

CAPACIDADE DE REPLICAÇÃO DA CEPA Y *Trypanosoma cruzi* EM DIFERENTES ESPÉCIES DE TRIATOMÍNEOS

Ionizete Garcia da Silva*, Leila Gonçalves Pereira dos Santos**, Rejane Nakano** e Renato Calixto Badauy**

RESUMO

A replicação da cepa Y de *Trypanosoma cruzi*, em diferentes espécies de triatomíneos, foi estudada através do xenodiagnóstico, aplicado em camundongos com a infecção aguda. Utilizaram-se 20 camundongos infectados e oito espécies de triatomíneos. Cada triatomíneo foi examinado individualmente, pelo método das dejeções espontâneas. A capacidade, das diferentes espécies de triatomíneos, de replicar o *T.cruzi*, utilizando como parâmetro de avaliação o número de tripanosomas excretados encontra-se em ordem decrescente: *Dipetalogaster maximus*, *Panstrongylus herreri*, *Triatoma rubrovaria*, *T. tibiamaculata*, *T. matogrossensis*, *T.protracta*, *T.sordida*, *Rhodnius prolixus*. Os experimentos foram realizados numa câmara biológica, a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas.

UNITERMOS: Replicação. Triatomíneos. *Trypanosoma cruzi*. Tripanosomíase americana.

INTRODUÇÃO

O xenodiagnóstico tem sido utilizado tanto para diagnosticar a tripanosomíase americana, no homem e em outros mamíferos, quanto para demonstrar a parasitemia circulante em chagásicos que se encontram em tratamento com drogas tripanosomicidas. Isto tem estimulado várias investigações, com a finalidade de se conhecer a capacidade de diferentes espécies de triatomíneos de replicar o *Trypanosoma cruzi*. Dentre essas, pode-se citar os estudos das relações biológicas entre triatomíneo e tripanosoma, na busca do modelo experimental.

* Prof. do Depto. de Parasitologia - IPTSP/UFG.

** Bolsita de iniciação científica do CNPq

Apoio financeiro: CONSITEG, SENESU, FUNAPE.

Recebido para publicação em 14/11/94

Neste trabalho, estudou-se a capacidade de replicação de espécies tipicamente silvestres, *Dipetalogaster maximus* e *Triatoma tibiamaculata*; silvestre que invade o domicílio sem colonizá-lo, *T. protracta*; em processo de adaptação ao domicílio humano, *Panstrongylus herreri*, *T. matogrossensis*, *T. rubrovaria*, e que colonizam tanto ecótopos naturais como artificiais, *Rhodnius prolixus* e *T. sordida*, em relação à cepa Y de *T. cruzi*, na busca da espécie de triatomíneo mais adequada para replicar este flagelado, com a finalidade de usá-la em rotina no xenodiagnóstico. A utilização dessas espécies, teve como objetivo estudar a relação triatomíneo-tripanosoma, associada aos hábitos nos diferentes ecótopos com a replicação do tripanosoma, aproveitando a disponibilidade de triatomíneo no laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Criação dos triatomíneos

Os triatomíneos foram criados numa câmara biológica à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 h¹². Utilizaram-se para criação, frascos plásticos cilíndricos, azuis, semitransparentes, resultantes do aproveitamento de garrafas d'água, medindo 9,0 cm de diâmetro por 14,5 cm de altura¹². Todas as espécies de triatomíneos, com exceção de *D. maximus*, foram alimentadas em *Gallus gallus domesticus* (galinha)^{12,16}.

Inoculação de camundongos e xenodiagnóstico

Foram inoculados, por via intraperitoneal, 20 camundongos machos, albinos, isogênicos, da linhagem A/Sn, com cerca de 5 semanas de vida, com $1,0 \times 10^5$ formas sanguíneas da cepa Y de *T. cruzi*. No 8º dia após a inoculação, seccionou-se a extremidade da cauda do camundongo, colheu-se 5ml de sangue com um micropipetador automático e contou-se o nº de tripanosomas circulantes¹⁴. Imediatamente após a contagem de tripanosomas, realizou-se o xenodiagnóstico; para isto, cada camundongo foi imobilizado numa tela de náilon¹⁴, e afixado aos tubos com um triatomíneo de cada espécie, através de elásticos, possibilitando um permanente contato com a fonte de alimentação.

