

## OBSERVACIONES SOBRE EL XENODIAGNOSTICO EN LA INFECCION EXPERIMENTAL POR *TRYPANOSOMA CRUZI*

*Reyes Alirio Torres\**  
*Gentilda Funayama Takeda\*\**

### RESUMEN

En la tentativa de mejorar la sensibilidad del xenodiagnóstico, y para realizar algunas observaciones sobre su técnica, fueron realizados experimentos en 2 etapas. En la primera etapa ratas "Wistar", al final de la fase patente de la infección, fueron sometidas a la picada de ninfas de *Triatoma brasiliensis santinacensis* y la parasitemia medida cada hora durante las primeras 24 horas y luego 2 veces por día. En la segunda etapa se practicaron xenodiagnósticos únicos y seriados a ratas con 4 meses de infección por *T. cruzi* y los triatominos se examinaron a los 30 y 45 días por compresión y a los 60 días por disección del tubo digestivo. No se detectó ningún efecto de la picada de los triatominos en la parasitemia de las ratas, no siendo posible, por lo tanto, mejorar el rendimiento del xenodiagnóstico. El examen por compresión abdominal parece inducir mortalidad de los triatominos. La totalidad de los resultados positivos se obtuvieron examinando los triatominos entre 30 y 45

\* Facultad de Medicina. Cátedra de Parasitología. Universidad del Zulia - Venezuela.

\*\* Departamento de Parasitología. Instituto de Ciencias Biomédicas. Universidad de Sao Paulo. Brasil.

días después de aplicado el examen. No hubo diferencias en los resultados obtenidos con xenodiagnósticos únicos y seriados. No hubo correlación entre la cantidad de sangre ingerida y el porcentaje de triatomíneos positivos; tampoco hubo correlación entre mudas y positividad. El examen por disección fue significativamente superior al examen por compresión.

## ABSTRACT

Two series of trials were performed in order to improve the xenodiagnosis sensitivity and make some observations on its method. First, Wistar rats were exposed to the bite of *Triatoma brasiliensis santinacensis* bugs at the end of the parasitemic phase of the infection. The parasitemia was counted each hour during the first 24 hours and then, twice a day. In the second part of the study, single and serial xenodiagnosis were applied on rats with at least a four-month *T. cruzi* infection and bugs were examined by abdominal compression at the 30th and 45th days and by dissection of the intestinal tract at the 60th day. It was not detected any effect of the triatomine bite on the parasitemia of rats then, We were not able to improve the xenodiagnosis efficiency. The examination by abdominal compression seems to induce triatomine mortality. All of positive results were observed by the examination of bugs between 30 and 45 days after been fed on infected rats. There were not differences between single and serial xenodiagnosis. There was not correlation between the quantity of blood ingested and the percentage of positive triatomines. There was not correlation between ecdysis and positivity. The examination by dissection was significantly better than the examination by abdominal compression.

## INTRODUCCION

El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas es muy difícil durante la fase crónica, debido a la baja parasitemia que presenta el huésped vertebrado. Esta discreta parasitemia descarta la posibilidad de diagnóstico por métodos directos, tales como el frotis, la gota gruesa y el examen de sangre al fresco, inclusive utilizando métodos de concentración (29, 30, 58, 82). Por lo tanto, se hacen necesarios los métodos indirectos que permitan la multiplicación del parásito, tales como la

inoculación de animales de laboratorio, el hemocultivo y el xenodiagnóstico.

La inoculación de animales susceptibles con sangre supuestamente infectada no ha dado buenos resultados, a pesar de que los diferentes animales de laboratorio (ratones, ratas, cobayos, conejos, perros, gatos, monos, etc.) son sensibles a la infección por *T. cruzi*. Esto se debe a que no todas las cepas infectan por igual a estos animales. Así, Freitas, 1947 (33), logró infectar solamente 16% de los ratones inoculados con sangre procedente de chagásicos crónicos. Pifano, 1960 (59), inoculó cobayos y perros con sangre proveniente de chagásicos crónicos, infectándose solamente el 12.5% de los perros, mientras que ningún cobayo adquirió la infección.

*T. cruzi* crece bien en los diferentes medios de cultivo, sin embargo, el hemocultivo ha sido un método poco satisfactorio para el diagnóstico de la fase crónica de la enfermedad. Freitas, 1947 (33), obtuvo resultados negativos utilizando los medios de Bonacci y N. N. N. Pifano, 1954 (58), 1960 (59), consiguió positividad muy baja con los medios N. N. N. y Davis en pacientes comprobadamente chagásicos. Mourao y Mello, 1975 (51), reportaron 45% de positividad utilizando el medio L. I. T., resultados semejantes fueron observados por Chiary y Dias, 1975 (20), sin embargo, Rassi y col., 1981 (62) obtuvieron resultados negativos con el mismo medio. Albuquerque y col., 1972 (1), consiguieron 97.4% de positividad con el medio de Warren, este resultado ha sido muy discutido y todavía no confirmado por otros autores. Los medios sólidos (81), los cultivos celulares (45, 85) y los medios a base de tejidos de triatominos (23, 86, 87) se han mostrado sensibles en las infecciones experimentales, lo que no ha ocurrido para infecciones crónicas humanas.

A pesar de la baja sensibilidad de las inoculaciones en animales de laboratorio y del hemocultivo, son, junto con el xenodiagnóstico, las únicas alternativas disponibles para el diagnóstico parasitológico de la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*.

En varios estudios se ha intentado comparar el hemocultivo y el xenodiagnóstico; en la mayoría el xenodiagnóstico se ha mostrado superior (17, 19, 43, 60). Sin embargo, Neal y Miles, 1977 (52), Minter - Goeldbloed y col., 1978 (50), observaron que los dos métodos tienen sensibilidad semejante.

El xenodiagnóstico, introducido por Brumpt, 1914 (10), ha sido el método indirecto más empleado para el diagnóstico parasitológico de la infección chagásica crónica, tanto humana como de animales (16, 42, 44, 61, 69, 70, 77, 78). Consiste en investigar el parásito en el conteni-

do intestinal de insectos vectores (Hemipteros de la subfamilia Triatominae) algunas semanas después de haber sido alimentados con sangre de pacientes con sospecha de infección chagásica. Las ninfas utilizadas deben ser criadas en el laboratorio a partir de huevo y alimentadas con sangre de ave hasta el momento de la aplicación de la prueba. Antes de su uso, durante cierto tiempo, generalmente 30 días (78), son mantenidas en ayunas. Al momento del xenodiagnóstico, las ninfas son colocadas en recipientes apropiados y aplicadas sobre la piel del individuo que está siendo examinado.

Muchas han sido las variables y las metodologías estudiadas con la finalidad de mejorar la sensibilidad del xenodiagnóstico.

### 1. *Especies de Triatominos*

Dias, 1938 (25), 1940 (26), sugirió que era conveniente utilizar especies de importancia epidemiológica, admitiendo que los vectores de una región son más susceptibles para las cepas del parásito que infectan pacientes o animales procedentes de la misma región. Este concepto ha sido reforzado por las observaciones de Pifano, 1954 (58), Ryckamn, 1965 (68), Siqueira, 1968 (76), Cerisola, 1971 (16), 1974 (17). Probablemente es por eso que *Triatoma infestans* ha sido la especie preferida para el xenodiagnóstico en Brasil, Chile y Argentina (12, 16, 17, 63, 69, 72) y *Rhodnius prolixus* en Venezuela (59, 60, 78).

En algunos estudios se han observado mejores resultados con especies diferentes a las de importancia epidemiológica en la región. Así, Zeledon y Vieto, 1957 (88), relataron, para una cepa costarricense, menor porcentaje de infección para el principal transmisor en la región (*Triatoma dimidiata*) en comparación con otros triatominos (*T. infestans*, *T. phyllosoma*, *R. prolixus* y *R. pallescens*). Pifano y col., 1973 (59) obtuvieron mejores resultados con *T. pallidipennis* que con *R. prolixus* en los xenodiagnósticos aplicados a 219 casos de enfermedad de Chagas, a pesar de ser *R. prolixus* el transmisor natural de la enfermedad en Venezuela. En este trabajo, los autores correlacionaron la cantidad de sangre ingerida por los insectos con la positividad, de modo que, 1314 ninfas de *T. pallidipennis* ingirieron 920 ml sangre dando una positividad de 35.2%, mientras que 2628 ninfas de *R. prolixus* ingirieron 522 ml de sangre y la positividad fue de apenas 26.5%. Forattini y col., 1976 (32), recomendaron utilizar *R. neglectus* con fines diagnósticos, por haber verificado que esa especie era más sensible que *T. infestans* para el diagnóstico de la infección crónica natural de marsupiales (*Didelphis*). Cuba y col., 1979 (22), Cuba-Cuba y col., 1978 (21), Barreto y col., 1978

(5), recomendaron el uso de la especie gigante *Dipetalogaster maximus*, triatomino originario de México, por ser sensible a varias cepas de *T. cruzi*, por ingerir mayores cantidades de sangre y por ser fáciles de criar.

## 2. *Estadios Evolutivos*

No está bien estandarizada la edad ideal de los triatominos utilizados en el xenodiagnóstico.

Schenone y col., 1968 (72), 1974 (73), Cerisola y col., 1974 (17), prefieren ninfas de tercer estadio, mientras que Freitas, 1947 (33), Siqueira, 1968 (76), Cancado y col., 1973 (12), Cedillos y col., 1982 (14), preconizan el uso de ninfas de cuarto o quinto estadio, debido a que ingieren mayor cantidad de sangre. Cuba-Cuba y col., 1978 (21), Cuba y col., 1979 (22), recomiendan ninfas de primer estadio de *Dipetalogaster maximus* por resultar más económicas, ya que no necesitan ser alimentadas en aves antes de su uso, y por no disminuir el rendimiento de la prueba.

## 3. *Número de Ninfas*

Existen muchas divergencias en cuanto al número adecuado de ninfas a utilizar en el xenodiagnóstico. Dias, 1940 (26), recomendó 3 a 6 ninfas; Pedreira, citado por Siqueira, 1968 (76), sugirió por lo menos 5; Pifano, 1954 (58), aconsejó por lo menos 12 y Maekelt, 1964 (42), recomendó 20. Cerisola y col., 1974 (17), utilizando un número creciente de insectos verificaron un aumento en la positividad; cuando usaron 40 ninfas comprobaron parasitemia en cerca de 50% de los pacientes examinados, sin embargo no obtuvieron aumentos significativos de positividad cuando utilizaron más de 40 triatominos.

El aumento del número de ninfas y la utilización de estadios evolutivos mayores tienen la finalidad, realmente, de aumentar la cantidad de sangre ingerida por los triatominos. Varios autores (2, 5, 48, 49, 61) han observado mayor positividad en los insectos que ingieren mayor cantidad de sangre; sin embargo, Miles y col., 1975 (47), no encontraron correlación entre la cantidad de sangre ingerida y la posterior infección de los triatominos por *Trypanosoma cruzi*.

## 4. *Número de Alimentaciones*

Torrealba, 1934 (82), 1939 (83), recomendó varias alimentaciones en el mismo huésped con intervalos de 8 a 10 días, mientras que Mae-

kelt, 1964 (42), utilizó hasta 6 alimentaciones con intervalos de 10 días. Por otro lado, Dias, 1940 (26), Schenone y col., 1966 (71), 1968 (72), 1974 (73), utilizaron una sola alimentación.

Pifano, 1954 (58), practicó xenodiagnósticos a 80 pacientes chagásicos y comparó el rendimiento del método cuando las ninfas eran alimentadas una o dos veces en el mismo paciente. De 1236 ejemplares de *R. prolixus*, 50% se infectaron con una sola alimentación, obteniendo positividad en 38.8% de los pacientes; 73.5% de 1120 ejemplares de la misma especie se infectaron cuando fueron alimentados dos veces, obteniendo resultados positivos en 43.7% de los individuos. El autor recomendó, por consiguiente, dos alimentaciones; sin embargo, Soto, 1970 (78), estudiando 100 pacientes con Reacción de Fijación de Complemento positiva, no encontró diferencias significativas entre los resultados obtenidos con una o dos alimentaciones.

### 5. Muda de las Ninfas

Patterson y Miles, 1973 (55), practicando xenodiagnóstico a un mono con infección crónica, observaron que a pesar de que el epitelio rectal del triatominos se desprende durante la muda, este fenómeno no afecta la presencia de tripanosomas en el recto.

Minter y col., 1977 (48), trabajando con humanos y animales con infección crónica, encontraron correlación positiva entre la cantidad de triatominos que mudaron después de la aplicación del xenodiagnóstico y el porcentaje de triatominos que adquirieron la infección.

