

ESTUDO DE UMA CEPAS PERUANA DE *TRYPANOSOMA RANGELI*. III — OBSERVAÇÕES SOBRE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *PANSTRONGYLUS HERRERI* WYGODZINSKY, 1948

César A. Cuba CUBA (*)

RESUMO

Em infecções experimentais, por via natural, de exemplares de *Panstrongylus herreri*, com uma cepa peruana de *Trypanosoma rangeli* mantida ciclicamente por passagens do inseto vector (*Rhodnius ecuadoriensis*) ao hospedeiro vertebrado verificou-se, por dissecação, que 60% de 30 insetos apresentavam flagelados no tubo digestivo 20 dias depois do repasto infectante. Da mesma maneira, 53,2% de 30 ninfas III e IV apresentavam a hemolinfa invadida pelo tripanosoma. Nas observações feitas para estabelecer o período de invasão hemolinfática, comprovou-se que 8 exemplares apresentavam parasitas na hemocele 37 dias depois do início da experiência, obtendo-se, ao final das observações, 16 *P. herreri* com hemolinfa positiva. Constitui, em nossa experiência, o período do 37.º ao 47.º dia, lapso da passagem do *T. rangeli* à hemolinfa do inseto. Exames repetidos de hemolinfa efetuados em 10 insetos positivos mostraram que 6 haviam, aparentemente, eliminado a infecção entre os 37 e 50 dias posteriores à primeira comprovação da presença na hemocele. Apesar de haverem sido usados 10 triatomíneos com 1 a 52 dias de parasitismo hemolinfático comprovado, nenhum deles transmitiu o *T. rangeli* por picada, fato explicado pela negatividade das glândulas salivares quanto à presença do parasita. Concluímos que *Panstrongylus herreri* apresenta elevada frequência de invasão da hemolinfa, porém as glândulas salivares, ao que parece, nunca são invadidas, o que impediria a esta espécie atuar como vector do *T. rangeli*.

INTRODUÇÃO

É amplamente conhecido que experiências de laboratório visando determinar a susceptibilidade de diversas espécies de triatomíneos a cepas diferentes de *Trypanosoma rangeli* demonstraram a relativa facilidade com que o flagelado evolui e se reproduz no trato digestivo do vector. Aparentemente a fase intestinal do ciclo do tripanosomatídeo realiza-se com facilidade, porém sua passagem para a cavidade geral e ulterior evolução hemolinfática, até culminar com a invasão das glândulas salivares do inseto vector, é muito variável e inconstante, inclusive fra-

cassando totalmente em algumas espécies de triatomíneos^{5, 9, 15}. Parece que este fato dependeria, entre outros, de fatores relacionados com as cepas empregadas de *T. rangeli* e dos triatomíneos.

Com o fim de descrever o comportamento do *Panstrongylus herreri* frente à infecção por uma cepa peruana de *T. rangeli*, mantida ciclicamente por passagens do inseto vector ao hospedeiro vertebrado, efetuaram-se na espécie mencionada de barbeiro observações periódicas relacionadas com as infecções intestinais, período de invasão da hemolinfa,

Trabalho realizado no Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, C.P. 1743, 30.000 Belo Horizonte, Brasil

(1) Endereço atual: Faculdade de Ciências da Saúde, Depto. de Medicina Complementar, Universidade de Brasília, Brasília, D.F., Brasil

características das infecções hemolinfáticas, invasão das glândulas salivares e experiências de transmissão por picada.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de *P. herreri* provinham de uma colônia mantida no insetário do Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, MG, Brasil, e organizada a partir de exemplares coletados no norte do Peru. Em publicações anteriores indicamos a maneira como os insetos foram infectados por via natural, assim como a metodologia empregada para o estudo das infecções intestinais, hemolinfáticas e glandulares e experiências de transmissão por picada, de maneira que acreditamos não ser necessária detalhá-la.

