

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA EVOLUÇÃO DO *TRYPANOSOMA CRUZI* EM TRIATOMÍNEOS

David Pereira NEVES (1)

RESUMO

O Autor infetou *Triatoma infestans* com *Trypanosoma cruzi* e os colocou em temperaturas diferentes: -5°C , 0°C , 5°C , 10°C , 22°C , 23°C , 28°C e 37°C . Verificou grande influência da temperatura na evolução do protozoário; as temperaturas baixas inibiam a evolução e a alta diminuía a multiplicação. Desde que o protozoário tenha atingido a forma metacíclica numa temperatura média ($23-27^{\circ}\text{C}$) a temperatura baixa não o afeta mais. Associa a interferência da temperatura à modificação do metabolismo do inseto, que é diretamente proporcional à temperatura ambiente.

INTRODUÇÃO

Já é bastante conhecida a influência da temperatura sobre o *Trypanosoma cruzi*, em cultura de tecidos e em animais infetados experimentalmente; WOOD^{13, 14} observou esta influência em insetos naturalmente infetados, em condições norte-americanas.

NEVA⁸ observou em cultura de tecidos a variação da multiplicação e capacidade de invasão do *T. cruzi* quando mantidos em temperaturas diferentes. A inibição aparece a 38°C e 26°C e o estímulo surge na temperatura de 33°C .

TREJOS¹⁰ verificou que o número de parasitas e sua atividade em cultura de tecidos parece ser maior a 26°C do que a 37°C . Na temperatura mais baixa encontrou diversas formas semelhantes a tripanosomas metacíclicos e sugere que poder-se-ia estimular o aparecimento da forma larga do tripanosoma em triatomíneos, mantendo-os infetados a 37°C .

DEANE³, trabalhando com *Trypanosoma conorhini* em meio de cultura (LIT, HLS), em camundongos e ratos verificou que a manutenção da cultura ou dos animais infeta-

dos a $25^{\circ}\text{C}-28^{\circ}\text{C}$ permitia um desenvolvimento normal do protozoário, ao passo que a 37°C não havia desenvolvimento normal ou estes morriam em poucos dias.

KOLODNY⁵, trabalhando com *T. cruzi* em ratos mantidos em temperaturas variadas, verificou que no grupo mantido em temperatura elevada ($32-35^{\circ}\text{C}$) a parasitemia era menor que nos contrôles ($21,5-23,5^{\circ}\text{C}$); no grupo em temperatura baixa ($4,5-7,5^{\circ}\text{C}$) a parasitemia era altíssima provocando a morte dos animais.

TREJOS¹¹ realizando trabalho semelhante, observou parasitemia baixa em camundongos mantidos à 37°C , sem desaparecerem os tripanosomas completamente do sangue. Uma alta parasitemia, com ascensão progressiva até a morte dos animais foi o que observou em camundongos mantidos a 1°C .

DALMA² tentou a terapêutica chagásica humana, através da febre artificial, fazendo contrôles da parasitemia através de xenos sucessivos.

WOOD¹³ fazendo exames de triatomíneos naturalmente infetados verificou que nos me-

(1) Assistente do Departamento de Zoologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. Chefe do Departamento: Prof. Wilson Mayrink

ses frios o número de tripanosomas metacíclicos é reduzido, sendo êles pouco móveis, ocorrendo o inverso no verão. O mesmo Autor, trabalhando com *T. protracta* infetados com *T. cruzi*, verificou que a 22-23°C o número de tripanosomas metacíclicos é pequeno aparecendo êles 12 dias após o repasto infetante; a 28-34°C o número é alto e o aparecimento se dá após 7 dias.

Num estudo exaustivo sobre o *S. cruzi*, DIAS⁴ não aludiu a influência da temperatura na evolução do protozoário no inseto transmissor.