En realidad, las informaciones hasta ahora presentadas se basan en dos factores fundamentales: la sensibilidad de los triatominos y la cantidad de sangre ingerida por los mismos. Takeda y col., 1982 (80), Castanho y col., 1983 (13), han demostrado diferencias en la sensibilidad de varias especies de triatominos para la cepa "Boa Vista" de *Trypanosoma cruzi*. Los autores también reportaron diferencias intra-específicas, afirmando que algunos ejemplares no se infectaron a pesar de haber ingerido gran cantidad de parásitos. La cantidad de sangre ingerida es el factor más mencionado por los diferentes autores, sin embargo, pocos han sido los estudios cuantitativos realizados en relación a ese parámetro (5, 41, 50).

### 6. Inmunosupresión

Basándose en el efecto observado en animales de experimentación, en los cuales se logra aumentar la parasitemia mediante la administra-

ción de esteroides (67), algunos autores han sugerido esta conducta en pacientes a los que se va a practicar xenodiagnóstico. Así, Gould y col., 1967 (37), estudiaron el efecto de los esteroides en el resultado del xenodiagnóstico, inoculando 50 mg de Prednisolona por vía endovenosa a 19 pacientes con serología positiva para enfermedad de Chagas. El xenodiagnóstico fue practicado antes y después de la administración de la droga, no observando aumentos significativos en la sensibilidad del método.

Brener y Chiari, 1971 (7), estudiaron el efecto inmunosupresor de los rayos gama, Ciclofosfamida, 6-Mercaptopurina y Azatioprina sobre animales, inoculados con cuatro cepas diferentes de *T. cruzi*, que se encontraban en la fase crónica de la infección. Solamente en los animales inoculados con la cepa CL, los rayos gama (500 r) y la Ciclofosfamida indujeron reagudizaciones de la infección crónica, provocando altas parasitemias y mortalidad elevada.

Almeida y col., 1974 (3), describieron manifestaciones de reagudización en un caso crónico de enfermedad de Chagas que recibía Ciclofosfamida para el tratamiento de su enfermedad de Hodgkin. El paciente presentó parasitismo de esófago y miocardio.

Los inmunosupresores son de alto riesgo para el paciente; sólo pueden ser indicados, y con mucha cautela, en situaciones muy específicas en determinadas enfermedades, donde realmente sean necesarios. Por lo tanto, nunca se debió haber pensado en su uso para el diagnóstico de la infección chagásica, inclusive si el rendimiento aumentara significativamente, ya que existe el riesgo de reagudización de la enfermedad.

### *7. Tiempo transcurrido entre la alimentación y el examen de los triatominos*

Una de las grandes limitaciones del xenodiagnóstico es el tiempo que se debe esperar para la lectura, tiempo denominado "Xenocultivo" por Torrealba, 1939 (83). Intervalos muy diferentes se han reportado en la literatura tanto para el diagnóstico de la enfermedad humana como de las infecciones naturales o experimentales de animales; esto se debe a la preocupación de los autores por encontrar el tiempo adecuado para el examen.

Bronfen y col., 1981 (9), practicaron xenodiagnóstico a 70 chagásicos crónicos y 24 resultaron positivos: 11 (43.82%) cuando los triatominos se examinaron a los 15 días, 7 (29.16%) a los 21 días, 5 (20.82%) a los 30 días y 1 (4.16%) a los 60 días, de tal forma que más del 90% de

los casos fueron diagnosticados hasta el día 30. Alvarenga y Leite, 1982 (4), basándose en observaciones experimentales, opinan que la disección de los triatominos puede realizarse a los 15 días de haberse practicado el xenodiagnóstico.

Forattini y col., 1976 (32), tratando de establecer un plazo más corto para examinar el xenodiagnóstico, trabajaron con *R. neglectus*, *T. infestans* y marsupiales naturalmente infectados, obteniendo los mejores resultados entre 15 a 20 días después de la alimentación de los triatominos. Otros autores (52, 55, 64), trabajando también con animales, sugirieron que el examen se debe realizar alrededor de los 20 días. En humanos, Cerisola y col., 1974 (17), obtuvieron mayor número de casos positivos examinando los insectos entre los 25 y 30 días.

En los trabajos pioneros, la mayoría de los autores recomiendan el examen de los triatominos después de 45 días de xenocultivo (26, 34, 42, 78, 83).

Según Schenone y col., 1968 (72), cada xenodiagnóstico debe ser examinado a los 30 días, si es negativo, las ninfas se examinan de nuevo a los 60 y 90 días. Con este esquema, practicaron 3266 xenodiagnósticos a 686 pacientes con infección chagásica crónica, obteniendo 1637 pruebas positivas (50.1%). De estos, 68.9% fueron positivos a los 30 días, 23.3% a los 60 días y 7.8% a los 90 días. Este aumento no fue observado por Dias y col., 1980 (28), quienes practicaron xenodiagnósticos a 50 chagásicos crónicos y obtuvieron 20% de positividad. De los triatominos negativos a los 30 días, solamente uno fue positivo a los 60 días.

## 8. *Mantenimiento de los Triatominos después de la alimentación infante*

Según Siqueira, 1968 (76), los insectos se deben mantener a temperatura ambiente. Schenone y col., 1968 (72), recomendaron temperatura de 27 grados centígrados y humedad relativa del 85%. Cerisola y col., 1974 (17), guardaron 131 cajitas a temperatura ambiente y 642 a 30 grados centígrados, practicando el examen a los 30, 60 y 90 días. Observaron que a 30 grados la positividad fue más precoz.

## 9. *Examen de los Triatominos*

Según Dias, 1940 (26), los insectos se deben examinar por compresión abdominal o por aspiración, con micropipetas, de heces directa-

mente de la ampolla rectal; si el resultado es negativo, entonces se procede a la disección de los mismos.

Soto, 1970 (78), recomendó cortar el último segmento abdominal y luego examinar el contenido intestinal. Con este método obtuvo 16% de positividad en 100 pacientes con reacción de Machado - Guerreiro positiva.

Maekelt, 1964 (42), propuso una modificación en el proceso de examen de los triatomíneos, la cual consistió en homogeneizar los insectos en solución salina, luego centrifugar y examinar el sedimento al microscopio. En 60 exámenes hechos con el método modificado, la positividad fue de 31.6%, mientras que en 155 exámenes practicados por disección, la positividad fue de 16.7%. Sin embargo, Cedillos y col., 1982 (15), no observaron diferencias en la sensibilidad del xenodiagnóstico cuando compararon la compresión individual de los insectos con el método de Maekelt.

Forattini y col., 1976 (32), obtuvieron resultados más rápidos (7 días) examinando los triatomíneos por disección y más tardíos (21 días) por compresión. Guedes, 1952 (38), examinó 627 insectos que habían sido negativos por compresión y observó que 100 de ellos (16%) fueron positivos por disección. Por otro lado, Dias y col., 1981 (28), practicando xenodiagnóstico a 50 chagásicos crónicos, no observaron diferencias entre la compresión y la disección individual de los insectos.

## 10. *Xenodiagnóstico Artificial*

Consiste en alimentar los triatomíneos no directamente en el paciente, sino a partir de sangre obtenida por punción venosa y colocada en dispositivos especiales para ese fin. Varios han sido los trabajos sobre xenodiagnóstico artificial (15, 35, 39, 54, 65, 75), sin embargo, en ningún caso esta modalidad fue superior al xenodiagnóstico natural.

Romaña y Gil, 1947 (65), utilizaron xenodiagnóstico artificial en los casos en que no fue posible la aplicación directa a los enfermos, obteniendo algunos resultados positivos. Nussenzweig y Sonntag, 1952 (54), también reportaron resultados positivos utilizando el sistema *T. vitticeps* y sangre de cobayos infectados experimentalmente.

Freitas y col., 1955 (35), aplicaron xenodiagnósticos "in vivo" e "in vitro" a 50 pacientes con enfermedad de Chagas crónica, no encontrando diferencias significativas al comparar las cantidades de sangre ingeridas, los xenodiagnósticos positivos y los porcentajes de triatomíneos positivos.

Cedillos y col., 1982 (15), observaron que tanto por el método natural como por el artificial, los insectos utilizados ingirieron cantidades de sangre semejantes. Recomendaron el xenodiagnóstico artificial sobre todo para los países en los cuales prevalece *R. prolixus*, ya que el xenodiagnóstico clásico con esta especie puede provocar reacciones alérgicas de intensidad y frecuencia variables.

### 11. *Xenodiagnósticos Seriados*

Schenone y col., 1974 (73), practicaron 207 series de xenodiagnósticos a 27 pacientes con infección chagásica crónica, usando dos cajas, cada una con 7 ninfas de *T. infestans*, diariamente durante tres días consecutivos. Con este esquema verificaron un aumento en la sensibilidad del método, obteniendo un rendimiento de hasta 67.1% de positividad.

Goldsmith y col., 1979 (36), aplicaron xenodiagnósticos seriados con *R. prolixus* a monos con infección crónica por *T. cruzi* y observaron que el porcentaje de triatominos positivos en el segundo o en el tercer xenodiagnóstico era mayor que en el primero. Pensaron que ese aumento en la parasitemia se debió a algún factor estimulante (traumatismo del xenodiagnóstico, anestésico u otros) que alteró la relación huésped-parásito.

### 12. *Prueba del Chipó*

Dias-Ungría, 1966 (29), 1970 (30), utilizó la "prueba del chipó", que consiste en examinar la sangre contenida en el abdomen del insecto inmediatamente después de ser alimentado a partir del huésped supuestamente infectado. El método se mostró mejor que el examen directo de sangre e inferior al método clásico de xenodiagnóstico. Esta modalidad, a pesar de utilizar triatominos, no es un verdadero xenodiagnóstico, ya que el parásito no se multiplica dentro del vector y representa en realidad, un método natural de concentración.

Fistein y Chowdhury, 1980 (31), reportaron buenos resultados con una metodología semejante, sin embargo, los experimentos fueron realizados en animales con infección aguda en vez de crónica.

### 13. *Otras Variables*

Maekelt y Alcañiz, 1960 (41), citaron, además de lo ya mencionado, otras variables que se deben tomar en cuenta al practicar el xenodiagnóstico y que pueden representar causas de error:

I- Fuente de sangre usada para alimentar los triatominos durante la cría.

II- Estado evolutivo de la enfermedad.

III- Experiencia, cuidado y paciencia del examinador.

IV- Mortalidad de los insectos antes del examen.

V- Factores desconocidos, tales como:

a) Quimioterápicos administrados al paciente antes del xenodiagnóstico.

b) Estado nutritivo del paciente.

c) Resistencia o susceptibilidad individual de los insectos para la infección por *T. cruzi*.

d) Población de bacterias, hongos y virus en el intestino del triatomo, que pueda interferir con la evolución del parásito.

e) pH del contenido intestinal del insecto.

Se observó a lo largo de esta revisión, que los resultados obtenidos por los diferentes autores, usando el xenodiagnóstico, han sido muy variados y de difícil interpretación. Esto se debe a la falta de estandarización del método. Además de los resultados ser muy diferentes, la sensibilidad del método continúa siendo muy baja, inclusive en los trabajos con mayor éxito. En vista de todo esto, se deben realizar más y mejores investigaciones con la finalidad de aumentar la sensibilidad del método y por otro lado, es necesario estandarizar la metodología para que los diferentes estudios puedan ser comparados.

Los buenos resultados con xenodiagnósticos seriados obtenidos por Schenone y col., 1968 (72), 1974 (73), trabajando con humanos y por Goldsmith y col., 1979 (36), trabajando con monos, nos llevaron a pensar en la existencia de algún factor relacionado con la picada del triatomo, capaz de inducir la diferenciación intracelular de tripanosomas, lo que podría resultar en un aumento transitorio de la parasitemia. Demostrando esa inducción, sería posible la utilización de picadas estimulantes con la finalidad de aumentar transitoriamente la parasitemia del huésped vertebrado con infección crónica y consecuentemente, mejorar el rendimiento del xenodiagnóstico. De tal forma que el presente trabajo tuvo como objetivos:

—investigar el efecto de la picada del triatomo sobre la parasitemia del huésped vertebrado;

—realizar observaciones sobre algunas variables utilizadas en el xenodiagnóstico.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron experimentos en dos etapas.

### PRIMERA ETAPA

*Experimento 1:* 15 ratas hembras de 20 días de edad, cuyos pesos variaron entre 37.7 gr y 48.3 gr, criadas en el bioterio del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad de Sao Paulo (I.C.B.-U.S.P.), fueron inoculadas intraperitonealmente con  $10^5$  formas sanguíneas de la cepa "Boa Vista" de *Trypanosoma cruzi*. Esta cepa fue aislada a partir del contenido intestinal de *Panstrongylus megistus* capturado en "Sao Joao de Boa Vista, Sao Paulo-Brasil" por la Superintendencia de Control de Endemias del Estado de Sao Paulo (SUCEM) y mantenida en el Departamento de Parasitología del ICB-USP por pasajes quincenales en ratas "Wistar". La parasitemia de los animales fue cuantificada sistemáticamente, tres veces por semana, por el método de Brener (6). Se seleccionaron para el estudio 5 ratas en las cuales la evolución parasitémica fue semejante.

