

COMUNICAÇÃO

METACICLOGÊNESE DO *TRYPANOSOMA CRUZI* COMO PARÂMETRO DE INTERAÇÃO DO PARASITA COM O TRIATOMÍNEO VETOR

Nelson J. Alvarenga e Elisabeth Bronfen

Triatoma infestans infectados por três amostras do *Trypanosoma cruzi* permitiram observar: 1) variabilidade numérica de metacíclicos obtidos de cada amostra após diferentes períodos de infecção; 2) diferenças na perda da infecção de acordo com a amostra infectante e 3) a relação entre o número de parasitas ingeridos e metacíclicos obtidos posteriormente.

Palavras-chaves: *Trypanosoma cruzi*. Metaciclogênese. Interação com *Triatoma infestans*.

A morfogênese do *Trypanosoma cruzi* no trato digestivo de seus vetores envolve transformações do tripomastigota ingerido que vão desde sua passagem por esferomastigotas e/ou epimastigotas as quais, após uma série de divisões, dão origem aos tripomastigotas metacíclicos fechando o ciclo evolutivo deste flagelado¹. Tais fenômenos morfogênicos são decorrentes de alterações fisiológicas sofridas pelo parasita que além de estar se nutrindo de produtos de secreção intestinal² e produtos de digestão do sangue ingerido pelo inseto vetor, certamente estará sofrendo a ação de fatores digestivos e hemolíticos³ que podem atuar como inibidores ou não de sua evolução. Daí, podermos interpretar como sendo característica inerente a uma certa amostra de *T. cruzi*, em interação com determinada espécie de vetor, a apresentação de uma proporcionalidade entre o número de epimastigotas, esferomastigotas e tripomastigotas metacíclicos. Naturalmente, levando-se em consideração o tempo de infecção e a regularidade das realimentações.

Pela observação da interação de três amostras do *T. cruzi* com espécimes de *Triatoma infestans* experimentalmente infectados, estudou-se a variabilidade numérica de tripomastigotas metacíclicos no intestino dos insetos; o

percentual de perda de infecção e a variação numérica de metacíclicos contidos nos intestinos daqueles que tenham ingerido diferentes números de tripomastigotas sanguíneos.

Variabilidade numérica de tripomastigotas metacíclicos. Ninfas de terceiro estágio de *T. infestans* foram alimentadas em camundongos previamente infectados pelo *T. cruzi*, pelas amostras Y¹⁰, CL⁴ e Yú-Yú (isolada a partir de *T. infestans* naturalmente infectado e mantida no laboratório por passagem periódica de camundongo a camundongo). Para cada amostra foram utilizados 40 insetos que tiveram seus repastos acompanhados individualmente de modo a se evitar total ingurgitamento. Utilizando câmara de Neubauer, procedeu-se a contagem do número de tripomastigotas na circulação dos camundongos por retirada de 10µl de sangue, diluído em PBS (pH 7.2). Em seguida realizou-se o cálculo do número ingerido por cada triatomíneo, pelas diferenças dos pesos obtidos antes e após a alimentação, considerando ser o peso de 1µl igual a 1mg. A média de tripomastigotas das amostra Y, CL e Yú-Yú ingeridos por inseto foi de 9.000, 4.300 e 7.100, respectivamente. Os triatomíneos foram mantidos a 25°C e 70% de umidade relativa, sendo realimentados a cada 20 dias em camundongos não infectados. Após 30, 60, 90 e 120 dias foram dissecados 10 exemplares de cada lote e seus intestinos retirados e macerados, em "pool", em "tissue-grinder", em 3ml de PBS. A contagem diferencial dos parasitas foi feita em câmara de Neubauer, em microscopia de contraste de fase, e os resultados considerados a partir das médias

Laboratório de Biologia de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas, Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Endereço para correspondência: Dr. Nelson J. Alvarenga. Centro de Pesquisas René Rachou. Av. Augusto de Lima 1715, 30190-002 Belo Horizonte, MG, Brasil. Fax: (031) 295-3115.

