

CICLO EVOLUTIVO DO *HEPATOZOON TRIATOMAE* (SPOROZOA, HAEMOGREGARINIDAE) PARASITA DE TRIATOMÍNEOS

Eduardo Olavo da Rocha e Silva *

RSPU-B/277

ROCHA E SILVA, E. O. da — *Ciclo evolutivo do Hepatozoon triatomae (Sporozoa, Haemogregarinidae) parasita de triatomíneos. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 9:383-91, 1975.*

RESUMO: *Relata-se o encontro no Estado de São Paulo, Brasil, de triatomíneos e lagartos, respectivamente o Triatoma arthurneivai e Tropicodurus torquatus, parasitados por uma hemogregarina semelhante a Hepatozoon triatomae (Osimani, 1942) Reichenow, 1953. São apresentados aspectos da sua morfologia e estudadas as diversas fases do seu ciclo evolutivo, este inteiramente reproduzido em laboratório.*

UNITERMOS: Sporozoa. Hepatozoon triatomae. Triatoma. Tropicodurus.

INTRODUÇÃO

Talice¹⁰ (1929) ao examinar exemplares do *Triatoma rubrovaria*, foi quem observou pela primeira vez, formas esporozoitais livres, representativas da fase esporogônica de uma hemogregarina, no conteúdo intestinal dos triatomíneos. Foi ainda no Uruguai (Maldonado) que Osimani⁵ (1942) encontrou novos exemplares da mesma espécie, infectados simultaneamente pela hemogregarina e *Trypanosoma cruzi*, identificando na ocasião o hospedeiro definitivo do esporozoário, um lagarto (*Tupinambis teguixin*) e classificando o parasita como sendo a *Haemogregarina triatomae*.

Mais recentemente, no Arizona (USA), Bice¹ (1965), ao examinar exemplares do *Triatoma rubida uhleri*, capturados em abrigos de roedores silvestres, os encontrou infectados com hemogregarina, con-

siderada pelo autor como a mesma descoberta por Osimani, agora reclassificada como *Hepatozoon triatomae* (Osimani, 1942) Reichenow, 1953.

Os habitáculos naturais do *Triatoma arthurneivai* Lent et Martins, 1940, foram descobertos por Corrêa e col.² (1965) ao depararem com ovos, ninfas e alados da espécie, sob lascas de granito róseo (granito de Itu), nas proximidades da cidade de Sorocaba, Estado de São Paulo. Saliaram no trabalho, a presença nesses ecótopos de grande número de lagartos (*Tropicodurus torquatus* Wied.) e roedores.

A associação alimentar triatomíneo-lagartídeo, especificamente no caso, *T. arthurneivai* — *T. torquatus*, foi sugerida por Forattini e col.³ (1968) quando descreveram aspectos do comportamento deste triatomíneo, observado em Votorantim,

* Da superintendência de Controle de Endemias da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo — Rua Tamandaré, 649 — São Paulo, SP — Brasil. Do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP — Av. Dr. Arnaldo, 715 — São Paulo, SP — Brasil.

município vizinho a Sorocaba. Ressalte-se que nossas observações identificaram um duplo sentido nesta relação alimentar.

Uma vez caracterizado os ecótopos naturais do *T. arthurneivai*, novos focos da espécie foram paulatinamente detectados nos contrafortes extremos da Serra da Mantiqueira que alcança alguns dos municípios paulistas, situados na região administrativa-5, Campinas: Bragança Paulista, Socorro, Águas de Lindóia, Serra Negra, Pinhal, Santo Antonio do Jardim, Águas da Prata, São João da Boa Vista, Vargem Grande do Sul, São Sebastião da

Gramma, São José do Rio Pardo, Divinolândia e Caconde.