El día 49 de la infección, cuando el nivel parasitémico era muy bajo, las ratas fueron expuestas al siguiente esquema: A 4 ratas se le aplicó xenodiagnóstico (2 ratas con 10 ninfas y 2 con 20 ninfas) y una rata sirvió de control (sin xenodiagnóstico). Para los xenodiagnósticos se utilizaron ninfas de tercer estadio de *Triatoma brasiliensis santinacensis* Cerqueira, 1983 (18), criadas en el insectario del Departamento de Parasitología del ICB-USP a partir de especímenes capturados en "Santo Inacio-Bahia".

Para examinar los animales se tomaban, por punción de la cola, 5 mm<sup>3</sup> de sangre con micropipeta "Wintrobe". Se examinó la totalidad de la muestra en portaobjeto cubierto por laminilla 22 x 22 mediante un microscopio "Zeiss-Winkel-Jena" (ocular 10X y objetivo 45X). Los exámenes fueron realizados con intervalos de una hora durante las primeras 24 horas y luego dos veces por día durante 14 días.

En el 63° día de la infección, los animales fueron nuevamente expuestos a las picadas, utilizando los mismos triatominos y los exámenes de sangre practicados dos veces al día durante 8 días.

*Experimento 2:* 10 ratas hembras de 20 días de edad, cuyos pesos variaron entre 32.6 gr y 50.1 gr, fueron inoculadas intraperitonealmente con  $2 \times 10^5$  formas sanguíneas de la misma cepa de *T. cruzi*. La parasitemia se cuantificó de acuerdo a la metodología citada en el primer experimento. El experimento se realizó con 5 ratas que tuvieron evolu-

ción parasitémica semejante. En este grupo, 3 ratas recibieron picadas de 10 triatominos y 2 sirvieron de control. Los exámenes de sangre fueron practicados dos veces al día durante 4 días.

## SEGUNDA ETAPA

Para esta etapa fueron seleccionadas 10 ratas de las 15 que habían sido inoculadas para el primer experimento con  $10^5$  formas sanguíneas de *T. cruzi* y cuya parasitemia fue semejante durante la fase patente. El estudio fue practicado cuando las ratas tenían por lo menos cuatro meses de infección. Cada rata fue sometida a xenodiagnósticos mensuales durante tres meses consecutivos, según el siguiente esquema:

—5 ratas fueron expuestas el primer mes a xenodiagnóstico con 30 ninfas de una sola vez (xenodiagnóstico único), en el segundo mes se utilizaron 10 ninfas cada 24 horas durante tres días sucesivos (xenodiagnóstico seriado) y en el tercer mes se procedió de forma semejante al primer mes;

—A 5 ratas se les aplicó un esquema contrario, esto es, en el primer mes se utilizaron 10 ninfas cada día durante tres días consecutivos, en el segundo mes el xenodiagnóstico se practicó con 30 ninfas de una sola vez y en el tercero, de manera semejante al primer mes.

De esta forma, cada rata podría funcionar como su propio control.

Para la aplicación de los xenodiagnóstico, las ratas eran introducidas e inmovilizadas en jaulitas de tela de alambre. Las ninfas eran dejadas en ayuno durante un mes y colocadas en recipientes plásticos, los cuales eran aplicados sobre la piel de las ratas durante una hora. Para medir la cantidad de sangre ingerida, los recipientes que contenían las ninfas eran pesados en balanza "Mettler" de 0.10 gr de apreciación, antes y después de la alimentación de los insectos con sangre de los animales en estudio. Una vez repletos de sangre, los triatominos eran mantenidos en estufa a 30 grados centígrados de temperatura y 80% de humedad, sin realimentación posterior.

Las ninfas eran examinadas a los 30 y 45 días después de la alimentación infectante, obteniendo una gota de heces mediante ligera compresión abdominal y a los 60 días, el examen se hacía por disección. Durante el primer examen, las exuvias resultantes de la muda de los insectos eran contadas y retiradas del recipiente. Después del primer examen, los triatominos eran observados diariamente y aquellos que morían eran inmediatamente examinados por disección. El segundo y el tercer examen fueron practicados tanto a los insectos que habían sido

negativos, como a los que habían sido positivos en el examen practicado a los 30 días.

Con la finalidad de comparar la eficacia de los exámenes por compresión y disección, se utilizaron los triatominos de los experimentos de la primera etapa, ya que era grande la posibilidad de los mismos haberse infectado, pues habían sido alimentados en ratas con parasitemia todavía patente. Los insectos que permanecían vivos a los 90 días después de la alimentación infectante fueron primero examinados por compresión abdominal, e inmediatamente después por disección.

Para el análisis de la cantidad de sangre ingerida y del porcentaje de triatominos que mudaron en relación al porcentaje de insectos positivos, se utilizó el Coeficiente de Correlación de Pearson; y en la comparación de los exámenes por compresión y disección, el test de Mc Nemar.

## RESULTADOS

### PRIMERA ETAPA

*Experimento 1:* En la tabla 1 se expresan las parasitemias de las ratas seleccionadas y utilizadas en el experimento 1, antes y después de las picadas de los triatominos. Con los datos de la Tabla 1 se elaboró el Gráfico 1, donde fueron calculadas las parasitemias promedio de las ratas que fueron picadas por 10 ninfas y de las picadas por 20 ninfas. De este modo, se observan tres curvas representadas por el promedio de las ratas 1 y 2 (10 ninfas), el promedio de las ratas 3 y 4 (20 ninfas) y la rata control N° 5 (no expuesta a las picadas).

En esos animales, inoculados con  $10^5$  formas sanguíneas de *T. cruzi*, las curvas parasitémicas se mostraron más o menos semejantes y el número de tripanosomas cayó para niveles muy bajos alrededor del día 44 después de la inoculación. Después del día 49, cuando habían sido expuestos a la primera picada, las parasitemias se mantuvieron bajas y variando bastante de hora para hora y de día para día, tanto en los animales picados por los triatominos como en la rata control. En algunas oportunidades (a las 6, 54 y 270 horas) la rata control presentó niveles parasitémicos mayores que las ratas expuestas a las picadas (Gráfico 1). Tampoco se evidenciaron diferencias de comportamiento entre las parasitemias de las ratas picadas por 10 o por 20 ninfas (Tabla 1). En el 63° día pos-inoculación, los animales fueron sometidos a la segunda picada de los triatominos, observándose que hasta 75 horas después de la pica-

**TABLA 1 - EVOLUCION PARASITEMICA \* DE LAS RATAS INOCULADAS CON 10<sup>5</sup> TRIPOMASTIGOTAS SANGUINEOS ANTES Y DESPUES DE LAS PICADAS DE LOS TRIATOMINOS. EXPERIMENTO 1.**

| RATA<br>Nº | DIAS |     |     |       |       |       |       |       |       |       | POST INOCULACION |       |       |     |    |    |    |    |    |    | HORAS POST<br>18 PICADA |     |    |   |   |   |   |
|------------|------|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|-------|-------|-----|----|----|----|----|----|----|-------------------------|-----|----|---|---|---|---|
|            | 4    | 7   | 9   | 11    | 14    | 16    | 18    | 21    | 23    | 25    | 28               | 30    | 32    | 35  | 37 | 39 | 42 | 44 | 46 | 49 | 51                      | N.N | 0* | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1          | 48   | 96  | 336 | 528   | 816   | 960   | 2 112 | 1 200 | 672   | 576   | 288              | 0     | 48    | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 10                      | 0   | 0  | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 2          | 0    | 144 | 384 | 1 104 | 960   | 1 248 | 1 152 | 2 688 | 1 248 | 720   | 672              | 960   | 480   | 48  | 0  | 48 | 1  | 0  | 1  | 1  | 10                      | 1   | 4  | 5 | 3 | 2 | 0 |
| 3          | 192  | 240 | 144 | 192   | 1 152 | 528   | 1 356 | 2 256 | 2 256 | 2 544 | 2 112            | 1 920 | 1 200 | 480 | 48 | 0  | 48 | 1  | 1  | 1  | 20                      | 0   | 1  | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 4          | 0    | 0   | 240 | 912   | 768   | 864   | 1 200 | 1 152 | 768   | 1 200 | 236              | 192   | 144   | 96  | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 20 | 0                       | 5   | 3  | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 5          | 0    | 96  | 192 | 288   | 192   | 1 344 | 1 344 | 720   | 1 392 | 480   | 432              | 144   | 0     | 96  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0* | 1                       | 1   | 2  | 0 | 0 | 0 | 0 |

| RATA<br>Nº | HORAS POST PRIMERA PICADA |   |   |   |    |    |    |    |    |    | HORAS POST SEGUNDA PICADA |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|------------|---------------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
|            | 6                         | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16                        | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 30 | 48 | 54 | 72 | 78 | 96 | 102 |
| 1          | 1                         | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 2  | 0  | 2  | 1  | 4  | 0  | 0   |
| 2          | 1                         | 4 | 1 | 2 | 0  | 3  | 4  | 3  | 1  | 2  | 1                         | 2  | 4  | 5  | 3  | 5  | 2  | 2  | 3  | 5  | 4  | 9  | 3  | 5  | 3  | 1   |
| 3          | 0                         | 0 | 1 | 0 | 1  | 1  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0                         | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 3  | 2  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0   |
| 4          | 4                         | 2 | 1 | 0 | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0                         | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 2  | 6  | 4  | 1  | 4  | 2  | 0   |
| 5          | 4                         | 2 | 2 | 0 | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                         | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 3  | 8  | 0  | 0  | 1  | 0   |

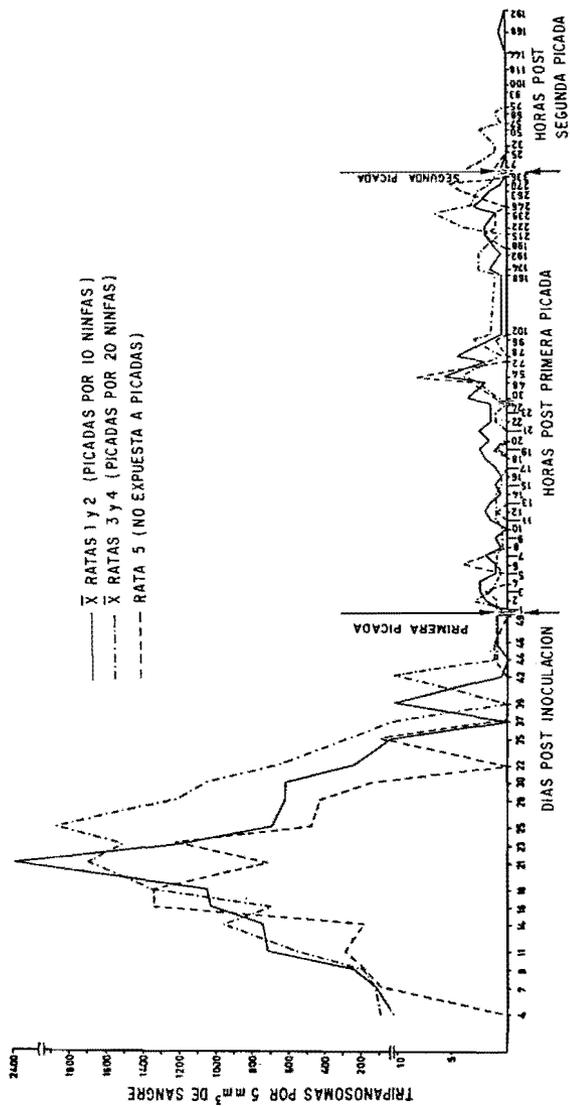
| RATA<br>Nº | HORAS POST PRIMERA PICADA |     |     |     |     |     |     |     |     |     | HORAS POST SEGUNDA PICADA |     |    |   |   |   |   |   |    |     |     |     |     |   |   |
|------------|---------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------------------|-----|----|---|---|---|---|---|----|-----|-----|-----|-----|---|---|
|            | 168                       | 174 | 192 | 198 | 215 | 222 | 239 | 246 | 263 | 270 | 336                       | N.N | 0* | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 10 | 118 | 144 | 168 | 192 |   |   |
| 1          | 0                         | 2   | 1   | 0   | 1   | 1   | 0   | 3   | 3   | 0   | 0                         | 10  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0 | 0 |
| 2          | 1                         | 1   | 0   | 2   | 3   | 3   | 2   | 3   | 0   | 1   | 0                         | 10  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1 | 0 |
| 3          | 0                         | 1   | 1   | 3   | 0   | 1   | 2   | 1   | 4   | 2   | 0                         | 20  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0 | 0 |
| 4          | 2                         | 4   | 4   | 1   | 7   | 11  | 5   | 1   | 1   | 2   | 20                        | 5   | 2  | 2 | 5 | 1 | 2 | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0 | 0 |
| 5          | 0                         | 0   | 0   | 0   | 2   | 1   | 1   | 0   | 4   | 5   | 0*                        | 1   | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0 | 0 |

\* Número de tripanosomas en 5 mm<sup>3</sup> de sangre.

