

EDITORIAL

DIPETALOGASTER MAXIMA OR D. MAXIMUS AS A XENODIAGNOSTIC AGENT

Schofield¹⁸ has pointed out that under article 30 of the International Code of Zoological Nomenclature *maximus* becomes *maxima* since "gaster" is feminine. However the standard work on triatomine taxonomy still refers to the species as *D. maximus*¹¹. Whatever its species name, it refers to the single member of the genus *Dipetalogaster* characterised by a pleated abdomen and a restricted geographical distribution to the tip of the Baja California peninsula in Mexico¹⁷. This was possibly an island at one time and the adaption by the bug to ingest large blood meals may have been due to the rarity of suitable hosts. The maximum recorded feed by a single adult female in our laboratory is 4.3 grams³. Active during the day they run over the rocks of their habitat to feed on exposed static man^{12 17}. This daylight activity and aggression (which is only surpassed by *Rhodnius prolixus*) favour its use in xenodiagnosis. In 1974 the author made the largest collection to date of this species (185 specimens). Fifty percent were first instar and after much labour only four adults were captured in the field. Only one of 124 wild bugs had a recognisable blood meal and this was human¹². There is evidence that they also feed on lizards and woodrats (*Neotoma* species)¹⁷. However they proved difficult to adapt in the laboratory in Brasília to feeding on birds and many were lost before a colony was established.

The main reason for establishing a laboratory colony of this species was to facilitate research on insect derived *Trypanosoma cruzi* since *D. maximus* is readily infected and produces large volumes of faecal flagellates. Indeed it has been used subsequently in several laboratories for this purpose^{9 20}. We in Brasília investigated the susceptibility of *D. maximus* to Brazilian strains of *T. cruzi* at first in São Felipe, Bahia², and subsequently in Goiás^{7 8 13}. These studies follow a sequence of investigations of the stages of triatomine used and method of examination after xenodiagnosis. They were all monitored by a statistician to achieve significance and some observations were repeated several times. We were cautious because it seemed odd that *D. maximus* would incubate *T. cruzi* from central Brazil better than *Triatoma infestans* the local vector, but this proved to be the case. First instar *D. maximus* proved as effective as third instar *T. infestans* in isolating *T. cruzi* from patients with chronic infections and rearing costs are reduced as a result.

DIPETALOGASTER MAXIMA OU D. MAXIMUS COMO AGENTE NO XENODIAGNÓSTICO

Schofield¹⁸ acentuou que pelo artigo 30 do Código de Nomenclatura Zoológica Internacional deve-se usar *maxima* ao invés de *maximus*, em vista do "gaster" ser feminino. Contudo, o principal trabalho sobre taxonomia dos triatomíneos ainda refere à espécie como *D. maximus*¹¹. Qualquer que seja o nome da espécie, ele se refere a um único membro do gênero *Dipetalogaster* caracterizado pelo abdome pregueado e distribuição geográfica restrita à ponta da Península da Baixa Califórnia, no México¹⁷. Esta era, no passado, provavelmente uma ilha e o fato do triatomíneo ingerir grande quantidade de sangue pode ter sido um modo de se adaptar à raridade dos hospedeiros apropriados. A quantidade máxima de sangue ingerida por um adulto fêmea em nosso laboratório foi de 4,3 g³.

Os triatomíneos são ativos durante o dia, se locomovendo sobre as rochas do "habitat" para se alimentar em alguma pessoa em repouso^{12 17}. Sua atividade diurna e sua agressividade (ultrapassado somente pelo *Rhodnius prolixus*) favorece seu uso no xenodiagnóstico. Em 1974, o autor conseguiu a maior coleta, até o momento, desta espécie (185 espécimes). Cinquenta por cento foi de 1º estágio e somente após muita luta 4 adultos foram capturados no campo. Apenas 1 dos 124 triatomíneos examinados teve a natureza da alimentação avaliada. E esta foi de sangue humano¹². Existe evidência que esses triatomíneos também se alimentam de lagartixas e ratos de campo (*Neotoma* sp.)¹⁷. No entanto, foi difícil sua adaptação no laboratório, em Brasília, com alimentação em aves. Muitos morreram antes de ser estabelecida a colônia.

A principal razão para o estabelecimento de uma colônia desta espécie no laboratório foi para possibilitar a pesquisa de *Trypanosoma cruzi* no inseto, visto que o *D. maximus* é facilmente infectado e produz grande volume de flagelado nas fezes. Deste modo, ele vem sendo usado em vários laboratórios com tal finalidade^{9 20}. Nós, em Brasília, investigamos a susceptibilidade do *D. maximus* para cepas brasileiras de *T. cruzi*, iniciando-se em São Felipe, Bahia², e em Goiás^{7 8 13}. Estes estudos seguem uma sequência de investigações sobre os estádios dos triatomíneos empregados e o método de exames após o xenodiagnóstico. Foram analisados sob o ponto de vista de significação estatística e algumas observações foram repetidas várias vezes. Seguimos com cuidado porque nos pareceu estranho que o *D. maximus* pudesse incubar *T. cruzi* do Brasil Central melhor que o vetor local *Triatoma infestans*, e isso foi confirmado.