A suscetibilidade deste triatomíneo ao *T. cruzi*, embora bem caracterizada em laboratório por Forattini e col.³, somente uma vez foi observada na natureza, em que pese as centenas de exemplares examinados (Tabela 1). Foi, aliás, essa procura que possibilitou o encontro da hemogregarina (Rocha e Silva e Pattoli⁹, 1970), objetivando este trabalho, o estabelecimento do seu ciclo evolutivo em laboratório e considerações sobre sua morfologia.

TABELA 1

Triatoma arthurneivai — exemplares capturados (1969 a 1974)

Municípios de procedência	Número de exemplares		
	Capturados	Examinados	Positivos para <i>T. cruzi</i>
Águas de Lindóia	10	10	—
Águas da Prata	23	22	—
Bragança Paulista	3	2	—
Caconde	1	1	—
Divinolândia	280	279	—
Pinhal	83	81	—
Santo Antonio do Jardim	46	46	—
São João da Boa Vista	2	1	—
São José do Rio Pardo	15	15	—
São Sebastião da Gramma	42	33	1 *
Serra Negra	1	1	—
Socorro	242	220	—
Vargem Grande do Sul	2	2	—
Total	750	713	1 (0,14%)

* Capturado em um anexo, juntamente com exemplares do *P. megistus*, também infectados por *Trypanosoma* tipo *cruzi*.

Fonte: SUSAM, Serviço Regional-5 — Campinas.

MATERIAL E METODOS

Na observação do ciclo evolutivo da hemogregarina na natureza, foram utilizados exemplares do *T. arthurneivai* procedentes do Bairro Lavras de Cima e Fazenda Santo Antonio, Município de Socorro. Sa-

liente-se que apenas um exemplar infectado pelo esporozoário foi até agora encontrado em ecótopo artificial; trata-se de um alado macho, capturado numa sala, em uma das casas da fazenda Santo Antonio.

Para o estabelecimento do ciclo experimental em laboratório, foram utilizados

exemplares de colônias, alimentadas em aves, mantidas em insetário.

Os *T. torquatus* encontrados infectados na natureza, procederam unicamente das citadas localidades, capturados entre lascas e vãos de pedra (granito de Itu), juntamente com exemplares de *T. arthurnei-vai*, a única espécie de triatomíneo observada na área.

Os lacertídeos utilizados nos trabalhos visando completar em laboratório o ciclo evolutivo da *H. triatomae*, procederam de localidades do município de Águas da Prata, onde não foi até então observado o parasitismo em pauta. Em cativeiro, os lagartos foram mantidos vivos durante vários meses, alimentados com larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera) e termitas.

O material colhido da luz intestinal dos *T. arthurnei-vai*, inicialmente era examinado ao microscópio, a fresco em gotas de soro fisiológico, com aumento de 400 vezes. Quando positivo, imediatamente fixado com soro humano inativado e depois de seco, corado pelo May-Grünwald-Giemsa. A hemolinfa era obtida arrancando-se na altura do trocanter uma das patas do par anterior do triatomíneo, gotejada em lâmina bem limpa, para depois de seca ser fixada pelo álcool metílico e corada pelo Giemsa.

O sangue dos lacertídeos, obtido através de punção intracárdica, era gotejado em lâminas para a preparação de esfregaços finos que depois de secos eram fixados pelo álcool metílico e corados pelo Giemsa (17 minutos). Só então o material era examinado ao microscópio com lente de imersão (1.000X).

Alguns lagartos foram mortos visando a retirada de porções de órgãos internos, especialmente do fígado, pulmões e coração, com os quais por compressão entre lâminas, foram preparadas algumas impressões de órgãos que devidamente coradas pelo Giemsa, se prestaram aos nossos estudos (Tabela 2).

