

ELIMINAÇÃO DE EPIMASTIGOTAS E TRIPOMASTIGOTAS ESTIMADA ATRAVÉS DA LEITURA DO XENODIAGNÓSTICO, PELO MÉTODO DAS DEJEÇÕES ESPONTÂNEAS

*Heloisa Helena Garcia da Silva**, *Adelair Helena dos Santos***, *Eliana Isac & Ionizete Garcia da Silva****

RESUMO

A partir do xenodiagnóstico aplicado em 30 pacientes chagásicos crônicos, com parasitemia detectável, avaliou-se a quantidade de epimastigotas e tripomastigotas, eliminados através das fezes e da urina dos triatomíneos.

Nas fezes, a quantidade de epimastigotas foi, significativamente maior do que tripomastigotas, e na urina houve uma inversão: a quantidade de tripomastigotas foi significativamente maior do que epimastigotas, pelo teste *t*, ao nível de 1%.

Os experimentos foram realizados numa câmara biológica à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$. umidade relativa de $70 \pm 5\%$, fotoperíodo de 12 horas.

UNITERMOS: Xenodiagnóstico, Doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, formas evolutivas.

INTRODUÇÃO

Na pesquisa básica em doença de Chagas, utiliza-se, de rotina, inóculo de *Trypanosoma cruzi* em animais de laboratório. A infectividade do tripanossoma é alta

* Farmacêutica de Dept.º de Parasitologia - IPTSP/UFG

** Aluna do Curso de Mestrado em Patologia Tropical - IPTSP/UFG

*** Profs. do Dept.º de Parasitologia - IPTSP/UFG

Apoio financeiro: SENESU/PRPPG-UFG, FUNAP-UFG

- Recebido para publicação em 05/04/94

quando o inóculo é feito de sangue de um animal infectado em outro suscetível, porém quando se inocula fezes de triatomíneos em animais de laboratório, a infectividade é baixa. Neste trabalho, estudou-se a quantidade de formas tripomastigotas e epimastigotas eliminadas nas fezes e na urina, com a finalidade de otimizar a preparação e infectividade de inóculos, realizados com fezes de triatomíneos infectados pelo *T.cruzi*, para animais de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

O xenodiagnóstico foi aplicado em 30 pacientes chagásicos, que apresentavam parasitemia detectável, de um total de 206 estudados, na fase crônica e não tratados, do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, dos quais eram conhecidos os exames clínico e sorológico (imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta) com soros reatogênicos.

Em todos os pacientes, o xenodiagnóstico foi realizado com ninfas de 4.º e 5.º estádios de *Triatoma infestans* criadas numa câmara biológica à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas². Imediatamente após a ecdise para o 4.º e 5.º estádios, as ninfas eram separadas em frascos de polietileno, transparentes, cilíndricos medindo 3 x 5 cm, com tampas perfuradas ao centro e a estas coladas uma tela fina de náilon, com cerca de 250 malhas por cm^2 , o fundo forrado com papel filtro e, perpendicular a este e à tampa, um pedaço de cartolina como substrato para os triatomíneos se alimentarem. Nestes, permanecem em jejum, por 25 e 30 dias, para 4.º e 5.º estádios, respectivamente. Após este período, aplicava-se o xenodiagnóstico e, em seguida, os triatomíneos eram acondicionados numa câmara (CDG-247 da FANEN) à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm \%$ e fotoperíodo de 12 horas.

As leituras foram realizadas após 30 dias, pelo método das dejeções espontâneas^{3,5}. Basicamente, esta técnica consiste em alimentar o triatomíneo até a repleção total⁶, que é condição fundamental para o inseto eliminar as dejeções. Para isto, camundongos foram imobilizados em tela de náilon como mostra a Fig.1, com a cabeça recurvada para o ventre, para que o animal não furasse a tela. Em volta do corpo do camundongo a tela foi grampeada de forma a não permitir nenhum movimento e, posteriormente, era afixado aos tubos com os triatomíneos⁴. Após 3 a 4 minutos os triatomíneos eliminam as fezes, e, de 10 a 40 minutos eliminam a urina. As primeiras gotas do material fecal são densas e escuras, exceto após a ecdise, quando são amareladas e se cristalizam rapidamente. As gotas subseqüentes,

vão clareando até tornarem-se hialinas, neste caso considerou-se como a urina. Com o auxílio de micropipetador e com a tampa aberta apenas o necessário para introduzi-lo no frasco, colhia-se fezes ou urina, examinava-se entre lâmina e lamínula ao microscópio de inversão com médio aumento (400x) e contava-se o número de tripanossomas¹.

As formas epimastigotas e tripomastigotas foram diferenciadas pela morfologia e pela mobilidade que se apresenta chicoteante, lenta e com movimento irregular para epimastigotas e, serpenteante, rápida e direcional, para tripomastigotas.

RESULTADOS

Os resultados são apresentados na Tabela 1. A quantidade de formas epimastigotas foi significativamente maior do que as tripomastigotas, nas fezes e, na urina houve uma inversão, a quantidade de tripomastigotas foi significativamente maior do que epimastigotas. Verificou-se, também, que não houve resultado negativo para epimastigotas nas fezes e nem tripomastigotas na urina em nenhum dos pacientes estudados.