N.N: Número de ninfas.

0\*: Rata control, no expuesta a picadas.

**GRAFICO 1 - EVOLUCION PARASITEMICA DE LAS RATAS INOCULADAS CON 10<sup>5</sup> TRIPO-  
MASTIGOTAS SANGUINEOS ANTES Y DESPUES DE LAS PICADAS DE LOS TRIATOMINOS.  
EXPERIMENTO 1.**



da (65° día de infección) las parasitemias habían dejado de ser patentes en todas las ratas. A partir de ese momento, las picadas de los triatominos no fueron capaces de producir el resurgimiento de parasitemias patentes (Gráfico 1).

*Experimento 2:* En la Tabla 2 están representados los resultados obtenidos en el segundo experimento. A partir de los datos de la Tabla 2 se confeccionó el Gráfico 2, calculando las parasitemias promedio de tres ratas que fueron picadas por 10 ninfas cada una y de dos ratas control, no expuestas a las picadas.

En las ratas utilizadas en el segundo experimento, inoculadas con  $2 \times 10^5$  formas sanguíneas de *T. cruzi*, las parasitemias fueron más elevadas que en los animales del primer experimento, dejando de ser patentes en un período más corto (44 días).

Como se puede observar en el Gráfico 2, las curvas parasitémicas de las ratas expuestas y no expuestas (control) a las picadas fueron más o menos semejantes, cayendo para niveles bajos el día 40 después de la inoculación. En el 47° día de infección, las ratas fueron expuestas a las picadas de los triatominos, no observándose, tampoco, el resurgimiento de parasitemia patente mediante la picada de los mismos.

## SEGUNDA ETAPA

Los resultados de esta etapa están agrupados en la Tabla 3. En 9 de las 10 ratas utilizadas se obtuvieron xenodiagnósticos positivos.

Los porcentajes de triatominos positivos resultaron completamente diferentes de xenodiagnóstico para xenodiagnóstico y de animal para animal. No fue posible detectar aumentos en la positividad mediante la aplicación de xenodiagnósticos seriados en días consecutivos. Al contrario, la positividad se mostró muy variable de un día para otro, de mes para mes y sobre todo de rata para rata. Se observó, por ejemplo, que la rata N° 1 en ningún momento fue positiva. Se debe resaltar que esta rata fue sometida a xenodiagnósticos mensuales durante un año. La positividad de los triatominos alimentados en las ratas 3 y 8 se mostró relativamente elevada a lo largo del experimento, mientras que en los alimentados con las ratas 5 y 10 la positividad siempre fue muy baja. En las ratas 2 y 4, el porcentaje de triatominos positivos fue mayor en el primer mes y luego disminuyó progresivamente. En la rata N° 7, la cual fue negativa durante el primer mes, el porcentaje de positividad de los insectos fue aumentando a través del tiempo y en la rata N° 6, la Positividad era relativamente baja durante el primer mes, aumentó en el segundo y

**TABLA 2 - EVOLUCION PARASITEMICA\* DE LAS RATAS INOCULADAS CON 2X10<sup>5</sup> TRIPO-  
MASTIGOTAS SANGUINEAS ANTES Y DESPUES DE LAS PICADAS DE LOS TRIATOMINOS.  
EXPERIMENTO 2.**

| RATA<br>N.º | DIAS POST INOCULACION |     |     |       |       |       |       |        |        |       |     |    |    |
|-------------|-----------------------|-----|-----|-------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-----|----|----|
|             | 5                     | 7   | 9   | 12    | 14    | 16    | 19    | 21     | 23     | 30    | 35  | 37 | 40 |
| 6           | 0                     | 96  | 144 | 624   | 1 296 | 1 344 | 2 160 | 2 016  | 3 360  | 48    | 3   | 2  | 1  |
| 7           | 0                     | 48  | 336 | 864   | 1 232 | 1 824 | 5 280 | 11 856 | 24 000 | 9 264 | 4   | 1  | 1  |
| 8           | 0                     | 96  | 384 | 1 440 | 816   | 384   | 864   | 816    | 1 008  | 1     | 0   | 0  | 0  |
| 9           | 48                    | 192 | 384 | 432   | 720   | 1 056 | 1 248 | 2 448  | 6 288  | 1 584 | 2   | 0  | 0  |
| 10          | 48                    | 288 | 480 | 768   | 3 552 | 3 936 | 6 000 | 2 592  | 6 240  | 5 616 | 864 | 9  | 0  |

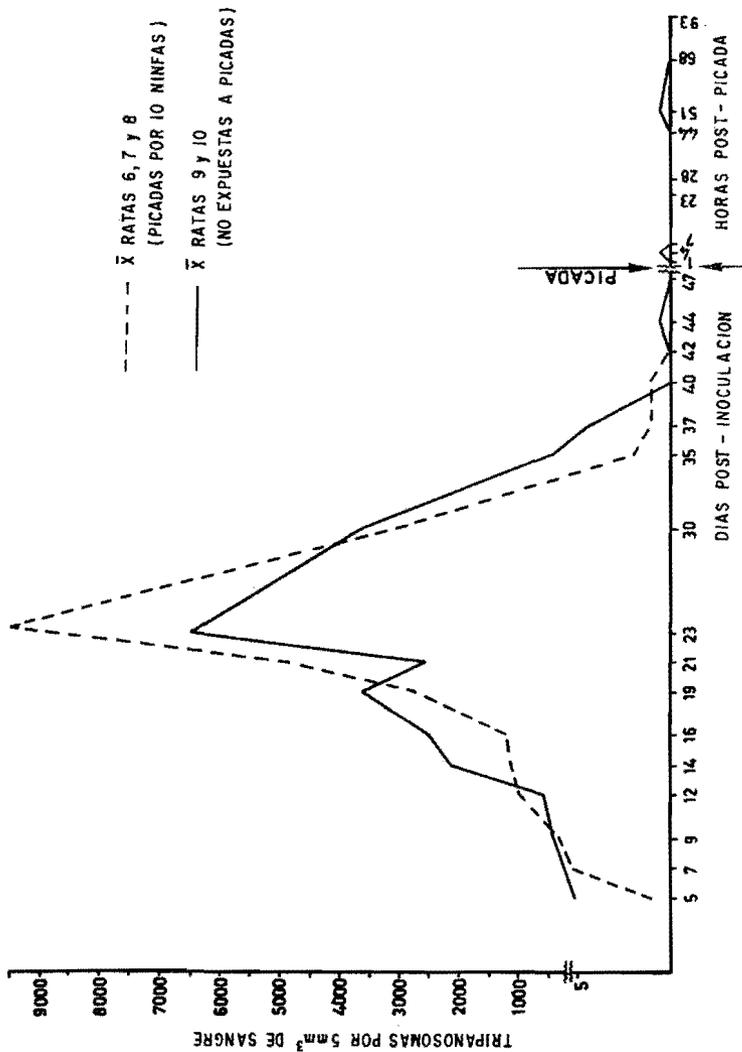
| RATA<br>N.º | DIAS POST INOCULACION |    | N.N | HORAS POST PICADA |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
|-------------|-----------------------|----|-----|-------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
|             | 42                    | 44 |     | 47                | 1 | 4 | 7 | 23 | 28 | 44 | 51 | 68 | 93 |
| 6           | 0                     | 0  | 0   | 10                | 1 | 1 | 0 | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  |
| 7           | 0                     | 0  | 0   | 10                | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 8           | 0                     | 0  | 0   | 10                | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 9           | 0                     | 0  | 0   | 0 <sup>+</sup>    | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 10          | 0                     | 1  | 0   | 0 <sup>+</sup>    | 0 | 1 | 0 | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  |

\* Número de tripanosomas en 5 mm<sup>3</sup> de sangre.

N.N: Número de ninfas.

0<sup>+</sup>: Rata control, no expuesta a picadas.

GRAFICO 2 - EVOLUCION PARASITEMICA DE LAS RATAS INOCULADAS CON  $2 \times 10^5$  TRIPO-  
 MASTIGOTAS SANGUINEOS ANTES Y DESPUES DE LAS PICADAS DE LOS TRIATOMINOS.  
 EXPERIMENTO 2.



**TABLA 3 - RESULTADOS DE LOS XENODIAGNOSTICOS APLICADOS A RATAS CON INFECCION CRONICA POR *TRYPANOSOMA CRUZI*.**

| RATA Nº | MES     | Triatominos     |    | %     | RATA Nº | MES     | Triatominos     |      | %     |
|---------|---------|-----------------|----|-------|---------|---------|-----------------|------|-------|
|         |         | Total Positivos | %  |       |         |         | Total Positivos | %    |       |
| 1       | primero | 30              | 0  | 0.0   | 6       | primero | 10              | 0    | 0.0   |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 10              | 4    | 40.0  |
|         | segundo | 10              | 0  | 0.0   |         | segundo | 10              | 2    | 20.0  |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 30              | 30   | 100.0 |
| 2       | tercero | 30              | 0  | 0.0   | 7       | tercero | 10              | 3    | 30.0  |
|         |         | 10              | 4  | 40.0  |         |         | 10              | 1    | 10.0  |
|         | primero | 10              | 2  | 20.0  |         | primero | 10              | 1    | 10.0  |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 28              | 0    | 0.0   |
| 3       | segundo | 30              | 2  | 6.7   | 8       | segundo | 10              | 1    | 10.0  |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 10              | 0    | 0.0   |
|         | tercero | 10              | 0  | 0.0   |         | tercero | 10              | 0    | 0.0   |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 30              | 11   | 36.7  |
| 4       | primero | 30              | 30 | 100.0 | 9       | primero | 10              | 10   | 100.0 |
|         |         | 10              | 5  | 50.0  |         |         | 10              | 10   | 100.0 |
|         | segundo | 10              | 8  | 80.0  |         | segundo | 10              | 10   | 100.0 |
|         |         | 10              | 1  | 10.0  |         |         | 30              | 23   | 76.7  |
| 5       | tercero | 30              | 21 | 70.0  | 10      | tercero | 10              | 7    | 70.0  |
|         |         | 10              | 10 | 100.0 |         |         | 10              | 5    | 50.0  |
|         | primero | 10              | 4  | 40.0  |         | primero | 10              | 6    | 60.0  |
|         |         | 10              | 9  | 90.0  |         |         | 29              | 1    | 3.4   |
| 6       | segundo | 30              | 12 | 40.0  | TOTAL   | segundo | 10              | 1    | 10.0  |
|         |         | 10              | 2  | 20.0  |         |         | 10              | 0    | 0.0   |
|         | tercero | 10              | 1  | 10.0  |         | 10      | 1               | 10.0 |       |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         | 10      | 0               | 0.0  |       |
| 7       | primero | 29              | 0  | 0.0   | TOTAL   | primero | 10              | 0    | 0.0   |
|         |         | 9               | 0  | 0.0   |         |         | 10              | 0    | 0.0   |
|         | segundo | 10              | 1  | 10.0  |         | segundo | 10              | 0    | 0.0   |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 29              | 3    | 10.3  |
| 8       | tercero | 30              | 0  | 0.0   | TOTAL   | tercero | 10              | 0    | 0.0   |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         |         | 10              | 0    | 0.0   |
|         | primero | 10              | 0  | 0.0   |         | 10      | 0               | 0.0  |       |
|         |         | 10              | 0  | 0.0   |         | 864     | 242             | 28.0 |       |

% : Porcentaje de positividad

disminuyó nuevamente en el tercero. Los resultados con xenodiagnósticos seriados también fueron muy variables y nunca se observaron aumentos progresivos del porcentaje de triatominos positivos.

Durante la realización de la segunda etapa se hicieron algunas observaciones en relación a:

**Mortalidad:** De los 870 triatominos utilizados, 6 (0.7%) murieron antes del primer examen a los 30 días. Estas 6 ninfas no pudieron ser examinadas debido a la imposibilidad de obtener material intestinal, ya que estaban desecadas. De los restantes 864 triatominos, 127 (14.7%) murieron después del primer examen y antes de completar 45 días, por lo tanto estos insectos solamente fueron examinados dos veces y 434 (50.2%) murieron después del segundo examen y antes de llegar a los 60 días, siendo examinados tres veces.

La rata N° 9, que murió después del xenodiagnóstico seriado practicado en el segundo mes, solamente recibió aplicaciones de xenodiagnóstico durante dos meses.