RESULTADOS

1) Infecções intestinais

A dissecação de 30 ninfas de *P. herreri* realizada 20 dias após o repasto infectante revelou que 18 apresentaram o *T. rangeli* no tubo digestivo (60%) e nenhuma da hemolinfa.

2) Infecções hemolinfáticas

A Tabela I mostra que de 30 ninfas de *P. herreri*, 16 (53,2%) apresentaram infecção hemolinfática. Em geral as infecções se caracterizam pelo escasso parasitismo e nas preparações coradas foram vistos epimastigotas longos, epimastigotas em divisão longitudinal e tripomastigotas longos, esses últimos com morfologia semelhante aos tripomastigotas sanguíneos (Prancha I, Figs. 1-6). Em nenhum momento foi possível verificar a presença de grandes massas de epimastigotas que caracterizam as infecções de *Rhodnius ecuadoriensis*.

Também não encontramos formas evolutivas intra-hemocitárias, apesar do exame de um grande número de hemócitos, não achamos

TABELA I

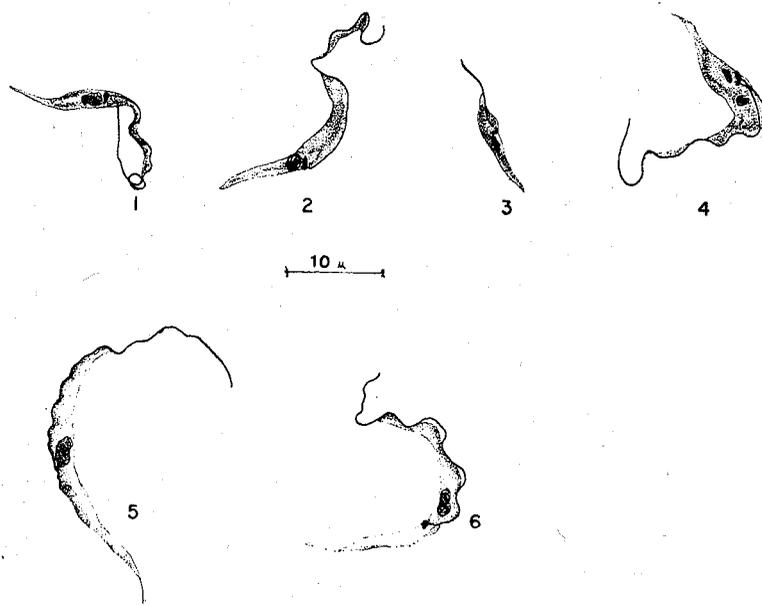
Determinação do período de invasão hemolinfática em *Panstrongylus herreri*, verificada por exames consecutivos após o repasto infectante em cobaias infectadas por *T. rangeli*

N.º de dias após o repasto infectante	N.º exames (*)	N.º positivos	% acumulada de positivos
23	30	—	—
27	30	—	—
30	30	—	—
35	30	—	—
37	30	8	26,6
40	21	3	36,6
43	15	3	46,6
47	11	2	53,2
Entre 48-55	9	—	53,2

(*) Ninfas III e IV

do evidência de atividade fagocitária dessas células. Aspecto interessante consiste na total ausência de tripomastigotas metacíclicos na hemolinfa de *P. herreri*. Aparentemente a evolução do parasita estaria restrita às formas epimastigotas que se reproduzem por divisão binária e dão origem aos tripomastigotas longos. A ausência de parasitismo hemocitário foi constatada durante um período de dois meses de observação, aproximadamente.

A mesma Tabela I mostra dados referentes ao período transcorrido entre o repasto infectante e o aparecimento dos primeiros flagelados na hemolinfa. Em nosso material, 8 exemplares apresentaram parasitas na hemolinfa 37 dias após o início da experiência, obtendo-se, ao final das observações, 16 *P. herreri* com invasão hemolinfática. Aparentemente a passagem do parasita à hemocele do triatomíneo se faz entre o 37.º e 47.º dias de infecção.