MAYRINK⁷, levando triatomíneos recém-infetados de Belo Horizonte para Ouro Preto, um mês depois não conseguiu encontrar formas metacíclicas nas fezes e sim critídias largas e delgadas, com movimentação lenta. Trazendo os hemípteros para Belo Horizonte, novamente apresentavam formas metacíclicas. Verificou que a temperatura média em Ouro Preto é bem menor que a de Belo Horizonte.

DI PRIMO⁵ encontrou no Rio Grande do Sul *T. infestans*, *P. megistus*, *T. sordida*, etc., habitando regiões variadas, com condições mesológicas diferentes. Observou que no inverno os triatomíneos não exercem o hematofagismo, pois hibernam.

A evolução triatomíneo se faz em melhores condições quando mantidos em ambiente com temperatura variando entre 24-28°C, sendo que tanto a 37°C como a 7°C há inibição da eclosão ou retardamento do desenvolvimento embrionário (PESSOA¹²).

OKASHA⁹ trabalhando com o *R. prolixus* observou que o metabolismo aumentava muito a 36,5°C e diminuía quando mantidos numa temperatura mais baixa e voltava ao normal quando transferidos para 28°C. Verificou que a temperatura baixa dificulta ou inibe a síntese proteica.

MATERIAL E METODOS

Foi usado o *Trypanosoma cruzi* cepa B.H., mantida em camundongos. Escolheu-se esta cepa, pois os camundongos apresentam uma parasitemia alta, facilitando a infecção dos triatomíneos. Os triatomíneos usados eram ninfas de 4.º e 5.º estágios de *T. infestans*, *T. braziliensis*, *P. megistus* e *R. prolixus*, criados neste laboratório e no insetário do

Instituto Nacional de Endemias Rurais. As temperaturas para manutenção dos triatomíneos infetados eram: -5°C, 0°C, 5°C, 10°C, 22°C, 23°C, 28°C e 37°C.

A manutenção do *T. cruzi* em camundongos era feita através de repiques, cada 10 dias, de sangue obtido por punção cardíaca e inoculação intraperitoneal. Para infetarmos os triatomíneos era feita a contagem prévia de tripanosomas pelo método de BRENER¹ e somente eram usados aqueles que apresentavam de 8.560 a 10.700 tripanosomas por mm³ de sangue (4 a 5 tripanosomas para cada campo microscópico de objetiva 40 × e ocular 10 ×); os camundongos eram anestesiados com 0,03 ml de Pentobarbitalsódico, solução 3%, injetado intraperitonealmente e a seguir eram colocados em caixas escuras contendo os triatomíneos numa proporção de 4 para cada camundongo. Depois de uma hora de repasto, eram escolhidos os triatomíneos ingurgitados e separados em grupos de 8 para cada temperatura.

Os grupos mantidos numa temperatura por 40 dias, eram depois transferidos para outra temperatura, onde permaneciam por mais 40 dias.

Os triatomíneos eram examinados com intervalos de 10, 20, 30, 40 e 45 dias. Nas temperaturas de -5°C e 0°C fazíamos o exame a partir do 2.º dia.

O exame dos triatomíneos era feito cortando o último segmento abdominal, retirando o conteúdo e fazendo lâminas à fresco e coradas pelo Giemsa.

RESULTADOS

Tôdas as espécies usadas com exceção do *T. infestans*, morriam depois de alguns dias de permanência à temperatura de 5°C e nas inferiores. Foi usada então somente esta última espécie, proveniente de um lote originário de Minas Gerais e outro do Rio Grande do Sul, não se notando diferença quanto à resistência à baixa temperatura. Foram observadas as seguintes variações na evolução do *T. cruzi*.

