Rev. Pat. Trop. 13(1): 1-7, jan./abr. 1984

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE TRIATOMA INFESTANS E PANSTRONGYLUS MEGISTUS PELA CEPA Y DO TRYPANOSOMA CRUZI (SILVA E NUSSENZWEIG, 1953)

Elisabeth Bronfen(1), João Carlos Pinto Dias(1) e Sílvia Costa Gouveia(2)

RESUMO

Ninfas de 3o. estádio de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* foram alimentadas em camundongos infectados com cepa Y do *Trypanosoma cruzi* no 4o., 5o., 6o., 7o. e 8o. dias da infecção. A cepa Y do *T. cruzi* mostrou que infecta diferentemente as duas espécies. A infecção do *P. megistus* pela cepa Y foi mais eficiente em relação ao número de insetos positivos, ao aumento da positividade ao longo do tempo e à permanência da infecção. Os dados também sugerem que para infectar o *T. infestans* a cepa Y seja utilizada preferencialmente no 5o., dia da infecção em camundongos e o *P. megistus* no 6o., ou no 7o. dia.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi, Panstrongylus megistus, Triatoma infestans,* suscetibilidade de triatomíneos.

INTRODUÇÃO

Vários fatores parecem influenciar na habilidade do *T. cruzi* de se estabelecer no trato intestinal dos triatomíneos (3, 14). Neste trabalho procuramos verificar como a cepa Y do *T. cruzi*, infecta *T. infestans* e *P. megistus* em diferentes dias do curso de sua infecção em camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas ninfas de 3o., estádio de *T. infestans* obtidas de colônia procedente de Barreiras, Bahia, mantidas em insetário climatizado a 28 – 29°C e 60-70% de umidade, desde 1975 e de *P. megistus*, procedentes de Bambuí, Minas Gerais, mantidas desde 1976 nas mesmas condições. As ninfas foram alimentadas em camundongos infectados com a cepa Y do *T. cruzi* no 4o., 5o., 6o., 7o. e 8o. dias de infecção, observando-se um período de 14 dias de jejum prévio a este repasto.

As médias de tripomastigotas ingeridos por triatomíneo foram de respectivamente 1.172 formas no 4o. dia, 2.643 no 5o., 13.790 no 6o., 98.554 no 7o. e 5.528 no 8o. Estes números foram calculados a partir da parasitemia em camun-

(1)Centro de Pesquisas "René Rachou", FIOCRUZ, Belo Horizonte.
(2)Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BRONFEN, E.; DIAS, J.C.P. & GOUVEIA, S.C.; Infecção experimental de triatoma infestans e panstrongylus megistus pela cepa y do trypanosoma cruzi (Silva e Nussenzweig, 1953). Rev. Pat. Trop. 13(1): 1-7, jan./abr. 1984.

dongos (2) e do volume ingerido por triatomíneo (determinado por pesagem em balança eletrônica OWALABOR). A média de volume de sangue ingerido foi de 41,4±30 mg/ninfa. As ninfas foram acompanhadas individualmente após o repasto infectante durante 60 dias, anotando-se as mortes no período. Os insetos foram realimentandos em camundongos não-infectados, no 20o. e 50o. dias da observação. O conteúdo retal de cada ninfa foi examinado aos 15, 30, 45 e 60 dias após o repasto infectante, material obtido por compressão abdominal (10). Esta periodicidade nos exames objetivou verificar possíveis flutuações e a tendência da infecção em cada inseto e no grupo de insetos. Neste sentido, as ninfas ainda negativas no 60o. dia foram dissecadas para microscopia do conteúdo retal do tubo digestivo (6), bem como foi feita a inoculação deste material em camundongos "babies", quando persistiu a negatividade (9, 12). O critério para considerar-se o material examinado (fezes, tubo digestivo ou sangue) negativo consistiu no exame microscópico de todos os campos de uma lamínula 22 x 22mm, sob ocular 10 e objetiva 40.