### *Positividad del Xenodiagnóstico en relación al tiempo*

|   |     |         |
|---|-----|---------|
| Triatominos utilizados . . . . .        | 870 |         |
| Triatominos examinados . . . . .        | 864 | (99,3%) |
| Triatominos Positivos . . . . .         | 242 | (28.0%) |
| Positivos al primer examen . . . . .    | 228 | (94.2%) |
| Positivaron al segundo examen . . . . . | 14  | ( 5.8%) |
| Positivaron al tercer examen . . . . .  | 0   | ( 0.0%) |

De modo que, de los 242 triatominos que se infectaron, 94.2% fueron positivos a los 30 días y la totalidad a los 45 días. Ninguno de los triatominos negativos hasta el 45° día se hizo positivo al tercer examen. Por otro lado, todos los insectos positivos hasta el 45° día continuaron positivos para el tercer examen.

*Tipo de Xenodiagnóstico:* Con los datos de la Tabla 3 fue elaborada la Tabla 4, con la finalidad de comparar el rendimiento del xenodiagnóstico único (30 ninfas de una sola vez) con el del xenodiagnóstico seriado (10 ninfas cada día durante tres días consecutivos). Debido a las variaciones mencionadas, no se observó ninguna tendencia a favor de uno u otro tipo de xenodiagnóstico. Con las ratas 3, 6 y 10 se obtuvieron porcentajes de positividad más elevados utilizando el xenodiagnóstico único, mientras que en las ratas 5 y 9, la positividad fue mayor con el xenodiagnóstico seriado. En las ratas 2, 4 y 8 el xenodiagnóstico único mostró porcentajes de positividad más elevados en el primer mes y más bajos en el tercero, en relación a la aplicación única realizada en el segundo mes y en la rata 7, el xenodiagnóstico practicado con 30 ninfas de una sola vez mostró positividad más baja en el primer mes y más alta en el tercero.

**TABLA 4 - RESULTADOS DE LOS XENODIAGNOSTICOS UNICOS\* Y SERIADOS\*\* Y TRIATOMINOS A RATAS INOCULADAS CON 10<sup>5</sup> TRIPOMASTIGOTAS SANGUINEOS DE T. CRUZI.**

| RATA<br>Nº | Tipo<br>de<br>xeno | Triatominos |             | RATA<br>Nº | Tipo<br>de<br>xeno | Triatominos |             |      |
|------------|--------------------|-------------|-------------|------------|--------------------|-------------|-------------|------|
|            |                    | Total       | Positivos % |            |                    | Total       | Positivos % |      |
| 1          | único              | 30          | 0           | 6          | seriado            | 30          | 6           |      |
|            | seriado            | 30          | 0           |            | único              | 30          | 30          |      |
|            | único              | 30          | 0           |            | seriado            | 30          | 5           |      |
| 2          | seriado            | 30          | 6           | 7          | único              | 28          | 0           |      |
|            | único              | 30          | 2           |            | seriado            | 30          | 1           |      |
|            | seriado            | 30          | 0           |            | único              | 30          | 11          |      |
| 3          | único              | 30          | 30          | 8          | seriado            | 30          | 30          |      |
|            | seriado            | 30          | 14          |            | único              | 30          | 23          |      |
|            | único              | 30          | 21          |            | seriado            | 30          | 18          |      |
| 4          | seriado            | 30          | 23          | 9          | único              | 29          | 1           |      |
|            | único              | 30          | 12          |            | seriado            | 30          | 2           |      |
|            | seriado            | 30          | 3           |            | único              | -           | -           |      |
| 5          | único              | 29          | 0           | 10         | seriado            | 30          | 0           |      |
|            | seriado            | 29          | 1           |            | único              | 29          | 3           |      |
|            | único              | 30          | 0           |            | seriado            | 30          | 0           |      |
|            |                    | T O T A L   |             |            |                    | 864         | 242         | 28.0 |

\* Único: 30 ninfas de una sola vez.

\*\* Seriado: 10 ninfas cada día por 3 días consecutivos.

**Cantidad de Sangre ingerida:** Para considerar este aspecto, no fueron tomados en cuenta los 90 triatominos utilizados en los xenodiagnósticos practicados a la rata N° 1. El hecho de todas las ninfas haber resultado negativas, podría interferir en la interpretación de la correlación entre la cantidad de sangre ingerida y el porcentaje de triatominos positivos. En las restantes 9 ratas se utilizaron 774 ninfas, las cuales ingerieron un total de 25.5 gr de sangre, con un promedio de 33 mg por ninfa, resultando positivas 242 (31.3%).

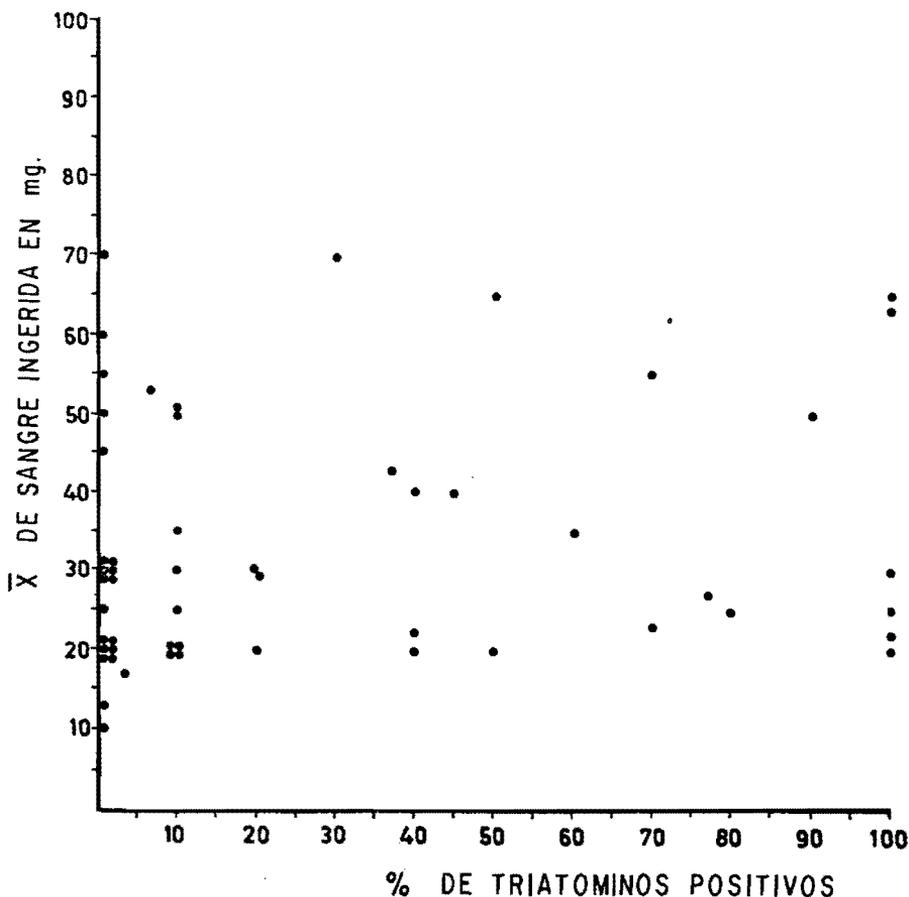
Los resultados son presentados en la Tabla 5 y en Gráfico 3. Se observó que la cantidad promedio de sangre ingerida por ninfa varió entre

**TABLA 5 - CANTIDAD DE SANGRE INGERIDA, NUMERO DE TRIATOMINOS POSITIVOS Y NUMERO DE TRIATOMINOS QUE MUDARON.**

| RATA | Total | mg.sangre ingerida |    | Triatom Positivos |       | Triatom que mudaron |       | RATA | Total | mg.sangre ingerida |        | Triatom Positivos |       | Triatom que mudaron |       |      |
|------|-------|--------------------|----|-------------------|-------|---------------------|-------|------|-------|--------------------|--------|-------------------|-------|---------------------|-------|------|
|      |       | Total              | X  | Nº                | %     | Nº                  | %     |      |       | Nº                 | X      | Nº                | %     | Nº                  | %     |      |
|      | 10    | 400                | 40 | 4                 | 40.0  | 5                   | 50.0  |      | 10    | 100                | 10     | 0                 | 0.0   | 2                   | 20.0  |      |
|      | 10    | 300                | 30 | 2                 | 20.0  | 8                   | 80.0  |      | 10    | 200                | 20     | 4                 | 40.0  | 3                   | 30.0  |      |
|      | 10    | 550                | 55 | 0                 | 0.0   | 6                   | 60.0  |      | 10    | 200                | 20     | 2                 | 20.0  | 3                   | 30.0  |      |
| 2    | 30    | 1 600              | 53 | 2                 | 6.7   | 15                  | 50.0  | 6    | 30    | 650                | 22     | 30                | 100.0 | 24                  | 80.0  |      |
|      | 10    | 200                | 20 | 0                 | 0.0   | 10                  | 100.0 |      | 10    | 700                | 70     | 3                 | 30.0  | 8                   | 80.0  |      |
|      | 10    | 200                | 20 | 0                 | 0.0   | 7                   | 70.0  |      | 10    | 500                | 50     | 1                 | 10.0  | 8                   | 80.0  |      |
|      | 10    | 200                | 20 | 0                 | 0.0   | 8                   | 80.0  |      | 10    | 500                | 50     | 1                 | 10.0  | 5                   | 50.0  |      |
|      | 30    | 1 900              | 63 | 30                | 100.0 | 14                  | 46.7  |      | 28    | 600                | 20     | 0                 | 0.0   | 22                  | 78.6  |      |
|      | 10    | 200                | 20 | 5                 | 50.0  | 6                   | 60.0  |      | 10    | 350                | 35     | 1                 | 10.0  | 10                  | 100.0 |      |
| 3    | 10    | 250                | 25 | 8                 | 80.0  | 9                   | 90.0  | 7    | 10    | 300                | 30     | 0                 | 0.0   | 8                   | 80.0  |      |
|      | 10    | 200                | 20 | 1                 | 10.0  | 5                   | 50.0  |      | 10    | 300                | 30     | 0                 | 0.0   | 8                   | 80.0  |      |
|      | 30    | 700                | 23 | 21                | 70.0  | 23                  | 76.7  |      | 30    | 1 300              | 43     | 11                | 36.7  | 20                  | 66.7  |      |
|      | 10    | 650                | 65 | 10                | 100.0 | 4                   | 40.0  |      | 10    | 300                | 30     | 10                | 100.0 | 10                  | 100.0 |      |
|      | 10    | 450                | 45 | 4                 | 40.0  | 2                   | 20.0  |      | 10    | 250                | 25     | 10                | 100.0 | 9                   | 90.0  |      |
|      | 10    | 500                | 50 | 9                 | 90.0  | 3                   | 30.0  |      | 10    | 200                | 20     | 10                | 100.0 | 8                   | 80.0  |      |
| 4    | 30    | 650                | 22 | 12                | 40.0  | 22                  | 73.3  | 8    | 30    | 800                | 27     | 23                | 76.7  | 25                  | 83.3  |      |
|      | 10    | 300                | 30 | 2                 | 20.0  | 7                   | 70.0  |      | 10    | 550                | 55     | 7                 | 70.0  | 5                   | 50.0  |      |
|      | 10    | 200                | 20 | 1                 | 10.0  | 9                   | 90.0  |      | 10    | 650                | 65     | 5                 | 50.0  | 7                   | 70.0  |      |
|      | 10    | 300                | 30 | 0                 | 0.0   | 9                   | 90.0  |      | 10    | 350                | 35     | 6                 | 60.0  | 7                   | 70.0  |      |
|      | 29    | 400                | 13 | 0                 | 0.0   | 11                  | 37.9  |      | 29    | 500                | 17     | 1                 | 3.4   | 23                  | 79.3  |      |
|      | 9     | 250                | 25 | 0                 | 0.0   | 7                   | 77.8  |      | 10    | 250                | 25     | 1                 | 10.0  | 6                   | 60.0  |      |
| 5    | 10    | 300                | 30 | 1                 | 10.0  | 6                   | 60.0  | 9    | 10    | 300                | 30     | 0                 | 0.0   | 5                   | 50.0  |      |
|      | 10    | 300                | 30 | 0                 | 0.0   | 6                   | 60.0  |      | 10    | 250                | 25     | 1                 | 10.0  | 8                   | 80.0  |      |
|      | 30    | 1 350              | 45 | 0                 | 0.0   | 19                  | 63.0  |      | 10    | 300                | 30     | 0                 | 0.0   | 9                   | 90.0  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | 10    | 200                | 20     | 0                 | 0.0   | 6                   | 60.0  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | 10    | 200                | 20     | 0                 | 0.0   | 9                   | 90.0  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | 29    | 600                | 20     | 3                 | 10.3  | 21                  | 72.4  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | 10    | 700                | 70     | 0                 | 0.0   | 8                   | 80.0  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | 10    | 500                | 50     | 0                 | 0.0   | 6                   | 60.0  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | 10    | 600                | 60     | 0                 | 0.0   | 6                   | 60.0  |      |
|      |       |                    |    |                   |       |                     |       |      | TOTAL | 774                | 25 500 | 33                | 242   | 31.3                | 522   | 67.4 |

Triatom : Triatominos  
 Nº : Número  
 X̄ : Promedio  
 % : Porcentaje

GRAFICO 3 - CANTIDAD PROMEDIO DE SANGRE INGERIDA POR LOS TRIATOMINOS Y PORCENTAJE DE TRIATOMINOS POSITIVOS.