a) -5°C — A mortalidade é altíssima nesta temperatura; de 8 triatomíneos apenas 3 resistiram 5 dias; com 10 dias todos pe-

receram. O *T. cruzi* só permaneceu viável em 1 triatomíneo, que apresentou formas metacíclicas depois de transferido para 23-27°C e permanecer aí por 40 dias;

b) 0°C — Nesta temperatura o comportamento dos triatomíneos e dos tripanosomas é muito semelhante ao anterior, com a diferença que resistem até 15-20 dias de permanência nesta temperatura. Aqui também o número de triatomíneos que sobrevivem é pequeno e dentre estes apenas alguns continuam mantendo o parasitismo;

c) 5°C — Os triatomíneos ficam latentes, hibernados: não se movimentam, não digerem o sangue; os tripanosomas não evoluem e vão perecendo gradativamente, restando poucos depois de 35 dias. Neste período apresentam formas anormais bastante largas, piriformes e quando corados pelo Giemsa, o núcleo é raramente visto. Os triatomíneos removidos nestas condições para 23-27°C, 40 dias depois apresentaram tripanosomas metacíclicos;

d) 10°C — Os triatomíneos também não se movimentam e quase não digerem o sangue, fazendo-o lentamente. Somente depois de 30-40 dias contém pequena quantidade de sangue digerido. Quanto ao *T. cruzi*, só foram encontradas formas criticídias largas, pouco móveis, depois de 40 dias. A evolução se deu rapidamente quando os triatomíneos foram transferidos para 23-27°C;

e) 22°C — O comportamento dos triatomíneos é excelente quanto à digestão do sangue e movimentação dentro das caixas. Com 15 dias já encontramos grande quantidade de criticídias delgadas e criticídias largas, ambas muito ativas. Até 30 dias não foi encontrado nenhum tripanosoma metacíclico. Estas formas foram pesquisadas num grupo mantido por 60 dias nesta temperatura, não sendo encontradas. O achado consistia sempre de criticídias, com alta predominância das formas delgadas;

f) 28°C — A digestão do sangue é mais rápida do que na anterior. Com 30 dias foram encontradas tripanosomas metacíclicos e criticídias delgadas muito ativas mas em quantidade menor, mostrando um início de inibição na multiplicação do protozoário;

g) 36°C — Os triatomíneos são muito ativos, inquietos dentro das caixas, digerindo totalmente o sangue em 15 dias. O conteúdo intestinal é pobre em criticídias ou metacíclicos no 15.º, 20.º e no 30.º dias. Muitos deles não se apresentaram parasitados.

Depois de transferidos os triatomíneos de uma temperatura para outra observamos o seguinte:

a) Quando grupos mantidos a -5°C, 0°C, 5°C e 10°C — eram transferidos para 23-27°C, modificava-se o seu comportamento, ocorrendo a continuação da evolução do protozoário até a forma metacíclica depois de 30 dias nesta temperatura;

b) Quando grupos mantidos à 22°C eram transferidos para:

I) 37°C, aumentava a atividade do triatomíneo e diminuía a quantidade de metacíclicos e criticídias;

II) 5°C, os triatomíneos ficavam hibernados, mas a quantidade e a atividade das criticídias e metacíclicos, continuavam as mesmas.

c) Quando grupos mantidos a 37°C, eram transferidos para:

I) 22°C, os triatomíneos passavam a ter um comportamento normal e mantinham a mesma quantidade de parasitas;

II) 5°C, os triatomíneos ficavam hibernados e não era notada modificação na quantidade de criticídias ou metacíclicos. Portanto, a temperatura ótima para a evolução do tripanosoma tinha como limites 23-27°C.

Resumindo — verificamos que até 15°C não há evolução do *T. cruzi*. Nesta temperatura inicia-se o aparecimento de criticídias nas fezes do triatomíneo; a 20-22°C torna-se muito rico; diminui um pouco a quantidade a 23°C, quando, então, aparecem as formas metacíclicas; ambas as formas apresentam quantidade semelhante até a temperatura de 27°C e a 28°C começa a haver um decréscimo da quantidade de formas até o quase desaparecimento a 36-37°C.

