

ASPECTOS DA SUSCETIBILIDADE DOS TRIATOMÍNEOS AO *Trypanosoma cruzi* NA BUSCA DE UM MODELO EXPERIMENTAL

Ionizete Garcia da Silva* & Leila Abou Salha**

RESUMO

Estudou-se a suscetibilidade de diferentes espécies de triatomíneos em relação à cepa Y de *Trypanosoma cruzi*, através da aplicação do xenodiagnóstico em camundongos com a infecção aguda. Utilizaram-se 20 camundongos infectados e, em cada um, aplicaram-se 8 triatomíneos, um de cada espécie, para se alimentarem, simultaneamente. Cada triatomíneo foi examinado individualmente, pelo método das dejeções espontâneas. A ordem de suscetibilidade das espécies de triatomíneos em relação ao número de tripanossomas excretados foi: 1° - *Dipetalogaster maximus*, 2° - *Triatoma matogrossensis*, 3° - *Rhodnius neglectus*, 4° - *T. infestans*. Os experimentos foram realizados numa câmara biológica, a 28 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 5% e fotoperíodo de 12 horas.

UNITERMOS: Suscetibilidade. Triatomíneos. *Trypanosoma cruzi*. Doença de Chagas.

INTRODUÇÃO

O xenodiagnóstico tem estimulado várias investigações com a finalidade de melhorar a sensibilidade deste exame, devido a sua utilização tanto para diagnosticar a tripanossomíase americana, no homem e em outros mamíferos, quanto para demonstrar a parasitemia circulante, na experimentação com drogas tripanossomicidas. Dentre as investigações, a suscetibilidade de triatomíneos em relação ao *Trypanosoma cruzi*, tem sido objeto de estudo de diversos autores, tal como neste

* Prof. do Dept.º de Parasitologia - IPTSP/UFMG.

** Bolsista de iniciação científica do CNPq -

Apoio financeiro: SENESU-PRPPG e FUNAP

- Recebido para publicação em 22/03/94

trabalho, para se conhecer as relações biológicas entre triatomíneo e tripanossoma, na busca do modelo experimental^{5 6 7 9 15 17 18 20}.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho, estudou-se a suscetibilidade de espécies tipicamente silvestres, *Dipetalogaster maximus*; silvestre que invade o domicílio, *Triatoma matogrossensis*; processo de domiciliação, *Rhodnius neglectus*, e domiciliado, *T. infestans*, 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 na xenodiagnóstico. A utilização dessas espécies, teve como objetivo estudar a relação triatomíneo-tripanosossoma, associada aos hábitos nos diferentes ecótopos com a replicação do tripanossoma, aproveitando a disponibilidade de triatomíneos no laboratório.

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* (1º estágio), 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 5µl de sangue com um micropipetador automático e contou-se o nº de tripanossomas circulantes^{1 14}. Imediatamente após a contagem de tripanossomas, 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 e 120 dias após a 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 4 espécies, com 20 triatomíneos de cada uma, em jejum absoluto, sendo que se usou *D. maximus* no 1º estágio, dez dias após eclosão das ninfas; *T. matogrossensis*, *T. infestans*, *R. neglectus*, 15 dias após ecdise do 3º estágio. Estes períodos de jejum foram constatados numa experiência piloto, como favoráveis ao triatomíneo para atingir a repleção total.

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

RESULTADOS

Os resultados encontram-se nas tabelas 1, 2 e 3. A eliminação de tripanossomas pelos triatomíneos oscilou de uma leitura a outra, assim detectava-se numa leitura grande quantidade de tripanossomas e, às vezes, isso não se repetia na seguinte ou não se eliminava nenhum flagelado, pelo exame individualizado do triatomíneo. Nos 4 meses estudados, após a infecção dos triatomíneos, verificou-se que a eliminação de *T. cruzi* por *D. maximus* foi significativamente maior ($p < 0,05$) a partir do 2º mês, tendo pico parasitemico no 3º mês. Para as espécies *T. matogrossensis* e *R. neglectus* a parasitemia foi significativamente maior nos 3º e 4º meses. Entre as espécies estudadas, no período de 120 dias, *T. infestans* mostrou-se como o meio de cultura "in vivo" menos favorável à replicação do *T. cruzi*.

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 (µg)	Sangue Ingerido (µl)
<i>Dipetalogaster maximus</i>	08 ± 0,45	87,6 ± 3,64
<i>Triatoma matogrossensis</i>	10 ± 0,32	254,1 ± 2,89
<i>Rhodnius neglectus</i>	07 ± 0,53	127,2 ± 1,38
<i>Triatoma infestans</i>	12 ± 0,43	283,0 ± 2,95

SILVA, I.G.; SALHA, L.A. Aspectos da suscetibilidade dos triatomíneos ao *Trypanosoma cruzi* na busca de um modelo experimental. Rev.Pat.Trop.,23(1):93-100, jan./jun.1994.