Recebido para publicação em 25/04/96.

obtidas de 3 amostragens. Entre 30 e 90 dias após a infecção observou-se um aumento quase contínuo nas populações de metacíclicos. Após 90 dias de infecção não mais se observou

este aumento de tripomastigotas sugerindo a finalização do processo de colonização do parasita ao longo dos intestinos dos triatomíneos (Figura 1).

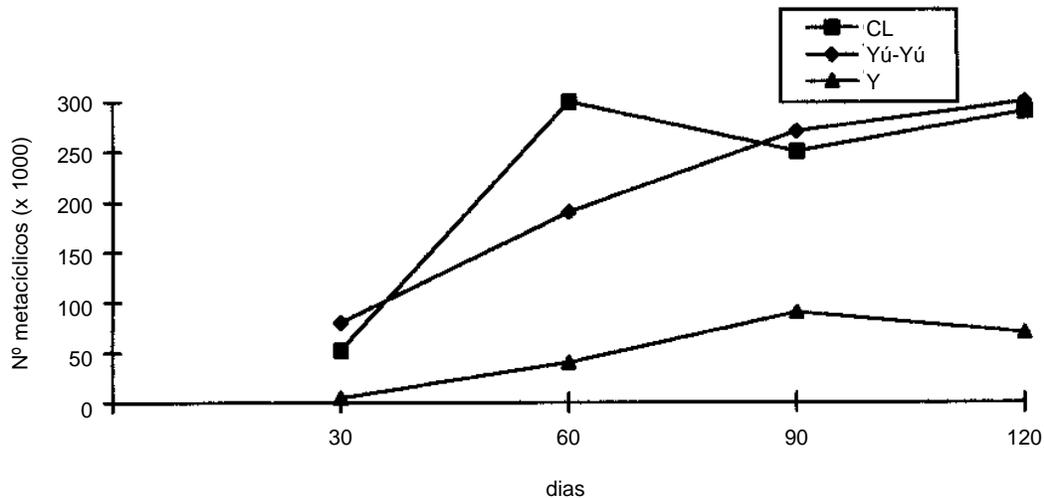


Figura 1- Observação da tendência à estabilização na curva de crescimento numérico de tripomastigotas metacíclicos de três amostras do *Trypanosoma cruzi* no intestino de *Triatoma infestans* aos 30, 60, 90 e 120 dias após a infecção.

Percentual de perda de infecção pelo *T. infestans*. Três grupos, A, B e C, de 100 ninfas de terceiro estágio de *T. infestans*, foram respectivamente alimentados em camundongos previamente infectados pelas mesmas amostras do *T. cruzi*. Em separado, outro grupo, D, de 50 triatomíneos, foi infectado pela amostra Yú-Yú. Os insetos foram mantidos nas condições descritas anteriormente sendo realimentados a cada 20 dias, com exceção do grupo D que foi mantido em jejum por 60 dias. Aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a infecção, 20 insetos dos grupos A, B e C foram dissecados e seus intestinos retirados. Cada intestino foi macerado em 100µl de PBS. Duas amostragens de 10µl cada foram examinadas (50 campos) utilizando-se microscopia de fase (160x). Os resultados demonstraram que já aos 30 dias após infecção não foi possível perceber a presença de flagelados no conteúdo intestinal em mais de 25% dos triatomíneos infectados pela amostra Y, confirmando as observações descritas anteriormente⁵ no que se refere à má interação da amostra Y com o *T. infestans*. A não detecção de infecção do vetor pelas outras duas amostras

se fez notar somente após 60 dias, mesmo assim em níveis de negatividade diferentes dos observados em relação à amostra Y que aparenta uma perda crescente de parasitas (Figura 2).

