

Criação de Triatomídeos no laboratório *

por

Emmanuel Dias

(Com um appendice pelo Dr. C. B. Philip e 4 estampas)

Multiplo é o interesse científico que offerece a criação dos barbeiros no laboratório. O estudo da biologia destes sugadores, sobretudo o cyclo evolutivo e os habitos das diversas especies, foi o que desde logo despertou o interesse dos investigadores: entre nós, foi Arthur Neiva quem primeiro se occupou deste assumpto, pouco tempo depois que a descoberta de Carlos Chagas mostrou a grande importancia médica dos Hemipteros reduvideos da familia *Triatomidae*. As grandes dimensões destes Invertebrados e sua facil manutenção, delles fazem tambem util material para estudos da digestão do sangue e, de módo geral, da physiologia dos hematóphagos.

Do ponto de vista médico-científico, a importancia pratica da criação dos barbeiros nos laboratorios foi entrevista assim que E. Brumpt (1914) demonstrou que a alimentação de insectos livres de flagellados, em individuos suppostos portadores do *Schizotrypanum cruzi*, podia servir como excellente meio de diagnostico parasitologico da molestia de Chagas. Posteriormente, a adopção do « xenodiagnostico » ao estudo da enfermidade nas zonas de endemia, quér na pesquisa de portadores humanos, quér na procura de depositarios naturaes do parasito, veio mostrar definitivamente a necessidade e as vantagens da criação em abundancia de barbeiros « puros » no laboratório para tal fim: « Un tel résultat vient donc démontrer la réelle utilité de la méthode de diagnostic proposée par Brumpt, méthode dont l'emploi est indispensable dans des zones ou l'on veut déterminer, par le diagnostic étiologique, la proportion de porteurs, humains ou animaux, du *Schizotrypanum cruzi* » (Dias 1935, p. 289).¹

Os barbeiros (*Panstrongylus*, *Triatoma*, *Rhodnius*) criam-se facilmente no laboratório. Segundo Cezar Pinto (1925) é « sufficiente col-

* Recebido para publicação a 9 de Abril de 1938 e dado a publicidade em Outubro de 1938.

¹ V. Dias, 1936.

loca-los em crystalisadores grandes com um supporte de madeira possuindo pequenos orificios por onde saíam, afim de alimentar-se em pequenos animaes (cobayos) ». Este autor illustra (fig. 15-16) seu trabalho com photographias mostrando crystalisadores reclangulares, cobertos com téla fina, encerrando o supporte de madeira perfurado, barbeiros e cobayo.

Duas circumstancias biologicas muito contribuem para a facilidade da criação artificial dos triatomideos: sua grande resistencia ao jejum e a ubiquidade de seu regimen alimentar hematophago. Neiva (1913) cita a observação de um barbeiro (*T. infestans*) que sobreviveu á falta de alimento por 7 mezes, e Uribe (1927) observou a resistencia de exemplares de *Rhodnius prolixus* ao jejum de 4 mezes (larva em 3.º estadio) e 7 mezes (femea adulta). O eclecticismo alimentar destes hematophagos permite que qualquer animal homeothermo lhes sirva de fonte de nutrição, e até mesmo animaes de sangue frio, como lagartos e rãs. Além destas facilidades, no nosso clima a temperatura e o grau de humidade ambientes são plenamente adequados ao completo desenvolvimento dos barbeiros, a elle adaptados.

Desde varios annos vimos mantendo no nosso laboratorio, com todo o successo, grande criação de barbeiros « puros », não só de especies do Brasil como tambem de outros paizes. É verdade que, antes de attingir a technica que hoje rotineiramente adoptamos, e que descreveremos, passámos por um periodo de tentativas, em que nem sempre oblinhamos resultados de todo satisfactorios. As espécies com que lidamos, de que actualmente possuímos farta criação, são as seguintes:

- 1) — *Panstrongylus megistus*, procedente de Lassance (Minas Geraes), 1933 (E. Dias).
- 2) — *Eutriatoma sordida*, idem.
- 3) — *Triatoma infestans*, de que recebemos algumas larvas e nymphas em Agosto de 1935, de Salta, Argentina, por obsequio do Dr. Julio Mendioroz.
- 4) — *Rhodnius prolixus*, cuja criação foi obtida a partir de algumas formas jóvens trazidas da Venezuela pelo Dr. Julio de Armas, em 1935.