Prancha I — Infecção experimental de *P. herreri* por *T. rangeli*. Esfregaço de hemolinfa após 41 dias de infecção. Figs. 1-3 — Epimastigotas. Fig. 4 — Epimastigota em divisão. Figs. 5-6 — Tripomastigotas longos. Desenhos em câmara-clara.

3) Invasão de glândulas salivares

3.1 — Tentativas de transmissão por picada

Foram realizadas 28 tentativas de transmissão por picada, empregando-se 10 *P. herreri* que apresentavam invasão comprovada da hemolinfa (Tabela II). Embora tenham sido usados triatomíneos com 1 a 52 dias de invasão hemolinfática determinada, nenhum deles transmitiu o *T. rangeli* por picada, fato verificado pela negatividade dos exames de sangue a fresco, hemoculturas e xenodiagnósticos dos camundongos sugados.

3.2 — Persistência da infecção hemolinfática

Em 10 exemplares de *P. herreri* nos quais foi comprovada invasão hemolinfática, exames repetidos mostraram que 6 aparentemente eliminaram a infecção entre 37 e 50 dias após a primeira comprovação da presença

dos flagelados na cavidade geral. Os insetos foram posteriormente dissecados (cerca de 97 dias após o repasto infectante), sendo que a hemolinfa e as glândulas salivares estavam totalmente livres de parasitas, o que explica a ausência de transmissão por picada.

4) Influência da infecção por *T. rangeli* sobre a ecdise dos triatomíneos

Durante o transcurso das infecções experimentais de *P. herreri*, pudemos constatar, em triatomíneos que apresentavam parasitismo da hemolinfa, um certo número de deformações que ocorriam principalmente nas ninfas de 5.º estágio: a) Regiões cefálica e torácica fortemente dobradas sobre a superfície ventral, com a cutícula remanescente ainda cobrindo o abdômen do inseto aparentemente incapaz de completar a muda (Prancha II, 1); b) Impossibilidade do processamento da ecdise, apesar da formação da nova cutícula (Prancha II, 2).

TABELA II

Tentativas de transmissão de *T. rangeli* a camundongos através de picada de *P. herreri* (*) com invasão hemolinfática, todas com resultado negativo

Triatomíneo N.º	N.º de dias após o repasto infectante	N.º de dias de invasão hemolinfática
10	47	1
9	43	4
7	40	7
8	40	7
10	47	10
1	37	10
2	37	10
3	37	10
4	37	10
6	37	10
2	37	15
3	37	15
5	37	15
1	37	20
4	37	20
6	37	20
10	47	23
7	40	30
9	43	30
1	37	33
4	37	33
5	37	33
6	37	33
2	37	33
10	47	42
7	40	49
10	47	51
6	37	52