Os triatomíneos do grupo D, mantidos em jejum por 60 dias, foram então realimentados e em seguida mantidos isoladamente¹¹ durante 4 horas para coleta de urina e verificação da presença de flagelados. Foram 23 os animais cujas urinas apresentaram-se negativas em exames (50 campos) de duas amostragens de 10µl cada. Destes, 11 foram dissecados e tiveram os intestinos médios e retos macerados individualmente em suspensões de 100µl de PBS para exame e contagem de tripomastigotas em câmara de Neubauer. Nos intestinos, constatou-se a média de 2.000 tripomastigotas/ml/inseto juntamente com inúmeros epimastigotas. A nível de reto foram observados raros epimastigotas com baixa mobilidade ou mesmo imóveis, e nenhuma forma tripomastigota. Cinco dias após a realimentação outros 11 triatomíneos foram dissecados tendo-se procedido como anteriormente para exame e contagem do parasita. Nos intestinos, a média de tripomastigotas metacíclicos observados foi

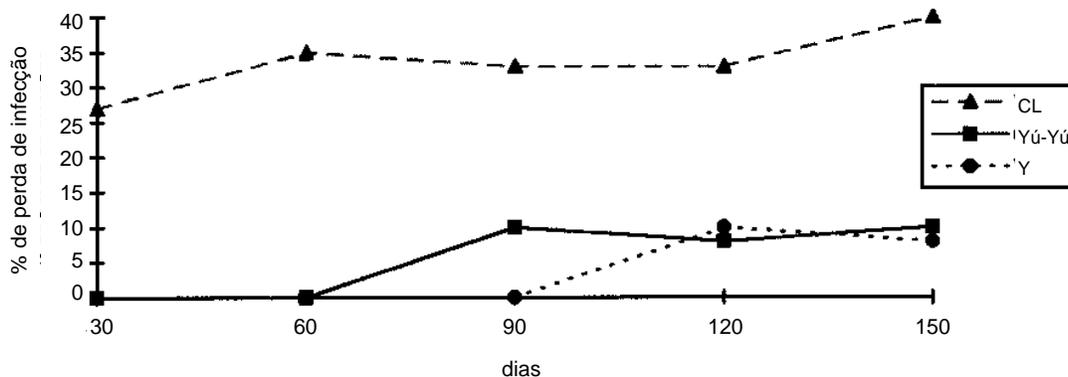


Figura 2 - Percentual de triatomíneos negativos após exames aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias de infecção por três amostras do *T. cruzi*.

de 2.700/ml/inseto. Nas ampolas retais, a média foi de 4.300/ml/inseto. Este experimento mais uma vez demonstrou a presença de tripomastigotas metacíclicos no intestino médio dos triatomíneos¹ e também a possibilidade de erro ao considerar-se um exame negativo somente pela observação do conteúdo da ampola retal após a compressão abdominal.

Relação entre o número de tripomastigotas ingeridos e metacíclicos formados. Cinquenta ninfas de 3º estágio de *T. infestans* previamente pesadas, foram alimentadas sob observação em camundongos infectados pela amostra Yú-Yú do *T. cruzi* apresentando parasitemias numericamente conhecidas. Após a pesagem e cálculo de tripomastigotas ingeridos, os insetos foram separados em dois grupos de 15 exemplares cada. As médias de parasitas ingeridos foram 2.699 e 50.266 flagelados por inseto do grupo A e B, respectivamente. Os triatomíneos foram mantidos em condições já descritas, sendo realimentados em camundongos normais aos 20, 40 e 60 dias após o repasto infectante. Aos setenta dias pós-infecção, os insetos foram dissecados e seus intestinos macerados individualmente para contagem de tripomastigotas. Os resultados mostraram que o número de metacíclicos observados foi praticamente o mesmo para os dois grupos e não vinte vezes maior a favor do grupo B, demonstrando haver realmente uma tendência à estabilização numérica da população de flagelados ao longo do trato intestinal dos triatomíneos. Tal fato não seria possível se a

população final de flagelados fosse a representação diretamente resultante do número de parasitas ingeridos (Tabela 1).

Tabela 1- Tripomastigotas metacíclicos do conteúdo intestinal de triatomíneos infectados há 70 dias por diferentes números de formas sanguíneas do *T. cruzi*.