RESULTADOS

O Gráfico I mostra os resultados relativos à positividade dos triatomíneos que se alimentaram em camundongos, nos diferentes dias de parasitemia da cepa Y. A positividade ao longo do tempo, obtida com o *P. megistus* foi significativamente maior que a observada com o *T. infestans* (*r* sempre maior que 0.88; $p < 0.05$). Verifica-se, em geral, que o 8o. dia da infecção do camundongo foi aquele menos eficaz para a infecção dos triatomíneos em ambas as espécies. Para o *T. infestans* foi igualmente inadequado o 4o. dia (Gráfico I). O comportamento das duas espécies parece ser distinto, em especial quando analisados os experimentos realizados no 5o., 6o. e 7o. dias da infecção no camundongo. No 5o. dia, obteve-se o menor número de *P. megistus* positivos, em relação aos demais dias (42.8% ao final de 60 dias) e o maior número de *T. infestans* positivos (68.1% ao final de 60 dias) ($p = 0.001$). O 5o. dia da infecção de camundongo seria então, neste aspecto, o mais adequado para se infectar *T. infestans* com a cepa Y, o que não ocorre para o *P. megistus*.

No 7o. dia, correspondente ao pico de parasitemia da cepa Y em camundongos, quando então ela é utilizada comumente em experimentos de laboratório, observa-se uma nítida diminuição da positividade do *T. infestans* ao longo do tempo. O Gráfico I mostra que para o *T. infestans* foram positivos 67.8% dos indivíduos examinados no 15o. dia contra 14.28% no 60o. Dissecando-se e inoculando-se em "babies" os insetos negativos neste último exame, obtiveram-se mais 27.7% de positivos, resultando uma positividade final de 41.98%. Considerando-se isoladamente o acompanhamento dos insetos positivos no exame de 15 dias, verificou-se que em 43.8% dos mesmos houve perda da infecção no 60o. dia.

Para os tripanosomas sugados no 5o. dia da infecção em camundongos, *T. infestans* e *P. megistus* apresentaram distintos resultados. Com *T. infestans* observou-se tendência à permanência e elevação da positividade em exames subsequentes, tendo este sido o dia que proporcionou maior percentual de insetos infectados (Gráfico I). A positividade geral dos

BRONFEN, E.; DIAS, J.C.P. & GOUVEIA, S.C.; Infecção experimental de triatoma infestans e panstrongylus megistus pela cepa y do trypanosoma cruzi (Silva e Nussenzweig, 1953). Rev. Pat. Trop. 13(1): 1-7, jan./abr. 1984.