As leituras do xenodiagnóstico foram realizadas aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias, após aplicação do exame, pela técnica das dejeções espontâneas¹³. Esta técnica permite examinar separadamente, tanto as fezes quanto a urina, para isto é fundamental que o triatomíneo atinja a repleção total¹⁶.

Testaram-se 8 espécies, com 20 triatomíneos cada, em jejum absoluto, sendo que usou-se *D. maximus* no 1º estágio, dez dias após eclosão das ninfas; *P. herreri*, *T. matogrossensis*, *T. rubrovaria*, *T. sordida* e *T. tibiamaculata*, 12 dias após a ecdise do 2º estágio e, *R. prolixus* e *T. protracta*, 15 dias após ecdise do 3º estágio. Estes períodos de jejum foram constatados, numa experiência piloto, como os mais favoráveis para que o triatomíneo atinja a repleção total.

A suscetibilidade foi estimada através de dois parâmetros: número de triatomíneos infectados e número de tripanosomas excretados, pela leitura individualizada de cada triatomíneo.

RESULTADOS

Tabela 1 - Peso médio e quantidade média de sangue ingerida por triatomíneos, alimentados em camundongos infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, com a infecção aguda.

ESPÉCIES	Peso(mg)	Sangue Ingerido(ml)
<i>Dipetalogaster maximus</i>	07 ± 0,35	63 ± 6,07
<i>Panstrongylus herreri</i>	11 ± 3,25	41 ± 5,11
<i>Triatoma rubrovaria</i>	09 ± 0,35	40 ± 5,21
<i>Triatoma tibiamaculata</i>	06 ± 0,49	30 ± 5,62
<i>Triatoma matogrossensis</i>	10 ± 0,21	45 ± 6,51
<i>Rhodnius prolixus</i>	06 ± 0,53	64 ± 6,58
<i>Triatoma sordida</i>	09 ± 0,43	45 ± 5,25
<i>Triatoma protracta</i>	06 ± 0,37	39 ± 1,31

Tabela 2. Frequência (%) de triatomíneos infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, avaliada pelo xenodiagnóstico, aplicado em camundongos com a infecção aguda.

Espécies	% de triatomíneos infectados/leitura-dia				
	30	60	90	120	150
<i>Dipetalogaster maximus</i>	100	100	100	100	100
<i>Panstrongylus herreri</i>	100	100	100	100	100

SILVA, I.G.; SANTOS, L.G.P.; NAKANO, R.; BADAUY, R.C. Capacidade de Replicação da Cepa Y *Trypanosoma cruzi* em Diferentes Espécies de Triatomíneos. Rev.Pat.Trop.23 (2):197-204.jul./dez.1994

<i>Triatoma rubrovaria</i>	100	100	100	100	100
<i>Triatoma tibiamaculata</i>	100	100	100	100	100
<i>Triatoma matogrossensis</i>	100	100	100	100	100
<i>Rhodnius prolixus</i>	100	100	100	100	100
<i>Triatoma sordida</i>	40	75	75	85	90
<i>Triatoma protracta</i>	20	30	40	45	55

Tabela 3. Número médio de *Trypanosoma cruzi* ingeridos e excretados por triatomíneos, estimado através do xenodiagnóstico, usando a técnica das dejeções espontâneas.