TABELA 2

Tropidurus torquatus, sacrificados, positivos para *Hepatozoon triatomae*

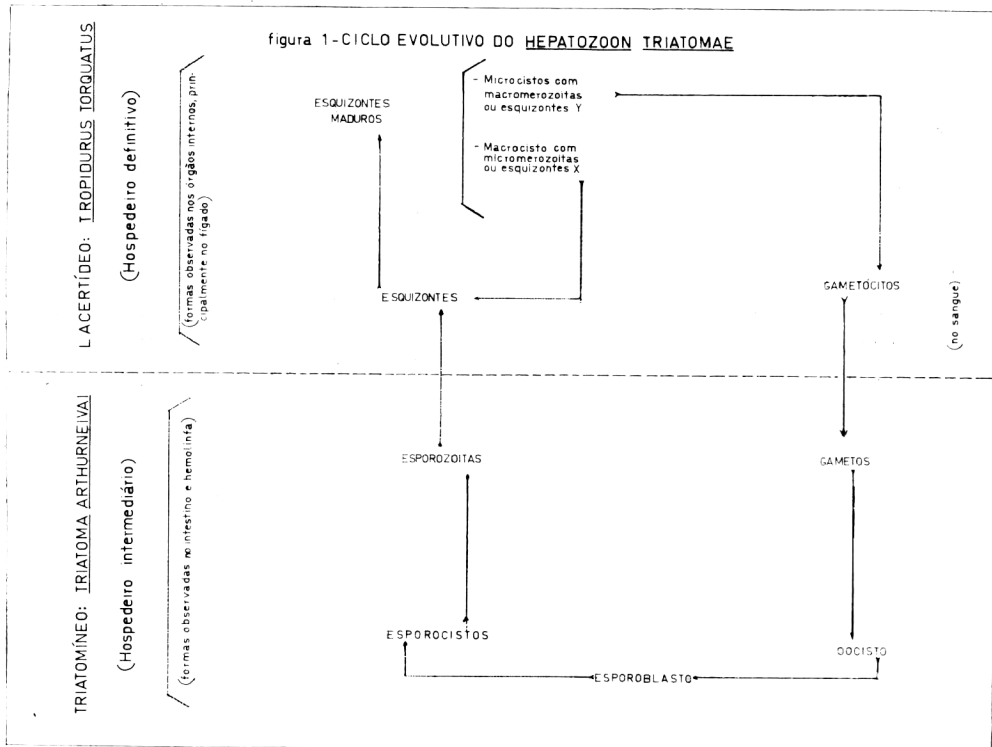
Identificação do lacertídeo	Resultado dos exames			
	Sangue	Fígado	Pulmão	Coração
L 51	+	+	-	-
L 54	+	-	-	-
L 63	+	+	+	+
L 66	+	+	+	+
L 67	+	+	-	-

Foi com este material, obtido no decorrer de trabalhos que se prolongaram por quatro anos, que realizamos nossas observações sobre as diversas fases do ciclo evolutivo da hemogregarina, de distribuição restrita, cujo hospedeiro intermediário é um triatomíneo silvestre e seu hospedeiro definitivo um lagarto que frequenta o mesmo ecótopo representado pelo espaço situado entre as fendas ou lascas do granito róseo, na região considerada.

RESULTADOS E COMENTARIOS

Fase esquizogônica (Figura 1)