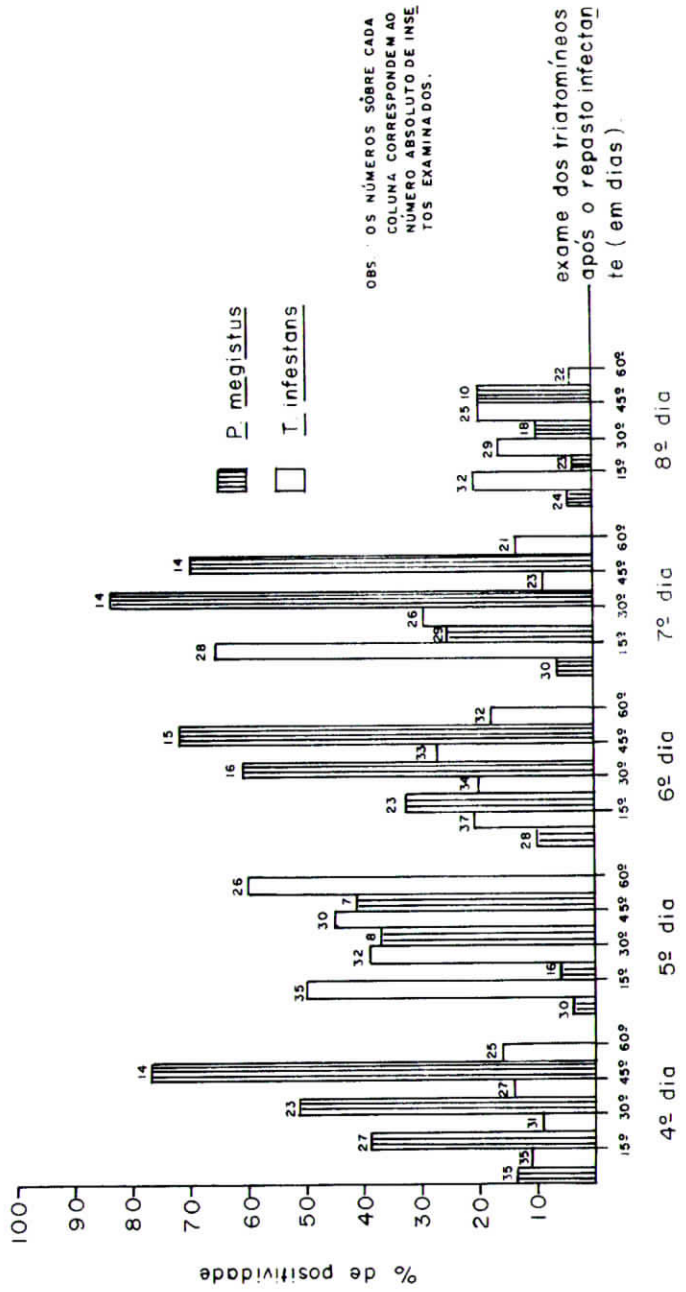

GRÁFICO 1 – Positividade de ninfas de 3o. estádio de *T. infestans* e *Pasntrongylus megistus* alimentadas em camundongos infectados com a cepa Y do *T. cruzi* no 4o, 5o, 6o, 7o. e 8o. dias de parasitemia