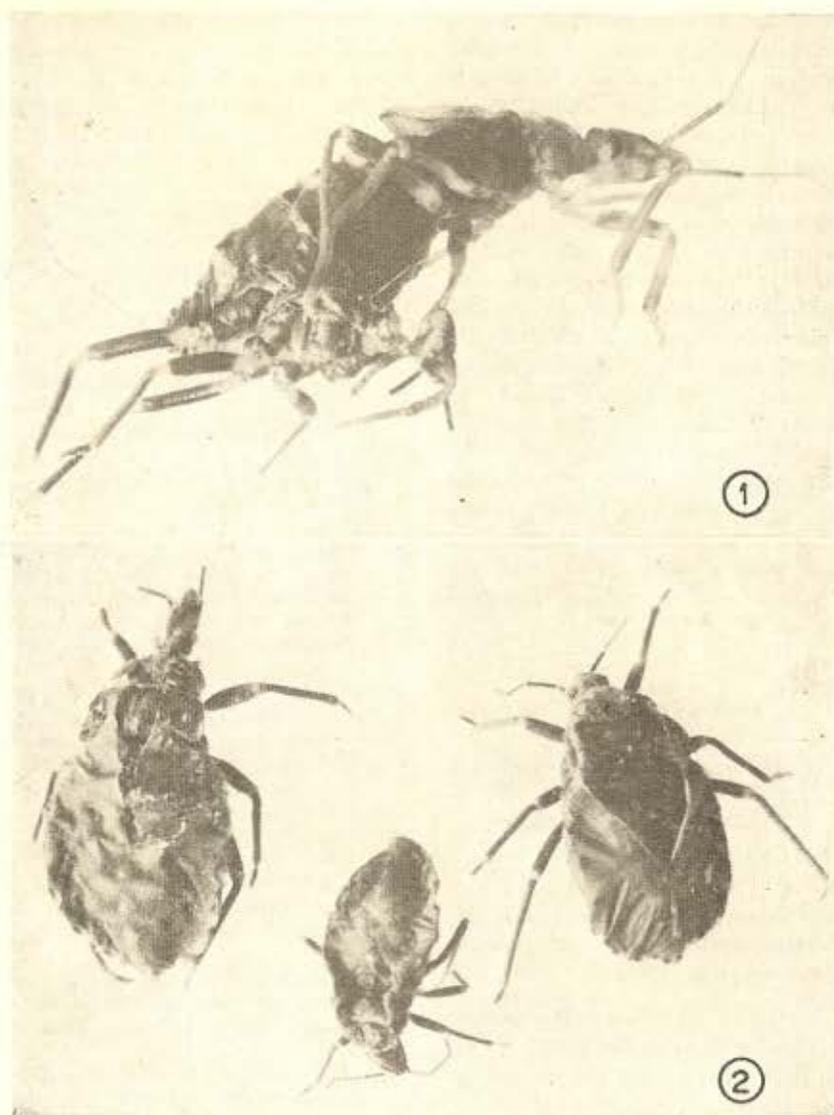
(*) Ninfas IV e V

DISCUSSÃO

O encontro de elevada infecção hemolinfática do *P. herreri* nos fez supor haveremos encontrado um vector potencial de grande importância para a transmissão do *T. rangeli* no Peru. Como, entretanto, foi verificado posteriormente, a evolução do flagelado nessa espécie de triatomíneo não conduz à invasão das glândulas salivares e embora a infecção se mantenha por período relativamente longo (60-90 dias), ela é depois, aparentemente, eliminada do inseto de forma total. Algo semelhante foi descrito por Canese, segundo HOARE⁹, no caso de *T. infestans* no Paraguai, no qual o *T. rangeli* invade

a hemolinfa e evolui por um mês, após o que os flagelados desaparecem sem invadir as glândulas salivares. Ainda em relação à eliminação espontânea da infecção por *T. rangeli* em triatomíneos, ZELEDÓN & BLANCO¹⁵, estudando *T. infestans* infectado por xenodiagnóstico artificial, informam haver comprovado uma tendência marcada ao desaparecimento da infecção intestinal depois de algum tempo, assim como a existência, nessa espécie, de uma "inmunidad celular" que impediria a proliferação do parasita na hemolinfa e sua posterior invasão das glândulas salivares. ZELEDÓN & col.¹⁴, inoculando na hemocele de *T. infestans* abundante material de cultura, não conseguiram uma verdadeira infecção hemolinfática, concluindo que o triatomíneo possui "mecanismos defensivos celulares que provocan un aborto precoz de la infección". A eliminação espontânea da infecção intestinal foi também observada em exemplares adultos de *R. prolixus* por TOBIE¹⁰ e por D'ALESSANDRO & MANDEL⁴, que a verificaram após um período de observação de 31 a 127 dias. D'ALESSANDRO⁵ observou alta frequência de invasão hemolinfática em *Triatoma rubrovaria*, mas as glândulas salivares nunca se mostraram infectadas. Os parasitas foram vistos na hemolinfa de uma grande proporção de insetos por mais de 143 dias.