DISCUSSÃO

A partir deste trabalho e com o uso da técnica das dejeções espontâneas, tornar-se-á mais fácil a preparação de inóculos com a urina e, por conseguinte, maior sucesso na infecção de camundongos⁷.

A técnica das dejeções espontâneas permite realizar a leitura do xenodiagnóstico quantas vezes for conveniente, devido ao fato de se alimentar o triatomíneo para se obterem as dejeções sem causar-lhe nenhum tipo de traumatismo. É característica dessa técnica a utilização do material fecal sem diluí-lo em solução salina, como é feito com o método da compressão abdominal e neste trabalho, evidenciou-se uma predominância de epimastigotas sobre as tripomastigotas; examinaram-se separadamente fezes e urina e/ou um "pool" delas. O exame separado da urina ficou caracterizado pela predominância de tripomastigotas em material hialino, praticamente livre de contaminação de fungos e de bactérias, possibilitando assim, uma melhor infectividade de animais de laboratório e/ou clonagem de cepas. Além disso, essa técnica permite estudar a relação parasito-hospedeiro e a curva parasitária do vetor infectado, durante todo o seu desenvolvimento ninfal e sua longevidade.

SILVA,H.H.G.; SANTOS,A.H.; ISAC,E. & SILVA,I.G. Eliminação de epimastigotas e tripomastigotas estimada através de leitura do xenodiagnóstico, pelo método das dejeções espontâneas. Rev.Pat.-Trop.,23(1):101-106,jan./jun.1994.

Tabela 1 - Quantidade de formas epimastigotas e tripomastigotas eliminadas pelo *Triatoma infestans* e estimada por lâmina, através da leitura do xenodiagnóstico.

PACIENTES	FEZES		URINA	
	Epimastigota	Tripomastigota	Epimastigota	Tripomastigota
01	107	76	72	162
02	14	10	26	50
03	03	00	00	61
04	210	12	00	15
05	05	05	02	05
06	25	100	09	90
07	01	09	250	350
08	01	05	00	02
09	03	00	00	04
10	04	02	02	03
11	02	00	02	08
12	05	00	00	20
13	10	01	10	10
14	02	48	81	496
15	15	02	52	101
16	12	00	00	172
17	10	39	15	50
18	122	12	441	32
19	02	03	21	101
20	106	09	00	61
21	72	00	00	153
22	80	61	12	04
23	30	07	17	183
24	04	00	00	55
25	02	00	03	03
26	15	03	05	60
27	03	00	00	26
28	84	00	00	05
29	50	00	00	19
30	138	02	00	15
MÉDIA	37,9	13,5	34,3	100,5
ERRO PADRÃO	±9,7	±4,6	±16,3	±29,6

SILVA,H.H.G.; SANTOS,A.H.; ISAC,E. & SILVA,I.G. Eliminação de epimastigotas e tripomastigotas estimada através de leitura do xenodiagnóstico, pelo método das dejeções espontâneas. Rev.Pat.-Trop.,23(1):101-106,jan./jun.1994.

A inoculação da urina ao invés de fezes, apresenta as seguintes vantagens: ter maior número de tripomastigotas, inóculo com pouca contaminação e maior infectividade.

SUMMARY

Epimastigote and tripomastigote elimination by xenodiagnosis reading by spontaneous dejection method

Thirty patients on the chronic phase of Chagas' disease were submitted to xenodiagnosis, in order to evaluate the quantity of evolutive forms (epimastigote and tripomastigote).

In faeces, the quantity of epimastigotes was significantly higher than with tripomastigotes. In urine, the number of tripomastigotes was significantly higher than with epimastigote by spontaneous dejection method (*t* test, $p < 0,01$).

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

KEYWORDS: Xenodiagnosis, Chagas' disease, *Trypanosoma cruzi*, evolutive forms.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRENER,Z. *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Tese de Livre Docência, Faculdade de Odontologia e Farmácia de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1961.
- SILVA,I.G. Influência da temperatura na biologia de triatomíneos.I.*Triatoma rubrovaria* (Blanchard,1843) (Hemiptera, Reduviidae). *Rev.Goiana Med.*, 31:1-37, 1985.
- SILVA,I.G. Nova técnica para a leitura do xenodiagnóstico.*Rev.Goiana Med.*, 36:35-39, 1990.
- 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.

SILVA,H.H.G.; SANTOS,A.H.; ISAC,E. & SILVA,I.G. Eliminação de epimastigotas e tripomastigotas estimada através de leitura do xenodiagnóstico, pelo método das dejeções espontâneas. *Rev.Pat.-Trop.*,23(1):101-106,jan./jun.1994.

05. 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.
06. SILVA,I.G & SILVA,H.H.G. Estudo comparado do desenvolvimento de triatomíneos a duas temperaturas. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*,**84**:499-500, 1989.
07. SILVA,I.G & SILVA,H.H.G. Suscetibilidade de 11 espécimes de 7 triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) à cepa Y de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanossomatidae). *Rev.Bras.Ent.*, **37**:459-463, 1993.