodovias.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi* – Mamíferos – isoenzimas

Bibliografias citadas

- Miles, M.A.; Lanham S.M.; Souza A.A.; Povia, M 1980. Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. Trans R Soc trop Med Hyg 74: 221-237.
- Souto, R.P.; Fernandes, O.; Macedo A.M.; Campbell D.A.; Zingales B. 1996. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. Mol Biochem Parasitol 83:141-152.
- Souza, A.A.; Miles M.A.; Povia, M.M.; Rodrigues, I.C.; Carvalho, R.A.; Valente, S.A.S. 1986. Tripanossomíase humana, *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. *Trypanosoma Rangeli*: Instituto Evandro Chagas; 50 anos de contribuição a ciências biológicas e a medicina tropical, Belém, Fundação serviços de Saúde Pública, 1986.
- Zingales, B.; Stolf, B.S.; Souto R.P.; Fernandes O.; Briones M.R.S. 1999. Epidemiology, Biochemistry and Evolution *Trypanosoma cruzi* Lineages based on Ribosomal RNA sequences. Mem Inst Oswaldo Cruz 94 (Suppl): 159-164.