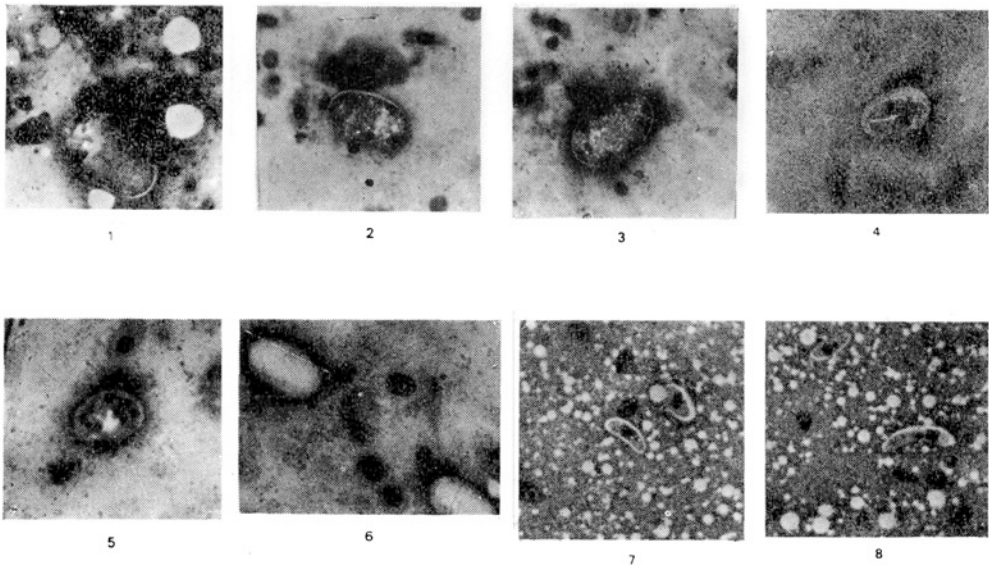
Nos tecidos de vários órgãos internos do *T. Torquatus* foram encontrados cistos esquizogônicos da hemogregarina, porém o órgão mais atingido foi sempre o fígado, vindo a seguir os pulmões. Observou-se dois tipos de cistos: os macrocistos contendo muitos micromerozoítas, denominados por Mackerras⁴ (1962) de esquizontes X e os microcistos que albergam no seu interior alguns poucos macromerozoítas ou esquizontes Y. Pessoa^{6, 7}, que vem realizando amplo estudo das hemogregarinas encontradas em serpentes brasileiras, observa não ter sido esclarecida ainda a origem e destino desses cistos. Em nosso material, os cistos esquizogôni-



cos foram encontrados nas diferentes fases do seu processo evolutivo: na fase inicial do processo (Fotos 1, 2 e 3), com macroesquizontes bem formados (Foto 4), com microesquizontes (Foto 5) e cistos envolvidos numa cápsula protetora (Foto 6). Observamos também com algumas lâminas, formas livres no fígado, algumas arredondadas ou ligeiramente alongadas (esquizontes tissulares — Foto 7) e outras nitidamente alongadas (gametócitos jovens — Foto 8).

No sangue, as formas intraglobulares se apresentam encapsuladas (Foto 9), o que muitas vezes impede a visualização nítida do gametócito no interior. Outras vezes, no entanto, observa-se o gametócito e seu núcleo; este situado no terço médio, apresentando-se ora concentrado com uma coloração viva (Fotos 10 e 11), outras vezes menos nítido de tonalidade pálida

(Foto 12). Se isso representa diferenciação de sexo do gametócito, não nos foi possível apurar. O número de gametócitos presentes no sangue circulante, nas infecções naturais, se situou em torno de um gametócito por 100 a 200 campos microscópicos observados. No início da invasão do sangue pelo parasito e especialmente nas poucas infecções experimentais graves por nós observadas, encontramos formas intraglobulares com morfologia diferente dos gametócitos, fato também observado por Mackerars⁴ (1962) nas hemogregarinas de lagartos australianos e consideradas por ele como sendo esquizontes tissulares (Fotos 13 e 14). Em raríssimas ocasiões foram observadas, também, finas formas extraglobulares, livres no sangue. Quanto às modificações sofridas pelas hemácias, devido à presença da hemogregarina, destaca-se o deslocamento do núcleo



Fotos 1, 2 e 3 — Diferentes aspectos do processo de desenvolvimento dos cistos esquizogônicos.
 Foto 4 — Macroesquizontes visíveis no interior do cisto.
 Foto 5 — Microesquizontes visíveis no interior do cisto.
 Foto 6 — Cápsula protetora dos cistos.
 Foto 7 — Esquizontes tissulares livres.
 Foto 8 — Gametócito livre.

para um dos lados ou extremidade (Fotos 9 a 12). A prevalência da infecção no sangue, entre os 112 exemplares do *T. torquatus* examinados, procedentes das duas localidades citadas, situou-se em torno dos 12% (Tabela 3), variando porém dos vinte e dois ao zero por cento, no decorrer das diversas capturas realizadas entre 1971 e 1974.