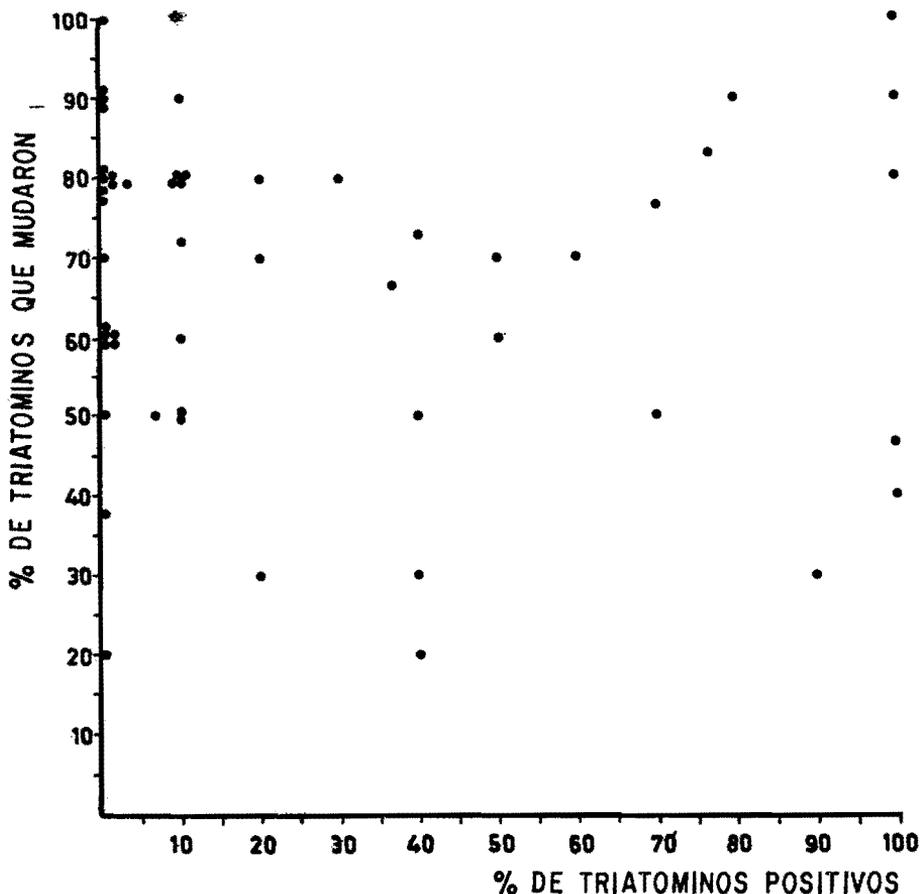
un mínimo de 10 mg y un máximo de 70 mg. El Coeficiente de Correlación lineal de Pearson entre las dos variables fue de 0.16 a un nivel de  $P > 0.05$ .

*Ecdise Ninfal:* En este caso tampoco fueron consideradas las ninfas utilizadas en los xenodiagnósticos practicados a la rata N° 1, por el motivo ya mencionado. De los 774 triatomines, 522 (67.4%) sufrieron mu-

da. En todos ellos, la muda siempre se produjo antes de los 30 días después de la alimentación infectante.

Los resultados se presentan en la Tabla 5 y en el Gráfico 4. El porcentaje de muda varió entre un mínimo de 20% y un máximo de 100%. El Coeficiente de Correlación lineal de Pearson entre el porcentaje de muda y el porcentaje de ninfas positivas fue de  $-0.03$  a un nivel de  $P > 0.05$ .

GRAFICO 4 - PORCENTAJE DE TRIATOMINOS QUE SUFRIERON MUDA Y PORCENTAJE DE TRIATOMINOS POSITIVOS.



*Examen por Compresión y por Disección:* De los insectos utilizados en la primera etapa, 65 continuaban vivos a los 90 días después de la alimentación infectante. De ellos, 36 fueron positivos tanto por compresión como por disección, 8 fueron negativos por ambas técnicas, mientras que 21 triatominos negativos por compresión resultaron positivos a la disección y ningún insecto negativo por disección fue positivo por compresión (Tabla 6).

A estos datos se aplicó el test de Mc Nemar con los siguientes resultados:  $X^2 = 21$ ;  $X^2$  crítico = 10.83;  $P > 0.001$ ; proporción de concordancias: 67.69%; proporción de discordancias: 32.31%; probabilidad de la compresión ser positiva y la disección negativa: 0.0%; probabilidad de la compresión ser negativa y la disección positiva: 32.31%.

**TABLA 6 - RESULTADOS DEL EXAMEN DE LOS TRIATOMINOS\* POR LOS METODOS DE COMPRESION Y DISECCION.**

| Compresión \ Disección | Positivos | Negativos | Total |
|------------------------|-----------|-----------|-------|
|                        | Positivos | 36        | 0     |
| Negativos              | 21        | 8         | 29    |
| Total                  | 57        | 8         | 65    |

\* Triatominos utilizados en la primera etapa del estudio.

## DISCUSION

En el presente trabajo se utilizó la cepa "Boa Vista" de *T. cruzi*, debido a sus características biológicas que permitieron su adaptación al modelo experimental. De estas características se citan, entre otras: buena adaptación a la rata, baja virulencia que permite la fácil obtención de infecciones crónicas (la mortalidad del huésped vertebrado durante la fase aguda es prácticamente nula) y producción de infecciones con predominio de formas anchas (Takeda, G.K.F. información personal), teóricamente más infectantes para el triatomino (56).

Las ratas "Wistar" fueron seleccionadas por ser animales de fácil mantenimiento y por alcanzar tamaños relativamente grandes durante la fase adulta, lo que permite practicar xenodiagnósticos con elevado número de ninfas.

*Triatoma brasiliensis santinacensis* es un triatomino fácil de criar y que se alimenta bien con la sangre de animales de laboratorio. Su biología fue bien estudiada por Cerqueira, 1983 (18) y su sensibilidad para la cepa "Boa Vista" de *T. cruzi* fue demostrada por los estudios de Takeda y col., 1982 (80).

Como uno de los objetivos del trabajo era investigar el efecto de la picada del triatomino en la parasitemia del huésped vertebrado y como no se tenía una idea del momento en que podría ser detectado este eventual efecto, los exámenes de sangre de los animales, después de expuestos a la primera picada, fueron realizados cada hora durante las primeras 24 horas. Como no se detectó ningún efecto durante ese período y tampoco variaciones cíclicas durante el día, los exámenes de sangre en el resto de los experimentos de la primera etapa se practicaron dos veces por día.

La gran cantidad de exámenes que se practicaron en períodos cortos de tiempo pudieran haber afectado los resultados del primer experimento. Por eso, se realizó un segundo experimento en el cual se redujo considerablemente el número de exámenes, lo cual permitió estudiar el material más minuciosamente y por lo tanto, obtener resultados más seguros. Las ratas fueron picadas solamente por 10 ninfas, ya que en el primer experimento no fueron observadas diferencias en los resultados obtenidos con 10 o con 20 ninfas.

En este segundo experimento, las ratas fueron infectadas con un inóculo mayor con la finalidad de obtener infecciones subpatentes en un período corto; esta limitación de tiempo fue impuesta por la proximidad de la segunda etapa del estudio. Efectivamente, los animales inoculados con  $2 \times 10^5$  tripomastigotas presentaron parasitemia mayor y

período prepatente más corto que los del primer experimento que habían sido inoculados con  $10^5$  tripomastigotas. El comportamiento diferente de la infección ante un inóculo mayor ya había sido observado por Romaña y Terracini, 1945 (66), quienes trabajando con ratones observaron que cuanto mayor es el número de tripanosomas inoculados, menor es el período prepatente, mayor la parasitemia durante la fase aguda y mayor también la mortalidad.

Después de la primera picada de los triatominos, se observaron variaciones en la parasitemia de hora para hora y de día para día. Estas variaciones ocurrieron tanto en las ratas picadas por los insectos como en la rata control, lo que nos permite sospechar que las variaciones no fueron debidas al efecto de la picada, sino a un comportamiento natural de la infección en las ratas.

Tampoco se observó ningún efecto mediante la aplicación de la segunda picada en el 63° día de la infección; inclusive, 75 horas después de la picada la parasitemia había dejado de ser patente en todos los animales.

Durante el segundo experimento, la parasitemia cayó para niveles muy bajos alrededor del 40° día y dejó de ser patente el día 44 después de la inoculación. Las ratas fueron sometidas, el 47° día de la infección, a las picadas de los triatominos, no siendo posible provocar el resurgimiento de tripanosomas en sangre.

A pesar de no haber efectuado estudios comparativos, es interesante comentar la diferencia observada entre el examen de sangre por el método clásico de Brener y el examen de la totalidad de la muestra. Examinando toda la laminilla se detectan, con mayor fidelidad, niveles parasitémicos bajos, mientras que examinando 100 campos, como lo preconiza Brener, se pueden obtener falsos resultados negativos.

La segunda etapa del estudio se llevó a cabo con la finalidad de evidenciar algún efecto de la picada de los insectos a nivel sub-microscópico, prácticamente imposible de ser detectado por el examen directo de sangre. Para eso, se practicaron xenodiagnósticos seriados, metodología teóricamente más sensible (36, 73).

Durante esta etapa no se detectaron aumentos en la parasitemia mediante la aplicación de xenodiagnósticos seriados en días consecutivos. Lo que se observó fue gran variación en el porcentaje de triatominos positivos de día para día, de mes para mes y sobre todo de rata para rata; inclusive, una de las ratas nunca presentó xenodiagnósticos positivos. Estos resultados coinciden con las observaciones de Cancado y col., 1973 (12), quienes practicaron xenodiagnósticos mensuales durante 3 años a chagásicos crónicos, verificando que la positividad era muy varia-

ble entre los diferentes pacientes. Unos exhibieron 100% de positividad, otros mostraron grados menores de positividad, existiendo hasta los que nunca presentaron xenodiagnósticos positivos. Esta variabilidad, según los autores, fue debida a la existencia de diferentes niveles parasitémicos.

A pesar de que en el presente trabajo se utilizó un triatomo (*Triatoma brasiliensis santinacensis*) de demostrada sensibilidad para la cepa "Boa Vista" de *T. cruzi* (80), se debe resaltar que la aplicación del xenodiagnóstico pudiera no ser una buena medida de los niveles parasitémicos porque, como se sabe, algunos ejemplares de triatomos pertenecientes a especies habitualmente susceptibles a *T. cruzi* pueden ser refractarios a la infección por ese parásito (57).

Con los resultados obtenidos en el presente estudio no se detectó ningún efecto de la picada de los triatomos en la parasitemia de las ratas, no siendo posible, por lo tanto, desencadenar algún mecanismo que pudiera mejorar el rendimiento del xenodiagnóstico. Se puede pensar, en base a nuestras observaciones, que si existe algún efecto, el mismo no debe ser muy importante en el aumento de la sensibilidad del método.

Durante la realización de este trabajo, además de investigar el efecto de la picada del triatomo en la parasitemia del huésped vertebrado, fueron hechas observaciones sobre algunas variables importantes en la práctica del xenodiagnóstico.

El examen de los triatomos por compresión abdominal parece inducir mortalidad, ya que en el presente trabajo 14.7% de los insectos murieron después de una compresión y 50.2% murieron después de la segunda compresión, mientras que solamente 0.7% de los triatomos murieron antes del primer examen a los 30 días.

La positividad de los triatomos utilizados para el xenodiagnóstico, en relación al tiempo de xenocultivo, ha sido objeto de numerosos estudios. En la literatura, los datos son muy variados y los resultados parecen depender mucho de la especie de triatomo que se utiliza y de la cepa de *T. cruzi* responsable de la infección. Forattini y col, 1976 (32), reportaron positividad más precoz para *R. neglectus* cuando comparado con *T. infestans* en el diagnóstico de la infección crónica de marsupiales naturalmente infectados. Schenone y col., 1968 (72), utilizando *T. infestans*, obtuvieron un aumento de positividad de 23% cuando examinaron nuevamente los triatomos a los 60 días y un examen a los 90 días contribuyó con otro 7.8% de positividad. Por otro lado, Dias y col., 1980 (28), obtuvieron 20% de positividad en los xenodiagnósticos practicados a 50 chagásicos crónicos; de los triatomos negativos a los 30 días, solamente uno se hizo positivo a los 60 días, no aumentando la sensibilidad del xenodiagnóstico.