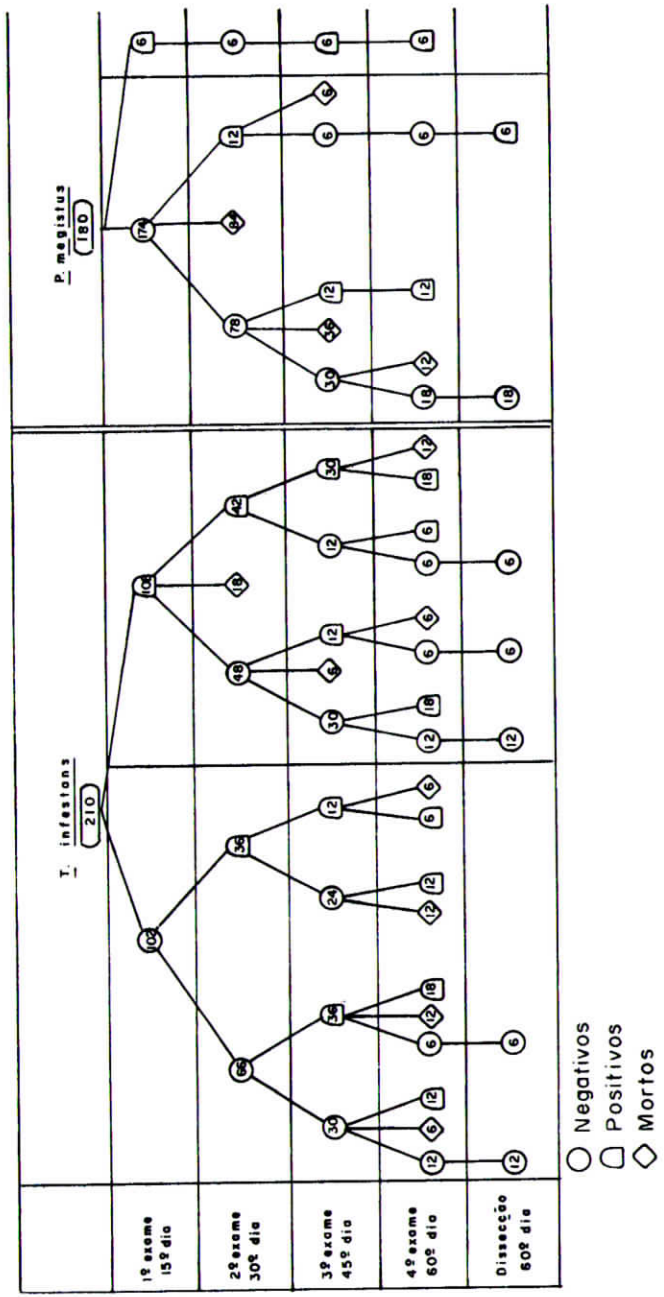

FIGURA 1 – Acompanhamento individual das ninfas de 3o. estádio de *T. infestans* e *P. megistus* infectadas com a cepa Y do *T. cruzi* no 5o. dia da infecção

T. infestans que se alimentaram no 5o. dia foi de 48.25% (média de todos os exames) contra 12.5%, 21,5%, 29,0% e 15.0% respectivamente no 4o., 6o., 7o. e 8o. dias da infecção do camundongo. Ao contrário dos *T. infestans* alimentados em camundongos no 7o. dia de infecção, os do 5o. dia que tinham sido positivos ao exame inicial elevaram no último exame sua positividade em 11%.

A Figura I representa o acompanhamento individual dos insetos alimentados no 5o. dia da infecção do camundongo. Verifica-se que, em exames sucessivos, o mesmo triatomíneo pode apresentar flutuações de resultado, fornecendo material ora positivo, ora negativo.

Para *T. infestans* é observada uma pequena tendência à perda da infecção para indivíduos anteriormente positivos (27,7%). Para *P. megistus* este acompanhamento mostra a persistência da infecção nos barbeiros positivos (24 indivíduos) e a não-infecção de 18 indivíduos (Figura I). O 5o. dia da infecção de camundongos resultou numa positividade geral de 22,0% dos *P. megistus* (média de todos os exames), frente a 44,7%, 43,8%, 46,5% e 9,2% respectivamente para o 4o., 6o., 7o. e 8o. dia.

Não se verificaram indícios de perda de infecção de *P. megistus* em nenhum dos experimentos. Ao contrário, em todas as observações esta perda ocorreu em *T. infestans*, minimizada apenas no 5o. dia da infecção de camundongos.

DISCUSSÃO

A cepa Y do *T. cruzi* mostrou que se comporta diferentemente em *P. megistus* e *T. infestans*, e esta observação está de acordo com os dados anteriormente colocados (7, 8, 13). A nítida diferença de comportamento entre as duas espécies, que tiveram chances idênticas para se infectarem na mesma fonte, é sugestiva também de uma eficiência diferente na interação qualitativa entre cepa e vetor, antes de ser um problema ligado ao "input" numérico de tripomastigotas (11, 5). Neste aspecto, a infecção de *P. megistus* por cepa Y foi mais eficiente que de *T. infestans*, em relação ao número de insetos positivos obtidos, ao aumento da positividade ao longo do tempo e à permanência da infecção. Esta última espécie se infecta menos que *P. megistus* e tende a perder a positividade, fato minimizado quando alimentada no 5o. dia da infecção de camundongos (4).

As condições experimentais deste trabalho sugerem que a cepa Y deva ser utilizada para infectar o *T. infestans*, preferencialmente, no 5o. dia da infecção em camundongos e o *P. megistus*, no 6o. ou no 7o. dia.

O presente trabalho também mostra como exames repetidos no mesmo triatomíneo, podem apresentar flutuações de positividade pelo método de compressão abdominal, o que também ocorre estudando-se as dejeções espontâneas dos triatomíneos (4).