Nos Quadros I, II, III e IV estão resumidas as alterações observadas nos triatomíneos, no sangue ingerido e na evolução do *T. cruzi*, quando os insetos eram mantidos a 5, 22, 23, 27 e 37°C.

Nas Figs. 1, 2 e 3 estão representados as formas do protozoário encontradas nos insetos mantidos nas temperaturas de 5, 22 e 36-37°C.

QUADRO I

Triatomíneos mantidos a 5°C

Permanência em dias	Mobilidade dos triatomíneos	Digestão do sangue	Comportamento do <i>T. cruzi</i>
6	-	-	menor quantidade, lentos, sòmente forma tripanosoma
10	-	-	menor quantidade, lentos, sòmente tripanosomas: largas e médias
20	-	-	menor quantidade, ainda lentos, predominância das formas largas
32	-	-	raros tripanosomas, lentos, predominância das formas largas

QUADRO II

Triatomíneos mantidos a 22°C

Permanência em dias	Mobilidade dos triatomíneos	Digestão do sangue	Comportamento do <i>T. cruzi</i>
10	+	+	critídias largas e delgadas, muito móveis
20	+	+	enorme quantidade, critídias delgadas e largas; muito móveis
30	+	++	predominância critídias delgadas sòbre as largas; ambas muito móveis

QUADRO III

Triatomíneos mantidos a 23-27°C

Permanência em dias	Mobilidade dos triatomíneos	Digestão do sangue	Comportamento do <i>T. cruzi</i>
10	+	+	critídias largas e delgadas, muito móveis
20	+	++	triplanosomas metacíclicos, critídias delgadas e largas, muito móveis
30	+	++	predominância de tripanosomas metacíclicos e critídias delgadas, muito móveis

QUADRO IV

Triatomíneos mantidos a 36-37°C

Permanência em dias	Mobilidade dos triatomíneos	Digestão do sangue	Comportamento do <i>T. cruzi</i>
10	++	+	critídias largas e mobilidade normal
20	++	+++	poucas critídias largas e delgadas; mobilidade normal
30	++	nôvo repasto	algumas critídias largas; raras delgadas e metacíclicos; mobilidade normal