Cumprе recordar que COUTINHO & NUSSENZWEIG¹ não conseguiram infectar *Pastrongylus megistus* por inoculação, na cavidade geral, de formas de cultura de uma cepa venezuelana de *T. rangeli*. Constitui, portanto, aparentemente, a nossa experiência com *P. herreri*, a primeira referência de sucesso, embora parcial, na infecção de espécimes do gênero *Panstrongylus* com *T. rangeli* em laboratório. Esse achado apresenta, para o Peru, certa importância epidemiológica, já que o *P. herreri*, distribuído na região setentrional daquele país, é considerado o principal vector da doença de Chagas nessa região. Considerando que nessa área geográfica já foi constatada a presença de *T. rangeli* (HERRER & WYGDZINSKY⁸), não seria improvável a existência, em a natureza de infecções mistas por *T. cruzi*, *T. rangeli* nessa espécie de triatomíneo.



Prancha II — Distúrbios de ecdise e deformações em *Panstrongylus herreri* experimentalmente infectados com *T. rangeli*. 1) Ninfa V, 15 dias de infecção hemolinfática. Ecdise incompleta. 5 X. 2) Ninfas IV e V, 10 dias de infecção hemolinfática, apresentando distúrbios da ecdise. 5 X.

A cepa peruana de *T. rangeli* é patogênica para *P. herreri* experimentalmente infectado. Nossa intenção, a esse respeito, não é discutir profundamente o problema relacionado a patogenicidade que o *T. rangeli* demonstra para o seu hospedeiro invertebrado, já que os nossos achados se limitaram unicamente a observações esporádicas com relação à interferência do *T. rangeli* com o

fenômeno da ecdise na espécie mencionada. Acreditamos, entretanto, que as nossas observações representem uma contribuição adicional ao conjunto de investigações efetuadas por outros Autores, principalmente com *R. prolixus*. GREWAL⁷ foi o primeiro a assinalar uma alta mortalidade de ninfas de *R. prolixus* experimentalmente infectadas com *T. rangeli*, as quais eram incapazes de so-

frer mudanças devido a um bloqueio do sistema circulatório do inseto resultante da infecção hemolinfática. Esses achados foram posteriormente confirmados por TOBIE¹⁰, GOMEZ⁶ e TOBIE¹². Recentemente, WATKINS¹³ descreveu, no *R. prolixus* infectado por *T. rangeli*, lesões histológicas causadas pelo parasitismo, demonstrando a invasão do flagelado na maioria dos tecidos, lesões nas células traqueiais e nervosas, assim como uma provável inibição do crescimento de um simbiote do triatomíneo, *Nocardia rhodnii*, que possivelmente determinaria distúrbios da ecdisse. Uma outra causa de mortalidade seria, segundo Watkins, a auto-intoxicação causada pelas lesões nos sistemas muscular, nervoso e traqueal dos insetos. No caso da espécie estudada por nós, as deformações macroscópicas que observamos nos insetos são bastante semelhantes às verificadas por WATKINS¹³ em *R. prolixus* experimentalmente infectados.

SUMMARY

Studies on a Peruvian strain of Trypanosoma rangeli. III — Observations on the experimental infection of Panstrongylus herreri Wygodzinsky, 1948

Experiments were made to determine the fate of *Trypanosoma rangeli* ingested in blood meals by *Panstrongylus herreri*.

60% of a batch of thirty *P. herreri* nymphs and adults showed intestinal infections, twenty days after being fed on an infected guinea pig.

The haemolymph of sixteen of a group of thirty nymphs in the third and fourth instars (53.2%), contained flagellates after the bugs were given an infective blood meal; *T. rangeli* was present in eight of the 37 days after feeding and in the remaining eight between 38 and 47 days. These data suggest that the haemolymph is invaded by *T. rangeli* between 37 and 47 days after the infective blood meal. The repeated examination of ten infected bugs showed that six had apparently lost the infection between 37 and 50 days after its detection in the haemocoel.