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

Espécies	% de triatomíneos infectados/leitura-dias			
	30	60	90	120
<i>Dipetalogaster maximus</i>	50	40	70	70
<i>Triatoma matogrossensis</i>	60	50	70	70
<i>Triatoma infestans</i>	50	40	50	50
<i>Rhodnius neglectus</i>	50	50	40	50

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

Espécies	Nº médio de <i>Trypanosoma cruzi</i> em 5µl				
	ingeridos (sangue)	excretados(fezes)/leitura em 5µl			
		30	60	90	120
<i>D.maximus</i>	1,3 x 10 ⁵	50	162	7.419	408
<i>T.matogrossensis</i>	4,4 x 10 ⁵	45	08	133	3.120
<i>R.neglectus</i>	4,3 x 10 ⁵	33	22	44	1.238
<i>T.infestans</i>	4,6 x 10 ⁵	26	07	09	40

D. = *Dipetalogaster* R. = *Rhodnius* T. = *Triatoma*

Verificou-se que a quantidade de sangue ingerida não foi fator determinante do número de tripanossomas excretados pelos triatomíneos (Tabelas 1 e 3), e o gradiente de suscetibilidade das espécies de triatomíneos encontra-se na seguinte ordem: 1º - *D.maximus*, 2º - *T.matogrossensis*, 3º - *R.neglectus* e 4º - *T.infestans*.

DISCUSSÃO

Na busca do triatomíneo mais adequado ao xenodiagnóstico, diversos trabalhos têm sido feitos, avaliando a suscetibilidade dos triatomíneos ao *T.cruzi*,

SILVA, I.G.; SALHA, L.A. Aspectos da suscetibilidade dos triatomíneos ao *Trypanosoma cruzi* na busca de um modelo experimental. Rev.Pat.Trop.,23(1):93-100, jan./jun.1994.

demonstrando às vezes, resultados antagônicos da relação biológica triatomíneo-tripanosossoma^{3 4 5 6 7 8 10 11 14 15 17 19 20} através das variáveis: estágio ninfal, capacidade de ingerir sangue, localidade dos triatomíneos e das cepas de *T.cruzi*.

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.

Considera-se relevante para determinação da suscetibilidade, as técnicas de leituras coprosópicas^{13 17} e a fonte de infecção^{8 18}.

Neste trabalho, estudaram-se as variáveis: número de triatomíneos infectados, sangue ingerido, tripanossomas ingeridos e excretados, evidenciando *D.maximus* como o melhor modelo experimental, quando infectado com camundongo A/Sn isogênico. Isto foi concordante com outros estudos recentes^{15 17}. Constatou-se que a espécie tipicamente silvestre, *D. maximus*, foi a mais suscetível, seguida de outras silvestres que invadem ou que se encontram em processo de domiciliação, *T.matogrossensis* e *R. neglectus*. A espécie que apresenta o maior grau de domiciliação, *T.infestans*, entre as estudadas, teve o pior desempenho na replicação do *T. cruzi*.

A quantidade de sangue ingerida não foi fator determinante na infecção de triatomíneos sendo, portanto, concordante com outros trabalhos na literatura pertinente^{6 14 15 17}.

SUMMARY

Aspects of susceptibility of *Trypanosoma cruzi* among different species of triatomines (Hemiptera, Reduviidae)

The susceptibility 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.

SILVA,I.G.; SALHA,L.A. Aspectos da suscetibilidade dos triatomíneos ao *Trypanosoma cruzi* na busca de um modelo experimental. *Rev.Pat.Trop.*,23(1):93-100,jan./jun.1994.

The species susceptibility in relation with the number of the excreted trypanosomes was : 1st *Dipetalogaster maximus*, 2nd - *Triatoma matogrossensis*, 3rd - *Rhodnius neglectus*, 4th - *T. infestans*.

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

KEYWORDS: Species susceptibility, Triatomines, *Trypanosoma cruzi*, Chagas' disease.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BRENER,Z. *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Tese de Docência-Livre. Faculdade de Odontologia e Farmácia de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1961.
02. BRENER,Z. Life cycle of *Trypanosoma cruzi*. *Rev.Inst.Med.Trop.*,13:171-178, 1971.
03. 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.
04. DIAS,E. Xenodiagnósticos seriados em cães infectados com amostras venezuelanas de "*Schizotrypanum cruzi*". *Bras.Méd.*,54:859-861, 1940.
05. 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.
06. 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.

SILVA,I.G.; SALHA,L.A. Aspectos da suscetibilidade dos triatomíneos ao *Trypanosoma cruzi* na busca de um modelo experimental. *Rev.Pat.Trop.*,23(1):93-100,jan./jun.1994.

07. 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.
08. NEAL,R.A. & MILES,R.A. The numbers of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* required to infect *Rhodnius prolixus*. *Rev.Inst.Med.Trop.*, 19:177-181, 1977.
09. 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:Trypanosomatidae) (Hemiptera: Triatominae). *J.Med.Ent.*, 2: 96-99, 1965.
12. SILVA,I.G. 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. Nova técnica para a leitura do xenodiagnóstico. *Rev.Goiana Med.*, 36:35-39, 1990.

14. SILVA, I.G. & 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.; OSTERMAYER, A.L. & SILVA, H.H.G. 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. 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, Tripanossomatidae). *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, P.L. Susceptibilidad de várias espécies de triatomíneos a una cepa costarricense de *Schizotrypanum cruzi*. *Rev. Biol. Trop.*, 5:195-199, 1957.