We have published our data on mass rearing of *D. maximus*³. Several laboratories have had difficulty in rearing a colony for xenodiagnosis. More ova are produced at temperature of 28-30°C and a humidity of 50-60% but females live a shorter time and total egg production is less than at room temperature. Actually since the first instar is used in xenodiagnosis *D. maximus* is reared like battery hens; females dropping eggs through the wire mesh into the drawer of the cage designed by Cerisola⁵. The pots for xenodiagnosis are marked with the date after which they may be used allowing 30 days for egg eclosion and one week for consumption of the fat body³. It is best to maintain males and females together as egg fertility is higher (Soares VA: personal communication). The young stages are best reared in circular glass jars 24.5 cm in diameter and 10 cm high covered with gauze netting. Our colony currently produces approximately 2,000 eggs per month and costs 200 American dollars to maintain (10 cents per egg). Each xenodiagnosis of 40 first stage bugs costs 4 dollars. Another small advantage in maintaining this bug is that it has little smell compared with other triatomines¹⁴.

First stage *D. maximus* has other advantages as a xenodiagnosis agent. It is relatively resistant to starvation and can live up to four months without food³. It feeds readily and produces little skin reaction⁶. *Rhodnius prolixus*, another aggressive feeder, produces such marked skin reactions that artificial xenodiagnosis is commonly used in Venezuela⁴. We observed some mortality in first stage *D. maximus* when used in large numbers for xenodiagnosis in the field¹³. Subsequent work suggests that they die readily on exposure to direct sunlight and should be projected against high temperatures and low humidities during transit¹⁰. Overcrowding does not seem to be a particular problem with this stage (Schofield CJ: unpublished observations).

Another aspect of the use of *D. maximus* for xenodiagnosis is related to the possibility that bugs insusceptible to *T. cruzi* existed in our colony. The only experiment we have done in this regard showed that such refractory individuals are rare when exposed to a Bahian strain of *T. cruzi*¹⁹.

For many years now in Brasilia we have only used first stage *D. maximus* for xenodiagnosis and many workers have used it both for human and animal xenodiagnosis. We have also found it of use as a biological test agent for insecticide activity both in the laboratory and the field¹⁵. It is slightly less susceptible to insecticide activity than *T. infestans* (Soares VA: unpublished observations). We have been surprised to find that some groups are still searching for a suitable xenodiagnostic agent without trying *D. maximus*¹⁶, in spite of recent confirmation of its efficacy in incuba-

Larvas do 1º estágio do *D. maximus* foram tão eficientes quanto as do 3º estágio do *T. infestans* no isolamento do *T. cruzi* de pacientes com infecções crônicas, a custos mais reduzidos.

Já publicamos nossos dados sobre criação do *D. maximus* em larga escala³. Vários laboratórios tiveram dificuldade de criar colônia para xenodiagnóstico. Mais ovos são produzidos à temperatura de 28 a 30°C e com a umidade de 50-60%, porém as fêmeas duram menos e a produção total de ovos é menor do que na temperatura ambiental. Como as larvas do 1º estágio são usadas no xenodiagnóstico, o *D. maximus* seria como galinha na chocadeira, as fêmeas põem ovos sobre uma tela de aço que caem na caixa desenhada por Cerisola⁵. As caixas para o xenodiagnóstico são marcadas com data de uso, levando-se em conta 30 dias para a eclosão do ovo e uma semana para consumo da gordura do corpo³.

É conveniente manter os machos e as fêmeas juntos para melhor fertilidade dos ovos (VA Soares: comunicação pessoal). Os estágios imaturos são criados em jarros de vidro circulares de 24,5 cm de diâmetro por 10 cm de altura, cobertos com gaze para melhor crescimento da espécie. Nossa colônia produz habitualmente cerca de 2.000 ovos por mês, ao custo de manutenção de 200 dólares americanos (10 centavos por ovo). Cada xenodiagnóstico com 40 larvas do 1º estágio custa 4 dólares. Outra pequena vantagem na forma de manutenção desta espécie é que ela tem pouco odor comparada com outros triatomíneos¹⁴.

Larvas do 1º estágio do *D. maximus* apresentam outras vantagens para o xenodiagnóstico. Elas são relativamente resistentes ao jejum e podem sobreviver até 4 meses sem alimento³. Sua alimentação é fácil e produz pouca reação de pele⁶. *R. prolixus*, um outro alimentador agressivo, provoca reações de pele tão marcantes que o diagnóstico artificial é comumente empregado na Venezuela⁴. Observamos alguma mortalidade nas larvas do 1º estágio do *D. maximus* quando são utilizadas em grande número no uso do xenodiagnóstico no campo¹³. As subsequentes pesquisas mostraram que os triatomíneos morrem facilmente quando expostos diretamente à luz do sol, devendo ser protegidos contra altas temperaturas e baixas umidades durante o trânsito para o campo¹⁰. A alta densidade populacional não apresenta prejuízo a este estágio (CJ Schofield: observações não publicadas).