Espécies	ingeridos (sangue)	Nº médio de <i>Trypanosoma cruzi</i> em 5ml excretados(fezes)/leituras em 5ml				
		30	60	90	120	150
<i>D. maximus</i>	$4,1 \times 10^5$	1.544	7.097	13.093	4.177	6.926
<i>P. herreri</i>	$2,8 \times 10^5$	52	3.647	5.109	2.614	4.844
<i>T. rubrovaria</i>	$2,1 \times 10^5$	11	1.498	4.746	6.091	6.722
<i>T. tibiamaculata</i>	$6,9 \times 10^5$	1.949	619	1.741	1.201	1.565
<i>T. matogrossensis</i>	$3,2 \times 10^5$	326	415	2.486	237	1.528
<i>T. protracta</i>	$2,2 \times 10^5$	15	03	7.523	235	228
<i>T. sordida</i>	$2,9 \times 10^5$	36	990	28	20	961
<i>R. prolixus</i>	$4,3 \times 10^5$	33	22	217	370	17

D.= *Dipealogaster*, P. = *Panstrongylus*, T. = *Triatoma*

A Tabela 3 mostra a eliminação de tripanosomas pelos triatomíneos, que oscilou de uma leitura a outra, assim detectava-se numa leitura grande quantidade de tripanosomas e, às vezes, isso não se repetia na seguinte ou não eliminava nenhum flagelado pelo exame individualizado do triatomíneo. Nos 5 meses estudados, após a infecção dos triatomíneos, verificou-se que a eliminação de *T. cruzi* foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos 2º e 3º meses, em todas as espécies. Verificou-se que a quantidade de sangue ingerida não foi fator determinante do número de

SILVA, I.G.; SANTOS, L.G.P.; NAKANO, R.; BADAUY, R.C. Capacidade de Replicação da Cepa Y *Trypanosoma cruzi* em Diferentes Espécies de Triatomíneos. Rev.Pat.Trop.23 (2):197-204.jul./dez.1994

triplanosomas excretados pelos triatomíneos, e que apenas o parâmetro, número de 14 tripanosomas excretados, determinou um gradiente da capacidade de replicação e se encontra na seguinte ordem: *D. maximus*, *P. herreri*, *T. rubrovaria*, *T. tibiamaculata*, *T. matogrossensis*, *T. protracta*, *T. sordida*, *R. prolixus*, pela análise de variância, ao nível de 5%.

DISCUSSÃO

A relação biológica, triatomíneo-*T. cruzi* tem sido estudada por vários autores. Um grupo mostrou que a suscetibilidade é maior em triatomíneos da mesma região geográfica das cepas do tripanosoma^{3,4,5,11}. No entanto, os resultados de outros grupos^{17,20} e deste trabalho, com *D. maximus*, *P. herreri* e *T. rubrovaria*, são discordantes e inversos aos anteriores.

Da relação biológica triatomíneo-tripanosoma, surgiram vários trabalhos, o primeiro deles, mostrou que os índices de infecção pelo *T. cruzi* crescia com os estádios ninfais dos triatomíneos¹⁹. Desta época para cá, provavelmente tenha surgido a hipótese da importância da quantidade de sangue ingerida e o número de flagelados excretados. Isto parece ter induzido, àqueles que trabalham com o xenodiagnóstico, a utilizarem triatomíneos em estádios mais avançados (4º e 5º). Posteriormente, aparece um trabalho⁸ com resultados inversos, e um outro¹⁰ mostrando que não havia uniformidade quanto aos índices de infecção pelo *T. cruzi* quando a quantidade de tripanosomas era alta. Tem sido demonstrado em vários artigos^{6,7,14,17} que a quantidade de sangue ingerida não é fator determinante na infecção do triatomíneo. Este fato é concordante com os resultados deste trabalho.

Outro aspecto importante da suscetibilidade de triatomíneos ao *T. cruzi*, relaciona-se com as formas do tripomastigota, largas e finas, de diversas cepas, e que, triatomíneos se infectavam melhor com as cepas nas quais predominavam as formas tripomastigotas largas². Neste trabalho, utilizou-se a Y de *T. cruzi*, que se caracteriza pelo predomínio de formas finas, pelo desafio que ela apresentava em desenvolver menor infecção nos triatomíneos, pela hipótese de melhor selecionar a suscetibilidade dos triatomíneos, bem como, pela facilidade de infectar animais de laboratório.