Triatomideos de outras especies e generos são ainda criados no Instituto Oswaldo Cruz: *Triatoma brasiliensis*, *T. pallidipenis*, *T. dimidiata*, *T. vitticeps*, *T. phyllosoma*, *Eutriatoma maculata*, *E. rubrovaria*, *Psammolestes coreodes*, *P. arthuri* — pelo Dr. H. Lent, e *Triatoma protracta* pelo Dr. J. Muniz.

O aparelhamento que usamos (figs. 1-2) é bastante simples e consta de:

- a) — crystallisadores cylindricos medindo 24 cm. de altura por 17 cm. de diametro, forrados por papel de filtro;
- b) — supportes de madeira (7 a 8 cm. de altura por 13 a 14 cm. de diametro), perfurados (furos de 1 a 1,5 cm. de diametro), providos de travessas na face inferior que servem de esconderijo aos insectos;
- c) — tampa metallica, telada e com alças;
- d) — armario de madeira com portas de vidro forradas internamente por papel negro, de modo a sempre permanecerem os barbeiros na obscuridade.

Nenhum dispositivo se tornou necessario para produzir condições especiaes de temperatura ou humidade. Nos paizes de clima frio, Brumpt recommenda a conservação da temperatura entre 25° e 30° C. bem como certo grau de humidade (cf. Langeron 1934, p. 880).

Para a alimentação dos insectos empregamos usualmente cobayos adultos normaes, porém pombos ou outros animaes de tamanho adequado tambem pódem servir. Ella se realiza facilmente, bastando que se introduza o animal, de membros atados, no crystallisador, repousando sobre o suporte. No escuro a sucção é mais prompta e completa. Os barbeiros vem picar introduzindo-se pelos orificios do suporte ou subindo pelos seus bordos. Segundo a quantidade de insectos e o tempo que passaram sem sugar, cobayas adultas pódem morrer em poucos minutos por effeito da sangria.

Isto aqui acontece de regra, devido ao grande numero de hematóphagos em cada recipiente — a menos que queiramos retirar a tempo o animal, para substituir por outros. Algumas vezes temos injectado préviamente a cobaya com soro physiologico no peritoneo, afim de facilitar sua sobrevivencia ou obtermos rendimento um pouco maior. Na obscuridade as cobayas, mesmo que a principio excitadas, prestam-se passivamente á espoliação sanguinea, cahindo em poucos minutos em somnolencia ou torpor que, prolongado, poderá ser seguido de agonia e morte.

O numero de repastos póde ser muito variavel: 1 por semana é sufficiente para manter uma criação numerosa em excellentes condições de nutrição, mas mesmo 1 refeição cada 20 e até 30 dias é bastante para sustentar satisfactoriamente a cultura. Brumpt aconselha 1 sucção cada 15 ou 20 dias. É sabido que quanto melhor alimentados os

triatomas, melhor e mais rapido é o desenvolvimento, como mais ricas serão as posturas. Para muitas especies — senão todas — o hematophagismo é indispensavel ás mudas e á postura.

Gerações successivas de *Rhodnius prolixus* pódem ser criadas no mesmo recipiente, porque os óvos ficam collados ao suporte ou mesmo á tampa (por este ultimo motivo a téla da tampa deve ser de malhas muito finas). O mesmo tambem para as outras especies, comtanto que se tenha o cuidado de mudar o papel de filtro do fundo, quando ahi houver óvos, pois a urina da cobaya poderá prejudicar sua evolução. No nosso laboratorio usamos tambem separar os óvos em vidros de bocca larga, de onde as larvas recém-nascidas são depois passadas para novo crystalizador, que conterà assim insectos approximadamente da mesma idade. Isto facilita o processo por só haver óvos em certas épocas, durante as quaes serão tomados cuidados especiaes de limpeza, desnecessarios nas outras occasiões, ao correr de toda a evolução da geração.

Muda-se de vez em quando o papel de filtro que forra o crystalizador, quando muito sujo pelos excreta dos barbeiros e do animal que serviu para os alimentar, si bem que aparentemente elles nenhum mal causem aos insectos. No laboratorio do Dr. C. Chagas conservava-se num enorme recipiente de vidro, pintado de preto e com um estrado dentro, grande quantidade de barbeiros (*P. megistus*), por mezes a fio, juntamente com dejeccões accumuladas de cobayo.