Outro aspecto do uso de *D. maximus* no xenodiagnóstico se refere à possibilidade de que existam, em nossa colônia, triatomíneos não susceptíveis ao *T. cruzi*. A única experiência nesse sentido mostrou que esses indivíduos refratários são raros quando expostos a uma cepa baiana de *T. cruzi*¹⁹.

Durante muitos anos estamos usando em Brasilia somente larvas do *D. maximus* no xenodiagnós-

ting *T. cruzi*¹. It will be of interest to see if this species is as useful in other parts of Brazil and South America as it has been here in Brasília.

REFERENCES

1. Alvarenga NJ, Bronfen E. Integração do *Trypanosoma cruzi* com diferentes vetores: uso para o xenodiagnóstico. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 17: 145-149, 1984.
2. Barreto AC, Marsden PD, Cuba CC, Alvarenga NJ. Estudo preliminar sobre o emprego de *Dipetalogaster maximus* (Uhler 1894) (Triatominae) na técnica do xenodiagnóstico em forma crônica da doença de Chagas. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 20: 183-189, 1978.
3. Barreto AC, Prata AR, Marsden PD, Cuba CC, Trigueiro CP. Aspectos biológicos e criação em massa de *Dipetalogaster maximus* (Uhler 1894) (Triatominae). Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 23: 18-27, 1981.
4. Cedillos RA, Torrealba JW, Tonn RJ, Mosca W, Ortegon A. El xenodiagnóstico artificial en la enfermedad de Chagas. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 93: 240-249, 1982.
5. Cerisola JA, Rohwedder RW, Segura EL, Del Prado CE, Alvarez M, Martini GJW. El xenodiagnóstico. Monografía. Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas "Dr. Mario Fatała Chaben". Buenos Aires, Argentina, 1974.
6. Costa CHN, Costa MT, Weber JN, Gilks CF, Castro C, Marsden PD. Skin reactions to bug bites as a result of xenodiagnosis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 75: 405-408, 1981.
7. Cuba CC, Alvarenga NJ, Barreto AC, Marsden PD, Chiarini C. Nuevos estudios comparativos entre *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans* en el xenodiagnóstico de la infección chagásica crónica humana. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 20: 145-151, 1978.
8. Cuba CC, Alvarenga NJ, Barreto AC, Marsden PD, Macêdo V, Gama MP. *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Triatominae) for xenodiagnosis of patients with serologically detectable *Trypanosoma cruzi* infection. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 73: 524-527, 1979.
9. Garcia ES, Dvorak JA. Growth and development of two *Trypanosoma cruzi* clones in the arthropod *Dipetalogaster maximus*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 31: 259-262, 1982.
10. Johnson CE, Oakley EF, Marsden PD. Mortality of *Dipetalogaster maximus* (Uhler) in response to temperature and humidity. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 17: 17-20, 1984.
11. Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the triatomine (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. Bulletin of the American Museum of Natural History. Vol. 163, Art. 3, New York, 1979.
12. Marsden PD, Cuba CC, Alvarenga NJ, Barreto AC. Report on a field collection of *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Triatominae) (Uhler, 1894). Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 21: 202-206, 1979.
13. Marsden PD, Barreto AC, Cuba CC, Gama MP, Ackers J. Improvements in routine xenodiagnosis with first instar *Dipetalogaster maximus* (Uhler 1894) (Triatominae). American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 28: 649-652, 1979.
14. Mazzotti L. Ausencia de emanaciones odoríferas perceptibles en *Dipetalogaster maximus*. Algunos comentarios sobre esta especie. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 12: 320-324, 1970.
15. Penna R, Bosworth A, Brasil IA, Marsden PD. Persistence of the residual activity of BHC on the surface of different building materials. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 17: 95-99, 1984.
16. Perlowagora-Szumlewicz A, Müller CA. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. I. Comparative xenodiagnosis with nine triatomine species of animals with acute infections by *Trypanosoma cruzi*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 77: 37-53, 1982.
17. Ryckman RE, Ryckman AE. Epizootiology of *Trypanosoma cruzi* in South Western North America. Part X. The biosystematics of *Dipetalogaster maximus* in Mexico (Hemiptera, Reduviidae) (Kinetoplastida, Trypanosomidae). Journal of Medical Entomology 4: 180-188, 1967.
18. Schofield CJ. The behaviour of triatominae (Hemiptera, Reduviidae): a review. Bulletin of Entomological Research 69: 363-379, 1979.
19. Torno CO, Soares V, Cuba CC, Barreto AC, Alvarenga NJ, Marsden PD. A case of xenodiagnosis. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 23: 229-232, 1981.
20. Zeledon R, Alvarenga NJ, Schosinsky K. Ecology of *Trypanosoma cruzi* in the insect vector. In: Chagas' disease. P. 59-70. Pan American Health Organisation. Scientific Publication No. 347, Washington, 1977.