Ten *P. herreri* with haemocoelic infections failed to transmit *T. rangeli* to laboratory mice during a period of 52 days. Dissection of the bugs salivary glands revealed that no flagellates were present.

It is concluded that although *P. herreri* can show both haemocoelic and intestinal infections of *T. rangeli*, it is not a natural vector of this flagellate as no salivary gland infection occurs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COUTINHO, J. O. & NUSSENZWEIG, V. — Infecção experimental de triatomíneos pelo *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. *Fól. Clín. Biol.* 18:181-188, 1952.
2. CUBA, C. C. — Estudo de uma cepa peruana de *Trypanosoma rangeli*: I. Verificação da infecção natural de glândulas salivares em *Rhodnius ecuadoriensis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16:10-18, 1974.
3. CUBA, C. C. — Estudo de uma cepa peruana de *Trypanosoma rangeli*: II. Observações sobre a infecção experimental de *Rhodnius ecuadoriensis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16:19-27, 1974.
4. D'ALESSANDRO, A. & MANDEL, S. — Natural infections and behavior of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in the vector *Rhodnius prolixus* in Colombia. *J. Parasitol.* 55:846-852, 1969.
5. D'ALESSANDRO, A. — New experimental vectors of Colombian *Trypanosoma rangeli*. *J. Med. Ent.* 9:187-195, 1972.
6. GOMEZ, I. — Nuevas observaciones acerca de la acción patógena del *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 sobre *Rhodnius prolixus* Stal, 1859. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:5-10, 1967.
7. GREWAL, M. S. — Pathogenicity of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in the invertebrate host. *Exp. Parasitol.* 6:123-130, 1957.
8. HERRER, A. & WYGDZINSKI, P. — Presencia del *Trypanosoma rangeli* in el Peru. Libro de Resúmenes de Trabajos del I Congr. Nacional Microbiol. y Parasit., Arequipa, Peru, p. 60, 1964.
9. HOARE, C. A. — Morphological and Taxonomic studies on Mammalian Trypanosomes. XI — The systematic position of *Try-*

CUBA, C. A. C. — Estudo de uma cepa peruana de *Trypanosoma rangeli*. III — Observações sobre a infecção experimental de *Panstrongylus herreri* Wygodzinsky, 1948. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17:211-217, 1975.

- panosoma rangeli*. IN *Medicina Tropical*. Anselmi, A. (Ed.) México, Fournier S.A., pp. 277-287, 1968.
10. TOBIE, E. J. — Biological factors influencing transmission of *Trypanosoma rangeli* by *Rhodnius prolixus*. *J. Parasitol.* 51:837-841, 1965.
11. TOBIE, E. J. — The relation of *Trypanosoma rangeli* to its vector. IN *Medicina Tropical*. Anselmi, A. (Ed.). México, Fournier S.A., pp. 291-305, 1968.
12. TOBIE, E. J. — Observations on the development of *Trypanosoma rangeli* in the hemocoel of *Rhodnius prolixus*. *J. Invertebrate Pathol.* 15:118-125, 1970.
13. WATKINS, R. — Histology of *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma rangeli*. *J. Invertebrate Pathol.* 17:59-66, 1971.
14. ZELEDON, R.; MONGE, E. & PEREZ, C. L. — Relaciones huésped-parásito en tripanosomiasis. *Proc. VII Internat. Congr. Trop. Malaria*, Rio de Janeiro, pp. 245-246, 1963.
15. ZELEDON, R. & BLANCO, E. — Relaciones huésped-parásito en tripanosomiasis rangeli. I. Infección intestinal y hemolinfática comparativa de *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*. *Rev. Biol. Trop.* 13:143-156, 1965.

Recebido para publicação em 14/8/1974.