Grupo	ingeridos/inseto	metacíclicos/ml
A	2.699	220.000
B	50.266	290.000

Pelo presente estudo foi possível observar-se que as amostras de *T. cruzi*, quando bem adaptadas ao inseto vetor, tendem a atingir determinada densidade populacional no intestino do triatomíneo num certo tempo e durante o crescimento do inseto, tanto pela ocupação do espaço físico disponível como por seleção pelo material alimentar secretado pelos insetos. Tal fato leva a que se considere também a tendência à estabilização numérica de tripomastigotas metacíclicos encontrados nos intestinos dos triatomíneos. Naturalmente, tudo isto em dependência da regularidade na alimentação dos insetos considerando-se que o processo de metaciclogênese está diretamente relacionado com a hemoglobina ingerida⁷.

Os dados fazem refletir sobre a necessidade de um melhor conhecimento da fisiologia dos diversos clones das amostras do *T. cruzi* bem como das espécies de vetores⁶, pois até o momento a utilização de triatomíneos em xenodiagnósticos ou isolamentos do parasita têm sido feitos com base em observações de casuísticas epidemiológicas^{8 9}.

Comunicação. Alvarenga NJ, Bronfen E. Metaciclo gênese do *Trypanosoma cruzi* como parâmetro de interação do parasita com o triatomíneo vetor. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30:247-250, mai-jun, 1997.

SUMMARY

Infection of Triatoma infestans with three different strains of Trypanosoma cruzi permitted to observe: 1) numerical variability of metacyclics obtained after different times; 2) the differences of loss of infection according to each strain; 3) the relationship between ingested parasites and later obtained metacyclics.

Key-words: *Trypanosoma cruzi. Metacyclogenesis. Interaction with Triatoma infestans.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarenga NJ. Evolução do *Trypanosoma cruzi* no trato intestinal do *Triatoma infestans*. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1974.
2. Alvarenga NJ, Brener Z. Development of *Trypanosoma cruzi* in the vector in the absence of blood. *Acta Tropica* 35:315-317, 1978.
3. Azambuja P, Mello CB, Déscoffier LN, Garcia E. *In vitro* cytotoxicity of *Rhodnius prolixus* hemolytic factor and mellitin towards different trypanosomatids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 22:597-599, 1989.
4. Brener Z, Chiari E. Variações morfológicas observadas em diferentes amostras do *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 5:220-224, 1963.
5. Bronfen E, Dias JCP, Gouveia SC. Infecção experimental de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* pela cepa Y do *Trypanosoma cruzi* (Silva e Nussenweig, 1953). *Revista de Patologia Tropical* 13:1-7, 1984.
6. Garcia E, Azambuja P. Development and interactions of *Trypanosoma cruzi* within the insect vector. *Parasitology Today* 7:240-244, 1991.
7. Garcia ES, Gonzalez MS, Azambuja P, Baralle FE, Fraidenaich D, Torres HN, Flawia MM. Induction of *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis in the gut of the hematofagous insect vector, *Rhodnius prolixus*, by hemoglobin and peptides carrying α^D -globin sequences. *Experimental Parasitology* 81: 255-261, 1995.
8. Nirchl RA, Soares Junior JM, Pirani EM, Franciscon JH, Ramirez LE. Susceptibilidade do *Triatoma infestans* a diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes chagásicos do triângulo mineiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27:235-239, 1994.
9. Perlowagora-Szumlewicz A, Muller CA, Moreira CJC. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. 3- On the interaction of vector species and parasite strain in the reaction of bugs to infection by *Trypanosoma cruzi*. *Revista de Saúde Pública de São Paulo* 22:390-400, 1988.
10. Silva LHP, Nussenweig V. Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clinica e Biologica* 20:191-207, 1953.
11. Zeledón R, Alvarenga NJ, Schosinsky K. Ecology of *Trypanosoma cruzi* in the insect vector. *Chagas' Disease Symposium Proceedings, Pan American Health Organization, Scientific Publication* 347:59-70, 1977.