Fase esporogônica (Figura 1)

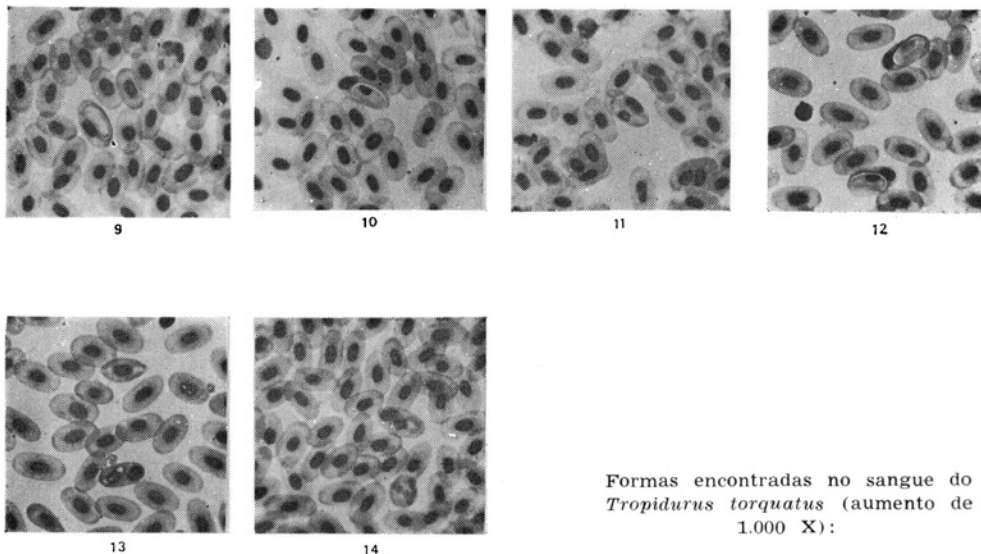
Vinte e quatro a quarenta e oito horas após a ingestão pelo *T. arthurneivai*, do sangue de lacertídeos apresentando gametócitos intraglobulares, estes já podem ser vistos livres na luz do intestino médio do triatomíneo. Posteriormente, são observados gametócitos em divisão, originando gametas menores (Foto 15), alguns ligeiramente recurvados e outros não. Os ga-

TABELA 3

Percentual de infecção pelo *Hepatozoon triatomae*, entre os *Tropidurus torquatus* capturados

Data de capturas	Examinados	Positivos	
		N.º	%
27-07-71	20	2	10,0
18-10-71	18	4	22,2
26-10-71	20	—	—
04-05-73	10	2	20,0
09-06-73	22	4	18,2
21-11-73	4	—	—
10-05-74	6	—	—
11-09-74	12	2	16,7
Total	112	14	12,5

metos tendem a se aproximar como vemos nas Fotos 16 e 17, podendo representar a fase inicial da reprodução pelo processo



Fotos 9, 10, 11 e 12 — Diferentes aspectos dos gametócitos (formas intraglobulares).
Fotos 13 e 14 — Esquizontes tissulares, anormalmente encontrados, no interior dos glóbulos vermelhos (infecção experimental).

de sisígia, segundo Pessoa⁸. Raramente são observadas formas alongadas, maiores como mostramos na Foto 18. O ovo, quando corado (?) apresenta núcleo bem nítido e vacúolos contendo massas esbranquiçadas separadas entre si por nítidos septos. As membranas externas são pouco visíveis (Fotos 19 e 20). Osimani⁵ também não observou a presença de formas arredondadas com nítida dupla membrana, como as relatadas por Talice¹⁰ e fotografadas por Bice¹.