Em relativamente pouco tempo póde-se conseguir abundante cultura de Triatomideos. Basta ter-se em vista que uma só femea fecundada e em boas condições de nutrição, póde por entre 200 e 300 óvos (*Rhodnius prolixus*, *P. megistus* . . .), processando-se o desenvolvimento da maioria das especies, de ovo a adulto, num prazo que varia entre 200 e 300 dias.

Durante nosso estagio no Rocky Mountain Laboratory (Hamilton, Montana, Estados Unidos), em 1937, descrevemos ao Dr. Cornelius B. Philip, Entomologista do mesmo laboratorio, o processo de criação que acabamos de relatar, afim de que pudesse elle obter cultura das especies que lhe levamos. Este pesquisador introduziu innovações que tornam mais limpo o processo: recommenda crystalizadores rectangulares pouco maiores que uma cobaya adulta, o que facilita a contenção do animal sem ser necessario que se lhe amarrem os membros, e um recipiente de latão que se adapta ao suporte, para receber as fézes e a urina eventualmente eliminados pelo cobayo (fig. 3-4).

Annexamos a descrição original das modificações sugeridas pelo Dr. C. B. Philip, que nos foi gentilmente enviada pelo conhecido pesquisador norte-americano.

APPENDIX

Abstract Description — Rearing Technique

(Dr. C. B. Philip, Entomologist, U. S. P. H. S., Hamilton, Montana)

A convenient colony method for rearing haematophagous bugs is shown in figures 3-4. This is a modification of a method employed by Dr. E. Dias for rearing triatomids at the Oswaldo Cruz Institute, Brazil. Instead of round battery jars, oblong « wet-cell » jars roughly 3 1/2 x 7 x 10" inside measurements are used. The rest of the « furniture » consists of (a) a piece of pleated or crumpled paper towelling over the bottom, (b) an elongate, three-legged « stage » just narrow enough to be easily removable and 1 inch shorter than the jar, (c) a removable, compressed urinal with slightly inward sloping lip for insertion at one end during guinea-pig exposure, and (d) any kind of a simple wire screen top.

In certain experiments, white mice or rats may be desirable hosts; these can be restrained in snug-fitting, coarse-mesh wire cylinders with cotton plugs in the ends, and layed along a median, open groove in the stage. The central of three partitions or wings on the under side of the stage for support the feeding insects, keeps the mouse cylinder from falling through; these are about 1/2" off the bottom of the jar to allow free movement of the insects and still touch some ridges of the paper. Additional holes are provided along each side of the stage over the lateral, very thin wings as added support during feeding.

In operation, rather large and docile guinea-pigs are selected for exposure. After an initial period of restlessness, they will often sit for hours with little more than an occasional shifting of the feet during biting of the bugs. The habit of backing into corners to defecate facilitates collection of urine and feces, inasmuch as the pig is constrained by the narrow sides do face in one direction (excitable pigs that insist on squeezing around to face the wrong direction can frequently be quieted by turning the whole jar around with relation to the windows). Most blood-sucking bugs prefer to feed in the dark, but can be induced in daylight; exposure of a mouse for more than short periods to too many insects at once will result in death by exanguination. In the round jars,

the guinea pigs are more cramped and do more struggling in spite of taped legs, and they almost always urinate during adequate exposure, thus killing the bug eggs in the bottom of the jar².

Incidentally the wire cylinders are convenient for exposure of mice in mosquito experiments also, if the protruding hair is clipped.

BIBLIOGRAPHIA

BRUMPT, E.

1914. Bull. Soc. Path. Ex., **7** : 706.

DIAS, E.

1935. C. R. Soc. Biol., **118** : 287.

1936. IX. Reunión Soc. Argentina Patologia Regional, Outubro 1935, vol. 1, p. 89.

LANGERON, M.

1934. Précis de Microscopie, 5.^a ed., Masson & Cie., Paris.

NEIVA, A.

1913. Memorias Instituto Oswaldo Cruz, **5** : 24.

PINTO, C.

1925. Ensaio monographico dos Reduideos hematófagos ou « Barbeiros ». Empreza Graphica Editora, Rio de Janeiro. (Consultar tambem « Sciencia Médica », anno 3, Out., Nov. e Dez.

URIBE, C.

1927. Jour. Parasitology, **13** : 129.

² A possível morte dos ovos é evitada no nosso processo pelas precauções que mencionámos. (E. D.)

Estampa 1

Fig. 1 — Armario contendo séries de crystalisadores destinados á criação de grande quantidade de barbeiros, com o aparelhamento necessario.