Resta ainda analisar o que acontece no intervalo entre um exame positivo e o negativo subseqüente. A metodologia da comprovação do parasitismo do barbeiro através da compressão abdominal nos informa pouco a respeito da presença dos flagelados ao longo de seu tubo intestinal (6, 1), embora retrate razoavelmente bem o que se passa na ampola retal(10). A eliminação espontânea de flagelados pode depender de sua presença no intestino terminal mas também de sua capacidade de

adesão no epitélio da ampola retal (15). Configura-se então uma sensibilidade relativa do método de compressão; parece arriscado falar em negatividade do triatomíneo com uma única observação. O presente trabalho tem também aplicação prática no exame do xenodiagnóstico. Para determinadas circunstâncias (fase da doença, cepa envolvida, etc.) uma dissecção precoce eliminaria os riscos de falsos negativos, justificando novas investigações quanto ao tempo e a metodologia do exame. Induz-se também a eventual necessidade de se empregar mais de uma espécie de triatomíneo no xenodiagnóstico, o que ampliaria a sensibilidade deste teste.

SUMMARY

Experimental infection of Triatoma infestans and Panstrongylus megistus by strain y of Trypanosoma cruzi (Silva and Nussenzweig, 1953).

Third stage nymphs of *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* were fed to mice infected with *Trypanosoma cruzi* Y strain on the 4th, 5th, 6th, 7th and 8th day after infection. The Y strain infects differently the two species of triatomines. The infection of *P. megistus* by strain Y was more efficient as was demonstrated by the higher number of total positive insects, the gradual increase of the percentage of positive insects and by the persistence of infection. Strain Y should be used to infect mice *T. infestans* preferably on the 5th day and *P. megistus* on 6th and 7th days.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Dr. Zigman Brener, pelas sugestões apresentadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALVARENGA, N. J. Evolução do Trypanosoma cruzi no trato intestinal do Triatoma infestans. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, 1974. 55p. Tese.

02. BRENER, Z. Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, 1961, 77p. Tese.

03. BRENER, Z. – O parasito: relações hospedeiro-parasito. In: BRENER, Z. & ANDRADE, Z. *Trypanozoma Cruzi e Doença de Chagas.* Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1979.

04. BRONFEN, E.; DIAS, J. C. P. & ROCHA, F. S. A. Studies on spontaneous elimination of infectant dejections of *Triatoma infestans* infected with *Trypanosoma cruzi* (Y strain). In: Reunião Anual de Pesquisa Básica em Doença de Chagas, 7, Caxambu, 1980.

05. DEANE, M. P. Significance of polymorphism in *Trypanosoma cruzi*. In: Congresso Internacional sobre Doença de Chagas, Rio de Janeiro, 1979.

06. DIAS, E. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi.* Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 28 (1): 1-100, 1934.

07. FERNANDES, L. A. R. – Contribuição para o estudo do xenodiagnóstico. Aspectos da relação entre amostras do *Trypanosoma cruzi* e espécies de triatomíneos. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 1977. 65p.

08. FRANCISCON, J. H. – Manutenção cíclica do Trypanosoma cruzi em laboratório. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, 1978. 71p.

09. FREITAS, J. L. P. – Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. Faculdade de Medicina/Universidade de São Paulo, 1947. Tese.

10. GUEDES, A. S. Determinação do índice de infecção de triatomíneos por *Shizotrypanum cruzi* pelo exame simples de fezes obtidas por expressão e por dissecção do intestino posterior do inseto. Dados preliminares. Rev. Bras. Malariol., 4: 464-465, 1952.

11. NEAL, R. A. & MILES, R. A. – The number of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* required to infect *Rhodnius prolixus.* Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 19: 177-181.

12. SIQUEIRA, A. F. Diagnóstico Parasitológico. In: CANÇADO, J. R. *Doença de Chagas.* Belo Horizonte, Imprensa Oficial, 1968.

13. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. – Experiments in a search for an insect model for xenodiagnosis of chronic Chagas' disease. In: Congresso Internacional sobre Doença de Chagas, Rio de Janeiro. 1979. (Resumos dos Trabalhos).

14. ZELEDON, R. – Host relationship in the vector. In: New Approaches of Trypanosomiasis Research. Washington, DC, 1975. (Scientific Publication n. 318).

15. ZELEDON, R. Scanning electron microscopy of the final phase of the life cycle of *Trypanosoma cruzi* in the insect vector. Acta Tropica, 41: 39-43, 1984.