Outro estudo relevante para determinação da suscetibilidade, refere-se às técnicas de leituras coproscópicas. O estudo de duas técnicas de leituras, a partir do xenodiagnóstico aplicado em 206 pacientes chagásicos crônicos, mostrou que o método das dejeções espontâneas (m.d.e.) era mais eficiente do que o método da compressão abdominal (m.c.a.) para detectar o *T. cruzi*, com isso conseguiu melhorar a sensibilidade do exame¹³. Utilizando o m.d.e., neste trabalho, verificou-se que as espécies *D. maximus*, *P. herreri* e *T. rubrovaria*, foram os melhores meios replicadores do *T. cruzi*.

A fonte de infecção pode ser mais uma variável no estudo da suscetibilidade. As espécies domiciliadas, *T. infestans* e *T. brasiliensis*, eram mais suscetíveis ao *T. cruzi*

da área endêmica chagásica de São Felipe - Bahia, usando como fonte de infecção o cão e o tatu¹⁸. Usando o cobaio⁸ como fonte de infecção para os triatomíneos, as espécies silvestres se infectavam melhor do que as domiciliadas, sendo *P. megistus* a mais suscetível ao *T. cruzi*⁸. Neste trabalho, utilizaram-se camundongos isogênicos A/Sn como fonte de infecção, e constatou-se que a espécie tipicamente silvestre, *D. maximus*, foi a mais suscetível, seguida de outras silvestres que se encontram em processo de domiciliação, *P. herreri* e *T. rubrovaria*. A espécie que apresenta o maior grau de domiciliação, *R. prolixus*, entre as estudadas, teve o pior desempenho na replicação do *T. cruzi*.

Existem diversos fatores relacionados com a suscetibilidade de triatomíneos ao *T. cruzi*, porém neste trabalho, estudaram-se as variáveis: número de triatomíneos infectados, sangue ingerido, tripanosomas ingeridos e excretados, evidenciando *D. maximus* como o melhor replicador. Isto é concordante com outros estudos recentes¹⁵

SUMMARY

Difference in capacity of replication to Y strain of *Trypanosoma cruzi* among 8 species of triatomines.

Capacity of replication of different triatomine species was investigated by applying xenodiagnosis in mice during acute *Trypanosoma cruzi* infection ("Y" strain). Twenty insect bugs for each one of the studied species were applied on infected mice. Each bug was examined individually.

The species capacity of replication in relation with the number of the excreted tripanosomes was: *Dipetalogaster maximus*, *Panstrongylus herreri*, *Triatoma rubrovaria*, *T. tibiamaculata*, *T. matogrossensis*, *T. protracta*, *T. sordida* and *Rhodnius prolixus*.

The experiments were performed at $28 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ of relative humidity and photoperiod of 12 h.

KEYWORDS: Repl.cation. Triatomines. *Trypanosoma cruzi*. Chagas' disease.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRENER, Z. *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Tese de Docência-Livre. Faculdade de Odontologia e Farmácia. Minas Gerais, Belo Horizonte, 1961.