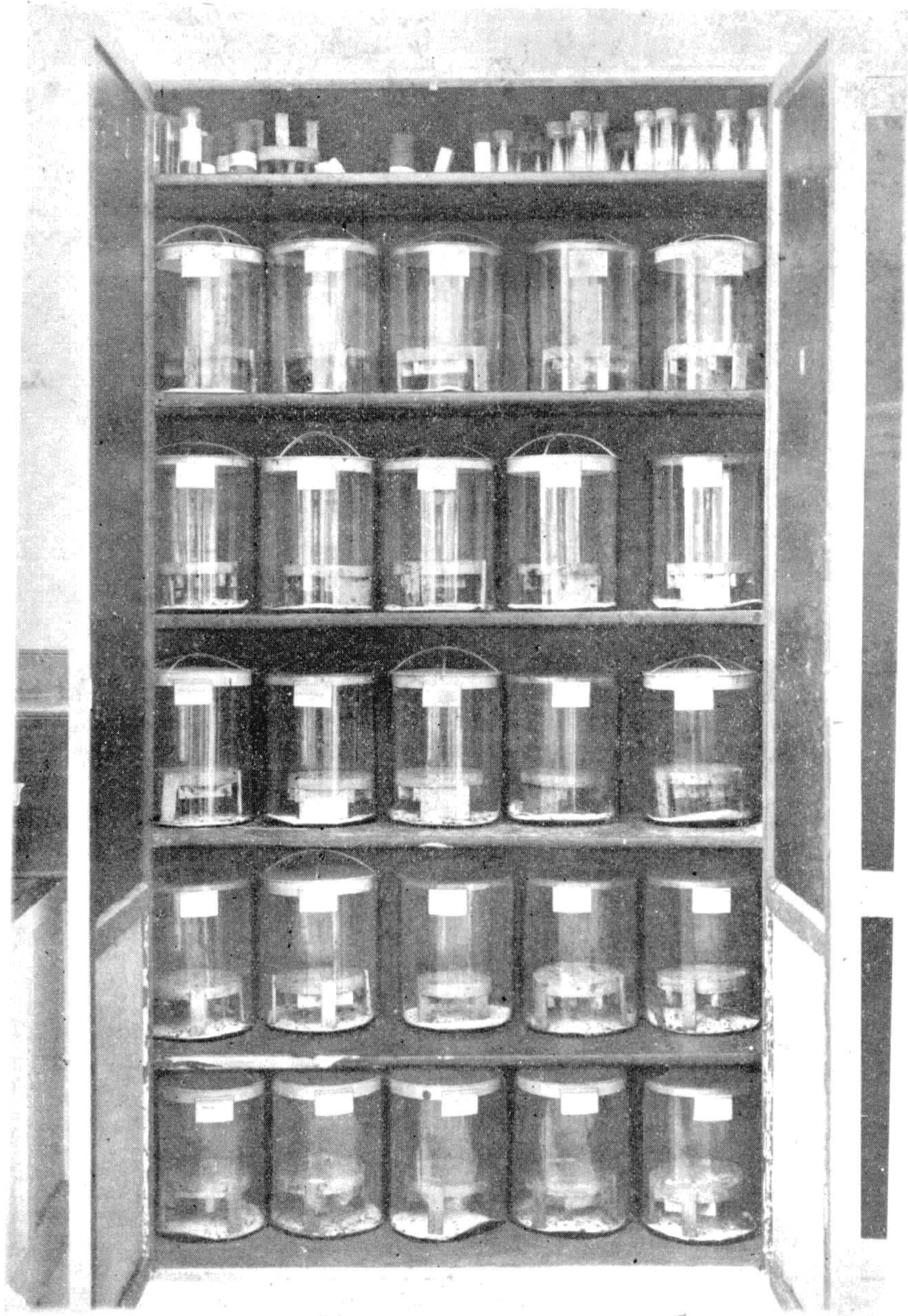


Fig. 1

J. Pinto, phot.

Dias: Criação de Triatomídeos no laboratório.

Estampa 2

Fig. 2 — Demonstração de como se alimentam os barbeiros em cobayos adultos. Dois dos animais já estão em estado de torpor, devido á excessiva perda de sangue. A alimentação deve ser feita de preferencia conservando-se os crystallisadores dentro do armario, no escuro.