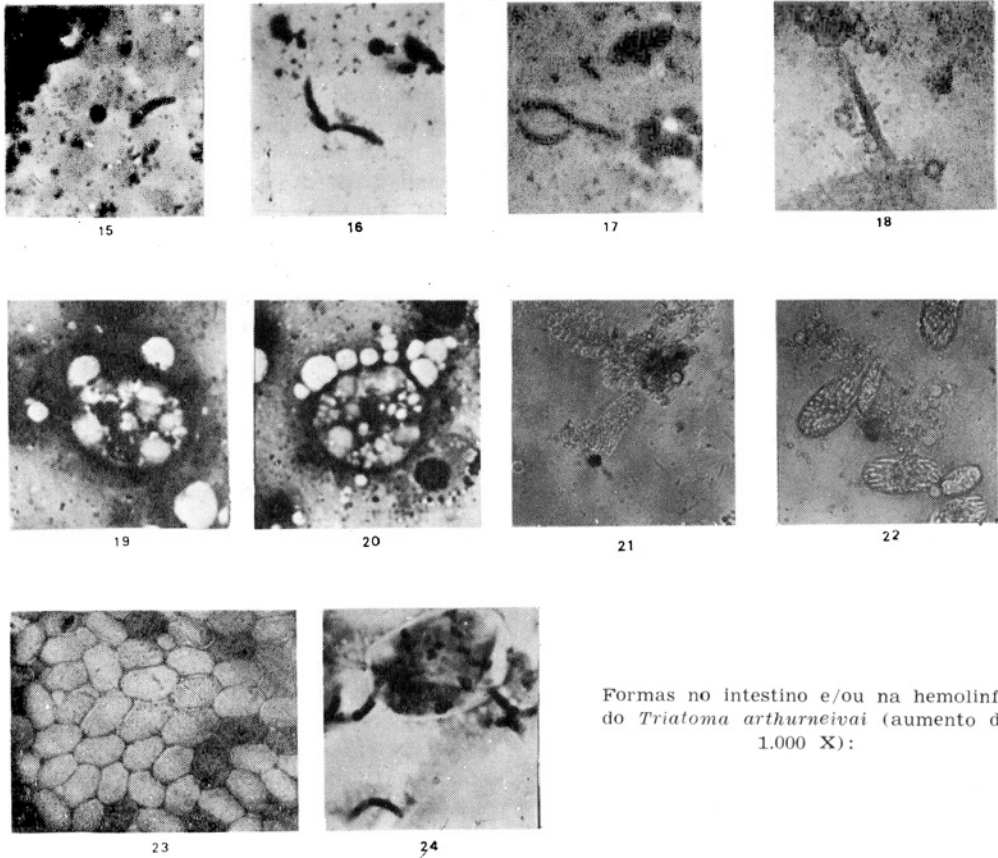
Os esporoblastos na fase inicial, dificilmente são observados, quer na luz intestinal, quer na hemocele dos triatomíneos. Na Foto 21, apresentamos como ele é visto a fresco, no intestino, em pequeno aumento.

Os esporocistos são as formas do parasito mais observadas nos triatomíneos, podendo ser encontradas tanto na luz intestinal (maior número) como na cavidade geral, em diferentes fases de desenvolvi-

mento e mostrando a fresco a presença de dupla membrana externa (Foto 22). O número e aspecto dos esporozoítas contidos no seu interior é variável, oscilando em torno dos vinte. O mesmo podendo ser dito do número de esporocistos presentes em cada triatomíneo infectado, notando-se, no entretanto, maior número deles, nos exemplares do *T. arthurneivai* menos ingorgitados (Foto 23).

Os esporocistos quando maduros se rompem com facilidade, libertando os esporozoítas (Foto 24). Estes por contrações partidas da região central e dirigidas para as extremidades, movimentam-se lenta porém livremente no meio líquido, sendo vistos em conseqüência, em tamanhos diversos e quase sempre em crescente.

A prevalência da infecção entre os exemplares do *T. arthurneivai*, capturados no bairro Lavras de Cima e fazenda Santo Antonio, foi de aproximadamente 20%.