Los resultados de nuestro trabajo mostraron que más del 90% de los insectos que se infectaron fueron positivos cuando se examinaron a los 30 días y la totalidad hasta los 45 días, de tal forma que ninguno de los triatominos negativos se hizo positivo para el tercer examen.

En este trabajo no se cuantificó el número de formas evolutivas del parásito en las heces de los triatominos en los diferentes días en que fueron examinados, pero lo que si se observó fue que todos los triatominos positivos hasta el día 45 después de la alimentación infectante continuaban positivos para el tercer examen, coincidiendo con el concepto ampliamente difundido de la persistencia de la infección del insecto a lo largo del tiempo. Szekely y col., 1971 (79), observaron una disminución del índice de infección de triatominos a los 90 días cuando se comparó con el examen practicado a los 30 días. Schenone y col., 1977 (74), trabajando con *T. infestans* y practicando el examen a los 30, 60, 90 y 120 días después de la alimentación infectante, observaron que algunos triatominos positivos en el primer examen, fueron negativos en el segundo y nuevamente positivos en exámenes posteriores.

Es importante resaltar que en la segunda etapa del estudio el porcentaje general de triatominos positivos resultó relativamente bajo (28%). Esta baja positividad puede ser interpretada como indicadora de una baja parasitemia de las ratas, sobre todo cuando se compara con el porcentaje general de positividad obtenido en los triatominos utilizados durante la primera etapa, en la cual 57 de 65 triatominos (87.7%) resultaron positivos (Tabla 6), mostrándose de esta forma la buena sensibilidad de *Triatoma brasiliensis santinacensis* para la cepa "Boa Vista" de *Trypanosoma cruzi*.

Los datos de la literatura son variados en relación a las metodologías empleadas y a los resultados obtenidos en la práctica del xenodiagnóstico. Los pocos estudios con xenodiagnósticos seriados han mostrado, aparentemente, mejores resultados que los estudios hechos con xenodiagnósticos únicos, sin embargo, no se han realizado trabajos comparando ambas metodologías. Cerisola y col., 1974 (17), obtuvieron alrededor de 50% de positividad utilizando 40 ninfas de una sola vez. Schenone y col., 1974 (73), observaron hasta 67.1% de positividad utilizando 14 ninfas cada día durante tres días consecutivos. Goldsmith y col., 1979 (36), trabajando con *R. prolixus* y monos chagásicos crónicos, mostraron un aumento en la positividad del método practicando xenodiagnósticos seriados en días sucesivos; esa mejoría fue atribuida a un aumento en la parasitemia, inducido por algún factor estimulante (anestésico, el propio traumatismo del xenodiagnóstico, etc.) que alteró la relación huésped-parásito. Según los resultados presentados en la Tabla 4,

no se observó ninguna tendencia a favor de los xenodiagnósticos únicos o seriados. La amplia variación de la parasitemia de un día para otro, de mes para mes y de rata para rata parece haber afectado mucho nuestros resultados, ya que como fue observado, en las ratas 3, 6 y 10 el xenodiagnóstico único fue mejor, en las ratas 5 y 9 el seriado fue superior, mientras que en los demás animales los resultados variaron a través del tiempo.

Como se demostró en el Gráfico 3, no hubo correlación entre la cantidad promedio de sangre ingerida y el porcentaje de triatominos positivos. Resultados divergentes se han reportado en la literatura. Almeida y col., 1973 (2), Pifano y col., 1973 (61), Minter y col., 1977 (48), 1978 (49), han encontrado mayor positividad en los insectos que ingieren mayor cantidad de sangre, mientras que Miles y col., 1975 (47), no encontraron correlación entre la cantidad de sangre ingerida y la posterior infección de los vectores por *T. cruzi*.

Según los datos representados en Gráfico 4, tampoco hubo correlación entre el porcentaje de ninfas que mudaron y el porcentaje de triatominos positivos. Estos resultados difieren de los obtenidos por Minter y col., 1977 (48), quienes utilizaron varias especies de triatominos en los xenodiagnósticos practicados a 29 pacientes, 6 marsupiales, 15 ratones y un mono, todos con infección crónica, encontrando correlación entre ecdise de las ninfas e infección rectal por *T. cruzi*.

En la Tabla 6 se mostró que el examen de los triatominos por disección fue significativamente superior al examen por compresión en el diagnóstico de la infección de las ratas. Resultados semejantes han sido reportados por Guedes y col., 1952 (38) y por Forattini y col., 1976 (32). Sinembargo, Dias y col., 1980 (28), no encontraron diferencias entre los exámenes de los insectos por compresión o disección en los xenodiagnósticos practicados a 50 chagásicos crónicos.

## CONCLUSIONES

1. No se detectó ningún efecto de la picada de los triatominos en la parasitemia del huésped vertebrado, por lo tanto, mediante este procedimiento no fue posible mejorar el rendimiento del xenodiagnóstico. Se puede deducir de nuestras observaciones que, si existe algún efecto de la picada, el mismo no debe ser importante en la mejoría de la sensibilidad del método.

2. El examen por compresión abdominal, inclusive cuando se hace con mucho cuidado, parece provocar mortalidad de los triatominos.

3. La totalidad de los resultados positivos se observaron al examinar los triatomíneos entre 30 y 45 días después de aplicado el xenodiagnóstico.

4. No se observó ninguna tendencia en los resultados obtenidos con xenodiagnósticos únicos o seriados.

5. No hubo correlación entre la cantidad de sangre ingerida y el porcentaje de triatomíneos positivos.

6. No hubo correlación entre el porcentaje de ninfas que mudaron y el porcentaje de triatomíneos positivos.

7. El examen de los triatomíneos por disección fue significativamente superior al examen por compresión.

En base a las observaciones hechas se puede sugerir que los triatomíneos utilizados en el xenodiagnóstico sean examinados por disección en un período de 30 a 45 días. Esta metodología reduce el número de exámenes, resultando práctica y económica.

#### LITERATURA CITADA

1. ALBUQUERQUE, R. D. R.; FERNANDEZ, L. A. R.; FUNAYAMA, G. K.; FERRIOLI FILHO, F.; SIQUEIRA, A. F.: Hemoculturas seriadas com o meio de Warren em pacientes com reacao de Guerreiro-Machado positiva. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 14: 1-5, 1972.

2. ALMEIDA, S. P.; MILES, M. A.; MARSDEN, P. D.: Verificacao da suscetibilidade a infeccao por *Trypanosoma cruzi* dos estagios evolutivos de *Rhodnius neglectus*. *Revista Brasileira de Biologia*, 33: 43-52, 1973.

3. ALMEIDA, H. O.; TAFURI, W. L.; BOGLIOLO, L.; CUNHA, J. C.: Parasitismo incomum do miocardio e do esofago em chagásico cronico portador da Doenca de Hodgkin em uso de imunossupressores. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 8: 117-21, 1974.

4. ALVARENGA, N. J.; LEITE, M. A. B.: Injection of *Trypanosoma cruzi* into the gut of triatomine bugs: number required to infect the vector. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76: 708-9, 1982.

5. BARRETO, A. C.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C.; ALVARENGA, N. J.: Estudo preliminar sobre o emprego de *Dipetalogaster maximus* na técnica do xenodiagnóstico em forma cronica da doenca de Chagas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 20: 183-9, 1978.

6. BRENER, Z.: Therapeutic actity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 4: 389-96, 1962.

7. BRENER, Z.; CHIARI, E.: The effects of some immunossupressive agents in experimental chronic Chagas' disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 65: 629-36, 1971.

8. BRENER, Z.: O parasito: relacoes hospedeiro-parasito. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. *Trypanosoma cruzi e Doenca de Chagas*. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1979. p. 1-41.
9. BRONFEN, E.; DIAS, J. C. P.; ROCHA, F. S. A.: Early examination of xenodiagnosis as an alternative to improve efficiency of this method on chronic Chagas' disease. In: Reuniao Anual sobre Pesquisa Bsica em Doenca de Chagas, 8., Caxambú, 1981. RESUMENES, p. 58.
10. BRUMPT, E.: O xenodiagnóstico. Aplicacao ao diagnóstico de algumas infeccoes parasitarias e em particular a Tripanosomose de Chagas. *Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia*, 3: 97-102, 1914.
11. CAMARGO, M. E.; TAKEDA, G. K. F.: Diagnóstico de laboratório. In: *Trypanosoma cruzi e Doenca de Chagas*. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1979. p. 175-98.
12. CANCADO, J. R.; MARRA, U. D.; MOURAO, O. G.; ALVARES, J. M.; MENDEZ, J. P.; MACHADO, J. R.; SALGADO, A. A.: Bases para a avaliacao do tratamento especifico da doenca de Chagas humana segundo a parasitemia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 7: 155-66, 1973.
13. CASTANHO, M. L. S.; CERQUEIRA, R. L.; FORONDA, A. S.; TAKE-DA, G. K. F.: Estudos sobre a sensibilidade de Triatomíneos a infeccao por *Trypanosoma cruzi*. II. *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius neglectus*. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 19, Rio de Janeiro, 1983. p. 29-30.
14. CEDILLOS, R. A.; HUBSH, R.; TONN, R. J.; ESCALANTE, P.; CARRASQUERO, B.; LIENDO, H.: Comparación de dos métodos de laboratorio para examinar xenodiagnósticos. *Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 92: 49-54, 1982.
15. CEDILLOS, R. A.; TORREALBA, J. W.; MOSCA, W.; ORTEGON, A.: El xenodiagnóstico artificial en la enfermedad de Chagas. *Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 93: 240-9, 1982.
16. CERISOLA, J. A.; ROHWEDDER, R. W.; PRADO, C. E.: Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. *Boletin Chileno de Parasitologia*, 26: 57-8, 1971.
17. CERISOLA, J. A.; ROHWEDDER, R. W.; SEGURA, E. L.; DEL PRADO, C. E.; ALVAREZ, M.; DE MARTINI, G. J. W.: El xenodiagnóstico. *Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas "Dr. Mario Fata-la Chaben"*, Buenos Aires, 1974.
18. CERQUEIRA, R. L.: Estudos sobre populacao de triatomíneos silvestres encontrados em Santo Inacio - Bahia. *Tese de Doutorado - Instituto de Ciencias Biomédicas da Universidade de Sao Paulo*, 1983.
19. CHIARI, E.; BRENER, Z.: Contribuicao ao diagnóstico parasitológico da Doenca de Chagas na sua fase crónica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 8: 134-8, 1966.
20. CHIARI, E.; DIAS, J. C. P.: Nota sobre uma nova técnica de hemocultura para o diagnóstico parasitológico na Doenca de Chagas na sua fase crónica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 9: 133-6, 1975.
21. CUBA-CUBA, C. A.; ALVARENGA, N. J.; BARRETO, A. C.; MARDEN, P. D.; CHIARINI, C.: Nuevos estudios comparativos entre *Dipetalogaster ma-*

ximus y *Triatoma infestans* en el xenodiagnóstico de la infección chagásica crónica humana. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 20: 145-51, 1978.

22. CUBA, C. C.; ALVARENGA, N. J.; BARRETO, A. C.; MARSDEN, P. D.; MACEDO, V.; GAMA, M. P.: *Dipetalogaster maximus* for xenodiagnosis of patients with serologically detectable *Trypanosoma cruzi* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 524-7, 1979.

23. DE ISOLA, E. L.; LAMMEL, E. M.; KATZIN, V. J.; GONZALEZ-CAPPA, S. M.: Influence of organs extracts of *Triatoma infestans* on differentiation of *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Parasitology*, 67: 53-8, 1981.

24. DIAS, E.: Estudos sobre *Schizotrypanum cruzi*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 28: 1-110, 1934.

25. DIAS, E.: Criacao de Triatomíneos no laboratorio. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 33: 407-12, 1938.

26. DIAS, E.: Técnica do xenodiagnóstico na molestia de Chagas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 35: 335-42, 1940.

27. DIAS, E.: Xenodiagnósticos seriados em caes infectados com amostras venezuelanas de *Schizotrypanum cruzi*. *Brasil-Médico*, 54: 859-61, 1940.

28. DIAS, J. C. P.; ARAUJO, M. C.; BRONFEN, E.: Resultados preliminares do xenodiagnóstico a través do método de compressao (30 e 60 dis) frente a dissecao aos 30 dias. In: *Congresso Brasileiro de Parasitologia*. 5., Rio de Janeiro, 1980. RESUMOS, p. 16.

29. DIAZ-UNGRIA, C.; GALLARDO-ZERPA, M.; YEPEZ, M.: Uso de la prueba del chipo en las investigaciones sobre el *Trypanosoma cruzi*. *Revista Ibérica de Parasitología*, 26: 193-202, 1966.