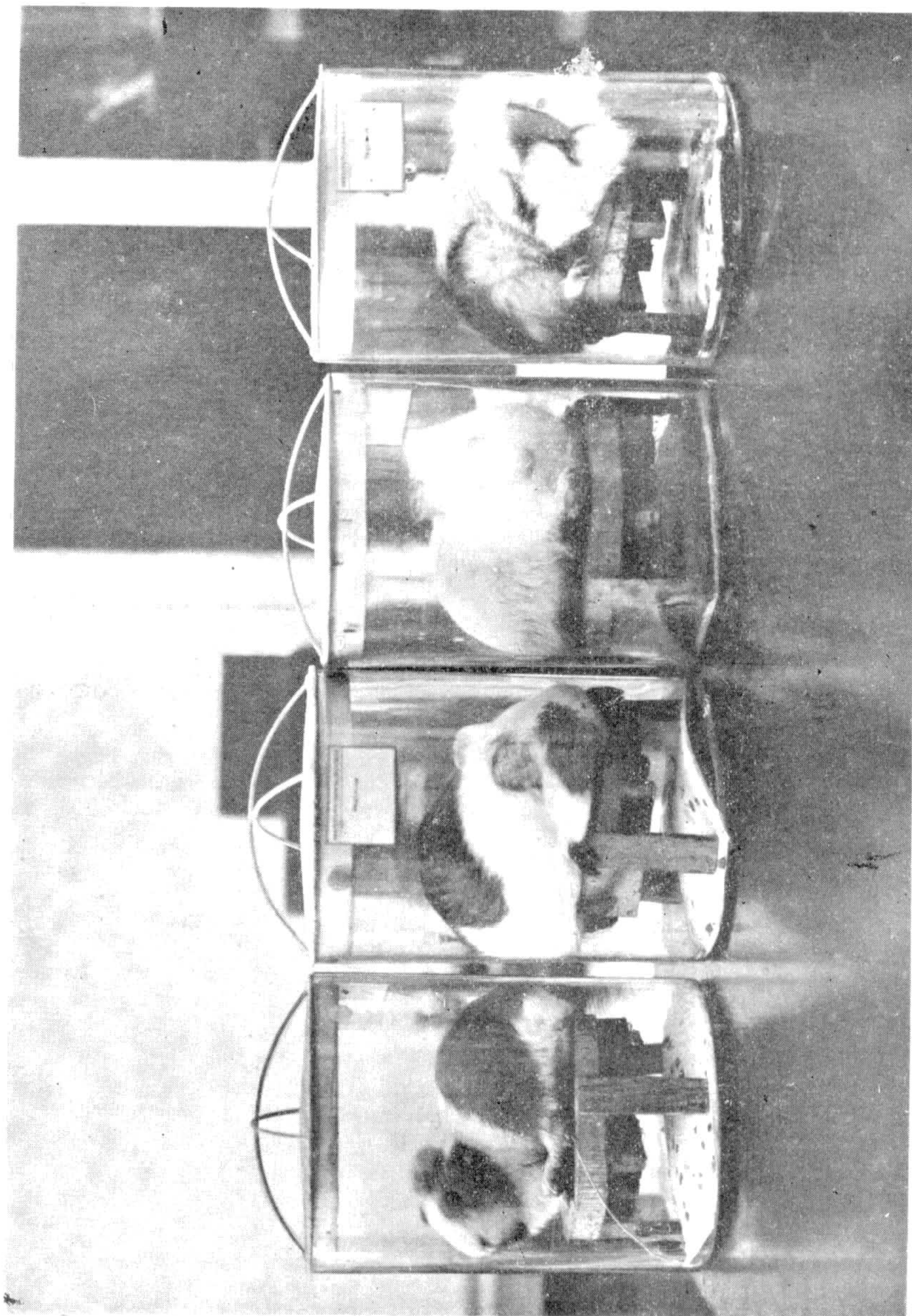


Fig. 2

J. Pinto, phot.

Dias: Criação de Triatomídeos no laboratório.

Estampa 3

- Fig. 3 — Dispositivos usados pelo Dr. C. B. Philip para a alimentação dos barbeiros em cobaya. Crystalisador rectangular, suporte de formato adequado, recipiente para receber urina e fezes do cobayo e grade de arame para a contenção de camondongo.
- (Fig. 3 — Perforated platform and urinal in position outside of jar, note sloping lip from urinal for short distance along center; oblong 1/2" opening along center of platform just accomodates wire cylinder when mice are fed and not guinea pigs).