Formas no intestino e/ou na hemolinfa do *Triatoma arthurneivai* (aumento de 1.000 X):

Fotos 15, 16 e 17 — Gametos livres, com tendência a se juntarem.

Foto 18 — Rara forma alongada.

Fotos 19 e 20 — Ovo (?)

Foto 21 — Esporoblasto observado a fresco (aumento de 400 X).

Foto 22 — Esporocistos a fresco, apresentando dupla membrana externa (aumento de 400 X).

Foto 23 — Aglomerado de esporocistos corados (aumento de 400 X).

Foto 24 — Esporocisto e esporozoítas livres.

Injeções experimentais

Em cativeiro, a alimentação de exemplares do *T. torquatus* com triatomíneos, não é fácil de ser obtida. Apesar disso, conseguimos infectar uma dezena de lagartídeos através do repasto em *T. arthurneivai*, infectados com a *H. triatomae*. Saliente-se que esses lagartos foram capturados em localidades limpas e antes do repasto infectante foram examinados mais

de uma vez. Decorrido um mês da re-
feição infectante, já podem ser observa-
dos no fígado desses animais os primeiros
cistos esquizogônicos. A presença dos
primeiros gametócitos intraglobulares no
sangue, como já observara Osimani⁵, so-
mente foi constatada ao se completarem
60 dias. De uma maneira geral, a pre-
sença dos gametócitos no sangue é prece-
dida pela passagem de esquizontes tissu-

lares, extra ou intraglobulares, como se tenta mostrar na Tabela 4.

TABELA 4

Hepatozoon triatomae, período prepatente observado nas infecções experimentais

Identificação do lacertídeo	Processo de infecção	Período decorrido em dias, para o encontro de formas no sangue	
		Esquizontes tissulares	Game-tócitos
L 15	via digestiva	22	60
L 18	via digestiva	20	63
L 19	via digestiva	21	63
L 14a	via digestiva	?	60
L 55	inoculação intra-cardíaca	?	30

Aparentemente, a *H. triatomae* causa danos ao hospedeiro vertebrado. Uma possível queda nos níveis imunitários deve ter ocorrido, pelo desencadeamento simultâneo em alguns exemplares, de parasitemias maláricas (*Plasmodium tropiduri*) anteriormente não observadas, levando um de nossos lagartos à morte, possivelmente em consequência da maciça infecção mista constatada.

A infecção dos triatomíneos em laboratório não chegou a ser realizada por Osimani⁵, pelas inúmeras dificuldades que apresentam. Depois de dezenas de tentativas, conseguimos completar o ciclo de desenvolvimento da hemogregarina em duas ninfas do 5.º estágio, do *T. arthurneivai*, alimentadas até então exclusivamente em aves. Elas se infectaram através de repasto realizado em um lacertídeo, procedente de área limpa (município de Divinolândia) e infectado experimentalmente pela ingestão de triatomíneos naturalmente infectados, capturados na fa-

zenda Santo Antonio, município de Socorro. No exame realizado 60 dias após a ingestão do sangue infectante, revelaram alto índice de esporocistos maduros e presença de esporozoítas livres. Além dessas duas, outras poucas ninfas se apresentaram infectadas, porém não completaram o ciclo, devido entre outros fatores aos exames realizados. Além do *T. arthurneivai* foram testados exemplares de outras espécies, destas, apenas alguns *Rhodnius neglectus* chegaram a alimentar nos lagartos.

CONCLUSÕES

As observações aqui relatadas, fruto não apenas de investigações realizadas com material procedente do campo, mas também de estudos experimentais em laboratório, permite-nos concluir que em duas localidades do município de Socorro — Estado de São Paulo, foi constatada a presença de um esporozoário (Adeleida-Haemogregarinidae) parasito cujo ciclo de vida tem como hospedeiro definitivo um lacertídeo, o *Tropidurus torquatus* Wiedman e como hospedeiro intermediário um triatomíneo, o *Triatoma arthurneivai* Lent et Martins, 1940.