30. DIAZ-UNGRIA, C.; MALDONADO, A. C.: Contribución al diagnóstico de las tripanosomiasis. *Revista Ibérica de Parasitología*, 30: 659-75, 1970.

31. FISTEIN, B.; CHOWDHURY, M. N. H.: *Trypanosoma cruzi*: a suggested adjunct to xenodiagnosis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 74: 251-3, 1980.

32. FORATTINI, O. P.; COTRIM, M. D.; GALATI, E. A. B.; SARZANA, S. B.; CRUZ, C. F.; VAN DINTEREU, N. A. S.; GOTHIEB, S. L. D.: Estudo sobre a utilizacao de *Rhodnius neglectus* para xenodiagnósticos realizados em marsupiais (*Didelphis*). *Revista de Saude Pública*, 10: 335-43, 1976.

33. FREITAS, J. L. P.: Contribuicao para o estudo do xenodiagnóstico da molestia de Chagas por processo de laboratorio. *Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo*, 1974.

34. FREITAS, J. L. P.: Observacoes sobre xenodiagnósticos praticados em reservatórios domésticos e silvestres do *Trypanosoma cruzi* em localidade endêmica da molestia de Chagas. *O Hospital*, 38: 521-9, 1950.

35. FREITAS, J. L. P.; NUSSENZWEIG, V.; AMATO-NETO, A.; SONNTAG, R.: Estudos comparativos entre xenodiagnósticos praticados "in vivo" e "in vitro" em formas crônicas da molestia de Chagas. *O Hospital*, 47: 181-8, 1955.

36. GOLDSMITH, R. S.; ZARATE, R.; LOBO, E.: Enhancement of parasitemia by serial xenodiagnoses on primates chronically infected with Chagas' disease. In: *Congresso Internacional sobre Doença de Chagas*. Rio de Janeiro, 1979. ANAIS, p. 11.

37. GOULD, R. M.; SILVA, G. R.; ROCHA, H.: Repeated xenodiagnosis in chronic Chagas' disease. Effect of a single injection of prednisolona. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 9: 84-9, 1967.

38. GUEDES, A da S.: Determinacao do índice de infeccao de Triatomíneos por *Schizotrypanum cruzi* pelo exame simples de fezes obtidas por expressao e por diseccao do intestino posterior do inseto. Dados comparativos preliminares. *Revista Brasileira de Malariologia e Doencas Tropicais*, 4: 433-6, 1952.
39. HARRINGTON, J. S.: A siple apparatus for the artificial feeding *Rhodnius prolixus*. *Parasitology*, 50: 273-7, 1960.
40. HOARE, C. A.: Studies on *Trypanosoma grayi*. III. Life cicle in the tse-tse fly and in the crocodile. *Parasitology*, 23: 449-84, 1931.
41. MAEKELT, G. A.; ALCANIZ, A. M.: Contribución para el estudio de la parasitemia del *Schizotrypanum cruzi* en el huésped mamífero. *Acta Científica Venezolana*, 6: 137-42, 1960.
42. MAEKELT, G. A.: A modified procedure of xenodiagnosis for Chagas' disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 13: 11-5, 1964.
43. MARSDEN, P. D.; MOTT, K. E.; PRATA, A.: The prevalence of *Trypanosoma cruzi* parasitemia in 8 families in an endemic area. *Gazeta Médica da Bahia*, 69: 65-9, 1969.
44. MARSDEN, P. D.: South American trypanosomiasis. *International Review of Tropical Medicine*, 4: 97-121, 1971.
45. MARTINEZ-SILVA, R.; LOPEZ, V. A.; COLON, J. I.; CHIRIBOGA, J.: Isolation of *Trypanosoma cruzi* from blood of acutely and chronically infected mice in tissue culture. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 18: 878-84, 1969.
46. MAYER, M.; PIFANO, C. F.: Nuevos métodos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Revista Venezolana de Sanidad y Asistencia Social*, 3: 311-6, 1941.
47. MILES, M. A.; PATTERSON, J. W.; MARSDEN, P. D.; MINTER, D. M.: A comparison of *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* in the xenodiagnosis of a chronic *Trypanosoma cruzi* infection in a Rhesus monkey. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 69: 377-82, 1975.
48. MINTER, D. M.; MINTER-GOEDBLOED, E.; FERRO VELA, C.: Quantitative studies with first-instar triatomines in the xenodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* in experimentally and naturally infected hosts. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 530-41, 1977.
49. MINTER, D. M.; MINTER-GOEDBLOED, E.; MARSHALL, T. F. de C.: Comparative xenodiagnosis with three Triatomine species of different hosts with natural and experimental chronic infections with *Trypanosoma cruzi*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 72: 84-91, 1978.
50. MINTER-GOEDBLOED, E.; MINTER, D. M.; MARSHALL, T. F.: Quantitative comparisons between xenodiagnosis and hemoculture in the detection of *Trypanosoma cruzi* in experimental and natural chronic infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 72: 217-25, 1978.
51. MOURAO, O. G.; MELLO, O. C.: Hemocultura para o diagnóstico parasitológico na fase crónica da Doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 9: 183-8, 1975.
52. NEAL, R. A.; MILES, R. A.: The number of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* required to infect *Rhodnius prolixus*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 19: 171-81, 1977.

53. NEAL, R. A.; MILES, R. A.: Sensibilidade dos métodos de cultura em relação ao xenodiagnóstico para evidenciar infecções experimentais pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 19: 167-70, 1977.
54. NUSSENZWEIG, V.; SONNTAG, R. Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeiros resultados positivos. *Revista Paulista de Medicina*, 40: 41-3, 1952.
55. PATTERSON, J. W.; MILES, M. A.: Trypanosome density in the rectum of *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma cruzi*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 442, 1973.
56. PEREIRA DA SILVA, L. H.: Observações sobre o ciclo evolutivo de *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 1: 99-118, 1959.
57. Phillips, N. R.; BERTRAM, D. S.: Laboratory studies of *Trypanosoma cruzi* infections. *Journal of Medical Entomology*, 4: 168-74, 1967.
58. PIFANO, F. C.: El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas en fase crónica. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnóstico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. *Archivos Venezolanos de Patología Tropical y Parasitología Médica*, 2: 89-120, 1954.
59. PIFANO, F. C.: Evaluación de los procedimientos de laboratorio empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 49: 563-71, 1960.
60. PIFANO, F. C.: La dinámica epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el Valle de Los Naranjos, Estado Carabobo, Venezuela. *Archivos Venezolanos de Patología Tropical y Parasitología Médica*, 5: 31-45, 1973.
61. PIFANO, F.C.; MORREL, J.R.; ORTIZ, M.D.: Estudio comparativo entre *Rhodnius prolixus* y *Triatoma pallidipennis* en la prueba xenodiagnóstica realizada en casos crónicos de enfermedad de Chagas. *Archivos Venezolanos de Patología Tropical y Parasitología Médica*, 5: 85-94, 1973.
62. RASSI, A.; AMATO-NETO, V.; OLIVEIRA, R. L.: Observações sobre a hemocultura em meio L. I. T. para *Trypanosoma cruzi* segundo Mourao e Mello (1975). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 23: 57-60, 1981.
63. REBOSOLAN, J. B.: Sensibilidad de los métodos de diagnóstico parasitológico en pacientes con enfermedad de Chagas aguda tratados con Bay-2502. *Boletín Chileno de Parasitología*, 24: 49-50, 1969.
64. ROHWEDDER, R. W.; DEL PRADO, C. W.; CERISOLA, J. A.; REBOSOLAN, J. B.: Aportes al método de examen del xenodiagnóstico previo licuado de los triatomíneos. *Boletín Chileno de Parasitología*, 25: 106-10, 1970.
65. ROMANA, C.; GIL, J.: Xenodiagnóstico artificial. *Anales del Instituto de Medicina Regional*, 2: 57-60, 1947.
66. ROMANA, C.; TERRACINI, E.: Comportamiento de las infecciones de lauchas por *S. cruzi* según la concentración de parásitos inoculados. *Anales del Instituto de Medicina Regional*, 1: 141-64, 1945.
67. RUBIO, M.: Estudio de los factores que intervienen en la virulencia de una cepa de *Trypanosoma cruzi*. Acción de la cortisona en la capacidad de invasión y multiplicación del parásito. *Biológica*, 20: 89-125, 1954.
68. RYCKAMN, R. E.: Epizootiology of *Trypanosoma cruzi* in South Western North American. Part. I: New collections records host for *Trypanosoma cruzi* Chagas. *Journal of Medical Entomology*, 2: 870-89, 1965.

69. SALGADO, A. A.: Consideraciones sobre metodología y sensibilidad del xenodiagnóstico. *Boletín Chileno de Parasitología*, 24: 9-13, 1969.
70. SALGADO, A. A.; MAYRINK, W.; DIAS, J. C. P.: Estudo comparativo entre a racao de fixacao do complemento com os antígenos benzeno-cloroformado e metílico e o xenodiagnóstico. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 12: 36-40, 1970.
71. SCHENONE, H.; RAMIREZ, H.; REYES, H.; ROJAS, A.; DIAS, L.: Contribución a la epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. Estudio epidemiológico en la provincia de Colchagua. *Boletín Chileno de Parasitología*, 21: 66-9, 1966.
72. SCHENONE, H.; ALFARO, E.; REYES, H.; TAUCHER, E.: Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. *Boletín Chileno de Parasitología*, 23: 149-54, 1968.
73. SCHENONE, H.; ALFARO, E.; ROJAS, A.: Bases y rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica humana. *Boletín Chileno de Parasitología*, 29: 24-6, 1974.
74. SCHENONE, H.; ROJO, M.; ROJAS, A.; CONCHA, L.: Positividad diurna y nocturna del xenodiagnóstico en un paciente con infección chagásica crónica de parasitemia permanente. *Boletín Chileno de Parasitología*, 32: 63-6, 1977.
75. SILVA, I. I.: Sobre la conveniencia de realizar el xenodiagnóstico fuera del organismo en todos los casos. *Revista de la Facultad de Medicina de Tucuman*, 1: 405-15, 1958.
76. SIQUEIRA, F. A.: Diagnóstico parasitológico da molestia de Chagas. In: CANCELADO, J. R. *Doença de Chagas*, Ed. J. R. CANCELADO. Belo Horizonte, 1968. p. 261-78.
77. SOTO, R.; SOTO, S. T. de.: Valor del xenodiagnóstico en la fase crónica de la enfermedad de Chagas. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia*, 1: 23-30, 1968.
78. SOTO, R.: El xenodiagnóstico. Experiencia personal en 100 casos de enfermedad de Chagas crónica. *Kasmera*, 3: 167-225, 1970.
79. SZEKELY, Y. R.; ROJO, M.; REYES, H.: Estudio sobre transmisión directa de *Trypanosoma cruzi* entre ninfas de *Triatoma infestans*. *Boletín Chileno de Parasitología*, 26: 17-9, 1971.
80. TAKEDA, G. K. F.; CASTANHO, M. L. S.; CERQUEIRA, R. L.; FORONDA, A. S.: Estudos sobre a sensibilidade de triatomíneos a infeccao por *Trypanosoma cruzi*. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 18, Riberao Preto, 1982. p. A45.
81. TANURI, A.; PAEZ DE ANDRADE, P.; FERREIRA, A. P.; ALMEIDA, D. F.: Um método para a determinacao da parasitemia na forma crónica da Doença de Chagas. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 18., Riberao Preto, 1982. p. A 23.
82. TORREALBA, J. F.: Algo más sobre tripanosomosis. Ensayos de xenodiagnóstico. *Gaceta Médica de Caracas*, 41: 33-7, 1934.
83. TORREALBA, J. F.: Otros pequeños apuntes de la peste de Chagas en el Distrito Zaraza (Edo. Guárico). *Gaceta Médica de Caracas*, 46: 34-41, 1939.
84. TORRES, M.: Alguns fatos que interessam a epidemiologia da molestia de Chagas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 7: 120-38, 1915.

85. UMEZAWA, E. S.: Isolamento e obtencao do *Trypanosoma cruzi* em cultivos celulares. *Dissertacao de Mestrado Instituto de Ciencias Biomédicas da Universidade de Sao Paulo*, 1980. p. 68.

86. WOOD, D. E.; PIPKIN, A.C.: Multiplication and differentiation of *Trypanosoma cruzi* in an insect cell culture system. *Experimental Parasitology*, 24: 176-83, 1969.

87. WOOD, D. E.; SOUSA, O. E.: *Trypanosoma cruzi*. Effects of *Rhodnius prolixus* extract on in vitro development. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 18: 93-6, 1976.

88. ZELEDON, R.; VIETO, P. L.: Susceptibilidad de varias especies de triatomíneos a una cepa costarricense de *Schizotrypanum cruzi*, Chagas, 1909. *Revista de Biología Tropical*, 5: 195-9, 1957.