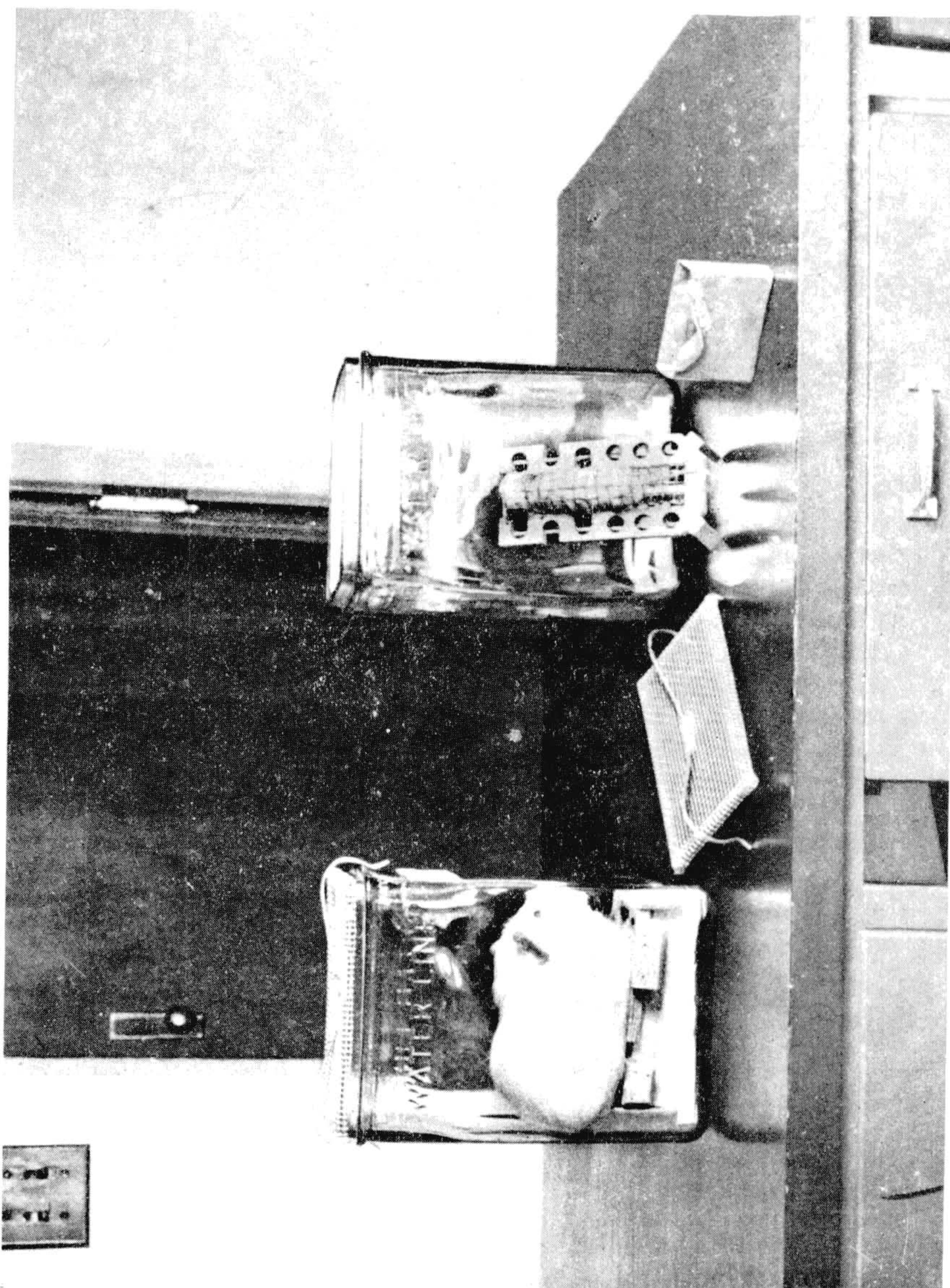


Fig. 3

Cliché Dr. C. B. Philip.

Dias: Criação de Triatomídeos no laboratório.

Estampa 4

Fig. 4 — Dispositivos usados pelo Dr. C. B. Philip para a alimentação dos barbeiros em cobaya. Crystalisador rectangular, suporte de formato adequado, recipiente para receber urina e fezes do cobayo e grade de arame para a contenção de camondongo.