As características do ciclo evolutivo e os aspectos gerais da morfologia do parasita, nas várias fases, assemelham-se ao da hemogregarina encontrada por Talice¹⁰ e Osimani⁵, no Uruguai, parasitando o *Triatoma rubrovaria* e o *Tupimambis teguixim*. Fotos que nos permitem supor se tratar da hemogregarina reclassificada por Reichenow, como sendo a *Hepatozoon triatomae*.

AGRADECIMENTOS

À Diretoria de Combate a Vetores da SUCEN pelas facilidades proporcionadas e aos servidores (auxiliares-técnicos): José de Campos Camargo, Antenor do Nascimento Ferraz Filho e Nuno Lopes Pereira, pela colaboração prestada.

RSPU-B/277

ROCHA E SILVA, E. O. da — [Evolution cycle of the *Hepatozoon triatomae* (Sporozoa, Haemogregarinidae), parasite of triatomínea]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 9:383-91, 1975.

SUMMARY: The author relates the discovery of *Triatoma arthurneivai* and *Tropidurus torquatus*, in the localities of Lavras de Cima and Santo Antonio, State of São Paulo, Brazil, infected by a hemogregarine similar to *Hepatozoon triatomae* (Osimani, 1942) Reichenow 1953. He presents certain aspects of its morphology and also studies the several phases of its evolution cycle, which were completed in the laboratory.

UNITERMS: Sporozoa. *Hepatozoon triatomae*. Triatomínea. *Tropidurus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BICE, D. E. — A sporozoon parasite of *Triatoma rubida uhleri*. *Rev. Biol. trop.*, 13:293-6, 1965.
 2. CORREA, R. R. et al. — Nota sobre o *Triatoma arthurneivai*. Seu criadouro extradomiciliar. *Rev. bras. Malar.*, 17:217-32, 1965.
 3. FORATTINI, O. P. et al. — Dados sobre a biologia do *Triatoma arthurneivai* no sudeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 2:186-93, 1968.
 4. MACKERRAS, M. J. — The life history of a *Hepatozoon* (Sporozoa: Adeleidea) of Varanid lizards in Australia. *Austr. J. Zool.*, 10:35-44, 1962.
 5. OSIMANI, J. J. — *Haemogregarina triatomae* n. sp. from a south american lizard. *Tupimambis teguixin*, transmitted by the reduviid *Triatoma rubrovaria*. *J. Parasit.*, 28:147-54, 1942.
 6. PESSOA, S. B. & BIASI, P. de — Considerações taxonômicas sobre certos esquizogônicos e sobre gametócitos de *Hepatozoon* (Sporozoa, Haemogregarinidae) parasitas de serpentes brasileiras. *Mem. Inst. But.*, 37:291-8, 1973.
 7. PESSOA, S. B. & BIASI, P. de — Nota taxonômica sobre cistos esporogônicos de algumas espécies de *Hepatozoon* (Sporozoa, Haemogregarinidae) parasitas de serpentes brasileiras. *Mem. Inst. But.*, 37:299-307, 1973.
 8. PESSOA, S. B. & CAVALHEIRO, J. — Notas sobre hemogregarinas de serpentes brasileiras. VIII. Sobre a evolução da *Haemogregarina millares* na sanguessuga *Haementeria lutzi*. *Rev. bras. Biol.*, 4:451-8, 1969.
 9. ROCHA E SILVA, E. O. da & PATTOLI, D. B. G. — Considerações sobre a presença de uma *Haemogregarina* no tubo digestivo de exemplares de *Triatoma arthurneivai*. *Rev. paul. Med.*, S. Paulo, 79:91, 1971.
 10. TALICE, R. V. — Parasitismo de *Triatoma rubrovaria* per un sporozoire. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 7:257-61, 1929.
- Recebido para publicação em 06-06-75
Aprovado para publicação em 30-06-75