2. BRENER, Z. Life cycle of *Trypanosoma cruzi*. Rev.Inst.Med. Trop. S.Paulo, 13: 171-178, 1971.
3. CERISOLA, J.A.; RHOWEDDER, R.W. & PRADO, C.E. Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. Bol.Chil. Parasit., 26:57-58, 1971.
4. DIAS, E. Xenodiagnósticos seriados em cães infectados com amostras venezuelanas de "*Schizotrypanum cruzi*". Brasil Médico, 54:859-861, 1940. Replicação da Cepa Y *Trypanosoma cruzi* em Diferentes Espécies de Triatomíneos. Rev.Pat.Trop.23(2):183-188, jul./dez.1994
5. LITTLE, J.W.; TAY, J. & BIAGGI, F. A Study on the susceptibility of triatominae bugs to some Mexican strains of *Trypanosoma cruzi*. J.Med.Ent., 3:252-255, 1966.
6. MELLO, D.A & CHIARINI, C. Suscetibilidade dos diferentes estádios evolutivos de *Triatoma sordida* (Stal, 1859) e de *Rhodnius neglectus* lent, 1954, à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Rev.Bras.Biol., 40:327-334, 1980.
7. MILES, M.A.; PATTERSON, J.W.; MARSDEN, P.D. & MINTER, M.D. A comparison of *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* in the xenodiagnosis of a chronic *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* infection in a Rhesus monkey (*Macaca mulata*). Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg., 69:377-382, 1975.
8. NEAL, R.A. & MILES, R.A. The numbers of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* required to infect *Rhodnius prolixus*. Rev.Inst.Med.Trop., S.Paulo, 19:177-181, 1977.
9. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A.; MÜLLER, C.A. & MOREIRA, C.J.C. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. 3 - on the interaction of vector species and parasite strain in the reaction of bugs to infection by *Trypanosoma cruzi*. Rev.Saúde Púb., 22:390-400, 1988.
10. PHILLIPS, N.R. & BERTRAN, D.S. Laboratory studies of *Trypanosoma cruzi* infections in: *Rhodnius prolixus* - larvae and adults; in: *Triatoma infestans*, *T. protracta* and *T. maculata* - adults. J.Med.Ent., 4:168-174, 1967.

11. RYCKMAN,R.E. Epizootiology of *Trypanosoma cruzi* in South western North America.V.Host parasite specificity between Trypanosoma and Triatominae (Kinetoplastide: Tripanosomatidae) (Hemiptera:Triatominae). **J.Med.Ent.**, 2:96-99,1965.
12. SILVA,I.G.da Influência da temperatura na biologia de triatomíneos.I.*Triatoma rubrovaria* (Blanchard,1843) (Hemiptera, Reduviidae).**Rev.Goiana Med.**, 31:1-37, 1985.
13. SILVA, I.G.da Nova técnica para a leitura do xenodiagnóstico. **Rev.Goiana Med.**, 36:35-39, 1990.
14. SILVA, I. G.da & FERREIRA,I.R. Influência da fonte sanguínea na multiplicação da cepa Y de *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma infestans* (Klug,1834) e *Rhodnius neglectus* Lent,1954. **Rev. Goiana Med.**, 36:41-48, 1990.
15. SILVA,I.G.da; OSTERMAYER,A.L.; SILVA,H.H.G.da Importância do método de obtenção das dejeções dos triatomíneos na avaliação da suscetibilidade triatomínica ao *Trypanosoma cruzi*.**Rev.Soc. Bras.Med.Trop.**, 26:19-24, 1993.
16. SILVA,I.G. & SILVA, H.H.G.da Estudo comparado do desenvolvimento de triatomíneos a duas temperaturas. **Mem.Inst.Oswaldo Cruz**, 84:499-500, 1989.
17. SILVA,I.G. & SILVA,H.H.G. Suscetibilidade de 11 espécies de triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) à cepa Y de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Tripanosomatidae).**Rev.Bras.Ent.**37:459-463, 1993.
18. SHERLOCK, I. A. & ALMEIDA,S.A. Diferença de suscetibilidade à infecção com *T.cruzi* entre espécies de triatomíneos alimentados em cão, tatu e camundongo infectados. **Rev. Soc.Bras.Med.Trop.**, 7:87-98, 1973.
19. TORRES, M. Alguns fatos que interessam a epidemiologia da moléstia de Chagas.**Mem.Inst.Oswaldo Cruz**, 7:120- 136, 1915.
20. ZELEDÓN,R. Vieto PL.Susceptibilidad de varias espécies de triatomínos a uma cepa costarricense de *Schizotrypanum cruzi*.**Rev.Biol.Trop.**, 5:195-199, 1957.