

## RESUMO DE TESE

### PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIAS PARA INVESTIGAR A POSSIBILIDADE DE TRANSFERÊNCIA DE DNA ENTRE O *TRYPANOSOMA CRUZI* E O TRIATOMÍNEO

A primeira etapa desse estudo consistiu na padronização de metodologias visando à eliminação da infecção de triatomíneos pelo *Trypanosoma cruzi*. Assim, foram delineados protocolos de experimentos com agentes tripanocidas químicos e biológicos. Os experimentos *in vivo* consistiram na colocação de ninfas de primeiro estágio de *Dipetalogaster maximus* infectadas com *T. cruzi* para se alimentarem com sangue de aves, ou com sangue de camundongos previamente injetados com benzonidazol ou allopurinol riboside.

Os triatomíneos alimentados com sangue de aves tiveram a infecção eliminada, em todos os grupos experimentais que tiveram as fezes examinadas ao microscópio, 60 dias pós-repasto. A mortalidade das ninfas foi de  $36,7 \pm 4,7\%$ .

Por sua vez, os triatomíneos tratados com benzonidazol também tiveram as infecções eliminadas em quase todos os casos, mas os índices de mortalidade das ninfas foi bem mais elevado ( $72,6 \pm 15,2\%$ ), após 60 dias. Embora o allopurinol riboside tenha sido menos eficaz que o benzonidazol no tratamento das infecções de *D. maximus* pelo *T. cruzi*, o índice de mortalidade associado com o uso da droga ( $58,9 \pm 19,1\%$ ) foi bem menor que aquele observado com o uso de benzonidazol. Esses resultados sugerem que alimentação com sangue de aves é o melhor método de eliminação da infecção do *T. cruzi* em triatomíneos.

Resultados preliminares de hibridação de DNA genômico de ninfas de terceiro estágio de *Rhodnius*

### STANDARDIZATION OF THE METHODOLOGY TO INVESTIGATE THE POSSIBILITY OF DNA TRANSFER BETWEEN *TRYPANOSOMA CRUZI* AND TRIATOMINES

In this study, we first standardised the methodologies employed in critical experiments to eliminate *Trypanosoma cruzi* infections from the insect vector. These infections have been treated with chemical and biological agents. *In vivo* experiments consisted in allowing first instar nymphs of *Dipetalogaster maximus* infected with *T. cruzi* to have blood meals on birds, or on mice which had previously been treated with the trypanocidal drugs benznidazole or allopurinol riboside.

The triatomine bugs fed on bird's blood had *T. cruzi* infections eliminated in all experimental groups, as the bugs' feces research for the flagellate showed 60 days after the blood meal. The mortality rates of the nymphs in these experimental groups have reached  $36.7 \pm 4.7\%$ . By then most of the triatomines fed on mice's blood and treated with benznidazole had also eliminated their infections; their mortality rates however, reached  $72.6 \pm 15.2\%$ , 60 days after the blood meals. Although the allopurinol riboside has turned out to be less effective than benznidazole in treating the infections, the mortality rates associated with the use of the latter drug ( $58.9 \pm 19.1\%$ ) have been lower than with the former. These results indicate that allowing triatomine bugs to have blood meals from birds is the most effective method to eliminate *T. cruzi* infections.

The aim of standardising the laboratory methodologies has been to eliminate the *T. cruzi* infections from triatomine bugs in order to assay the hypothesis of transfection of DNA between these species. Nevertheless, we considered that it would have been possible for the protozoan and the triatomine to undergo lateral gene transfer in nature, because sympathy syntopy and symbiosis are present in their associations. Preliminary assays results showed that genomic DNA from *Rhodnius neglectus* does hybridize with a *T. cruzi* total DNA probe. These assays have also showed 14 bands of cross-hybridizations that revealed homologous DNA

*neglectus* com sonda de DNA total de *T. cruzi* mostraram a presença de sequências homólogas evidenciadas em 14 bandas de aproximadamente 21 a 1,7kb, na membrana de nylon. Tendo em vista que as ninfas foram criadas em laboratório e alimentadas em aves, a possibilidade existe de que as sequências de DNA teriam sido transfectadas, ancestralmente, de uma espécie para outra e incorporadas aos cromossomos de células germinativas. A presença de tais sequências nas progênies de *R. neglectus* sugere que a transferência teria sido perpetuada por reprodução sexuada. Esses achados, todavia, precisam ser reproduzidos experimentalmente em laboratório, com diversos controles ainda não incluídos nesse estudo, para que seja possível projetar as possíveis implicações biológicas do achado.

sequences of approximately 21 to 1.7kb in sizes.

Considering that the third instar nymphs of *R. neglectus* used were reared in laboratory and fed on bird's blood, we believe that the homologous DNA sequences may have been transfectated ancestrally and that those sequences have been incorporated to the chromosomes of the germinal cells of the insect. The presence in the *R. neglectus* progenies of such homologous DNA sequences can be explained by sexual reproduction only. These findings, however, will have to be reproduced in the triatomines reared and infected in the laboratory, in order to obtain all kind of information that appear to be required to understand the mechanisms involved in DNA transfection between these specie. Finally, several control experiments will have to be run in parallel with the protocols described above before any conclusion can be drawn with respect to possible biological implications of the findings described here.

*Maria Heloísa Cavalcante Fernandes Nunes*

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade de Brasília  
para obtenção do Título de Mestre  
Brasília, DF, Brasil, 1993.