(Fig. 4 — Showing mouse in cylinder along groove of platform; wooden strip along middle below level of platform, keeps cylinder from falling through. Guinea pigs rest as comfortably as possible with bugs feeding, since they do not have to curl around as in round jars; therefore unnecessary to tie them down, if unexcitable guinea pig is used.)

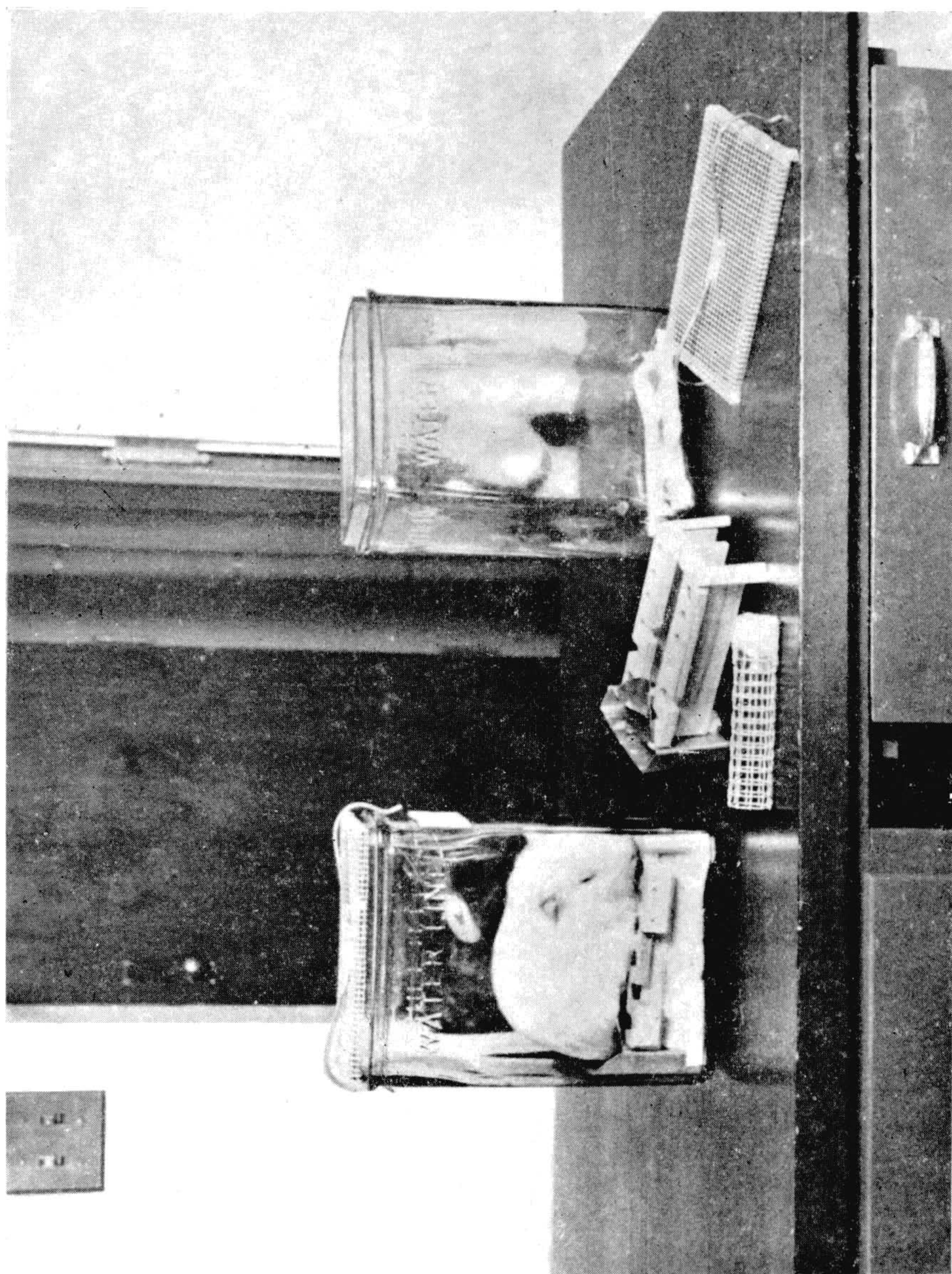


Fig. 4

Cliché Dr. C. B. Philip.

Dias : Criação de Triatomídeos no laboratório.