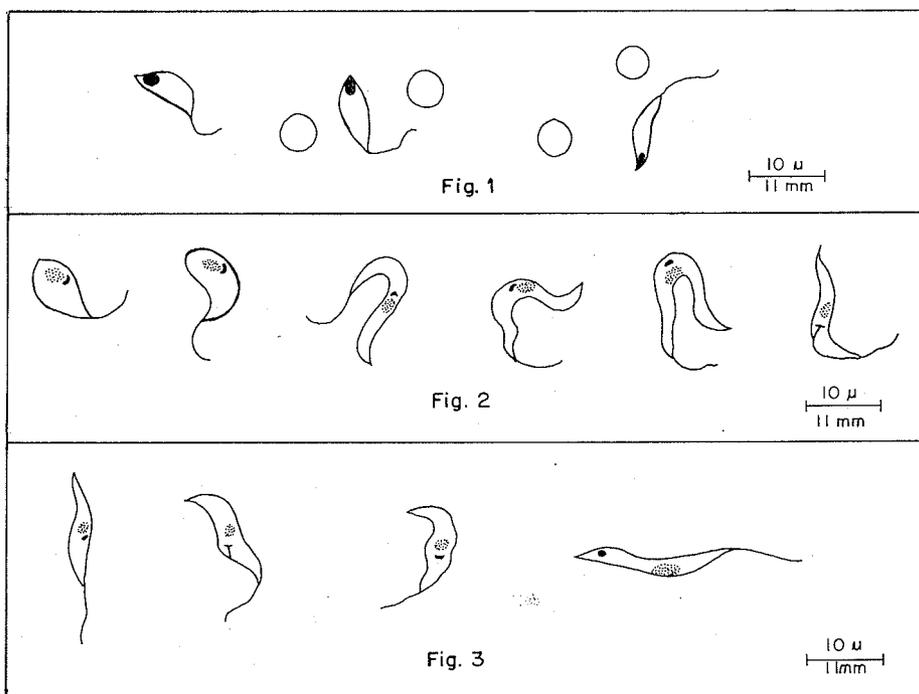


Fig. 1 — Formas encontradas nas fezes de *T. infestans* mantidos a 5°C durante 30 dias.
 Fig. 2 — Formas encontradas nas fezes de *T. infestans* mantidos a 22°C durante 30 dias.
 Fig. 3 — Formas encontradas nas fezes de *T. infestans* mantidos a 36-37°C durante 30 dias.

DISCUSSÃO

A primeira alteração que observamos nos triatomíneos quando mantidos em temperaturas baixas é a imobilidade, a hibernação, fato também observado por DI PRIMIO⁵, na natureza. Ocorrência também notada por este pesquisador e por nós é a ausência da

digestão sanguínea nos triatomíneos sob aquelas condições.

A evolução do *T. cruzi* no *T. infestans*, sofre grande influência da temperatura. Parece, entretanto, que a evolução do protozoário não seja alterada só e diretamente pela variação da temperatura e sim pela ação sinérgica do abaixamento da tempera-

tura é aumento do metabolismo, como observou OKASHA⁹.

Esta influência pode ser inibidora e/ou estimulante do ciclo evolutivo. Uma vez alcançada a forma crítdia ou metacíclica na temperatura média de 23-27°C o seu posterior abaixamento (5°C) ou elevação (36-37°C) não interfere na vitalidade ou motilidade destas formas. A temperatura baixa (0°C, 5°C) inibe a evolução do *T. cruzi*, que no *T. infestans* permanece na forma sanguínea até 35 dias. A temperatura elevada (36-37°C) não inibe a evolução completamente, mas diminui a multiplicação intensamente, uma vez que nos *T. infestans*, mantidos até 40 dias naquela temperatura foi muito baixo o número de crítdias ou metacíclicos encontrados.

Já na temperatura de 23-27°C há um grande estímulo na evolução e multiplicação do *T. cruzi* em *T. infestans* nas fezes do qual é encontrada grande quantidade de crítdias delgadas e metacíclicos aos 20-30 dias.

Verificamos, portanto, que a temperatura influi na evolução do flagelado. Esta influência talvez se manifeste na transmissão do *T. cruzi* na natureza de modos diferentes, em regiões diferentes e durante as várias estações do ano. Assim, em certas regiões quentes, a presença de tripanosomas metacíclicos nas fezes dos triatomíneos poderia ser menor, mas constante, na quase totalidade do ano ou, então, o número de triatomíneos positivos seria menor, apresentando poucas formas metacíclicas.

Nas regiões frias, o número de tripanosomas metacíclicos seria pequeno no inverno ou no período imediatamente seguinte, mas com uma alta taxa de formas infetantes nos outros meses.

SUMMARY

Influence of temperature in the evolution of Trypanosoma cruzi, in triatomines

The Author infected batches of *T. infestans* with *T. cruzi* and placed them at different temperatures: -5°C, 0°C, 5°C, 10°C,

22°C, 23°C, 28°C and 37°C. He noticed a great influence of temperature in the development of the protozoon: the low temperatures inhibited the evolution and the high reduced the reproduction.

Once the protozoon has reached the metacyclic form at a temperature of 23-27°C, the low temperature will no longer affect it. The Author associates the interference of temperature to the change in metabolism of the insects, which is directly proportional to temperature.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Aprígio de Abreu Salgado, ao seu técnico Turibio Leite Godoy e ao Prof. Zigman Brenner, pesquisadores do "Centro de Pesquisas René Rachou" do INERu de Belo Horizonte, pelos triatomíneos, insetário, bibliografia e sugestões fornecidas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BRENER, Z. — *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Tese. Belo Horizonte, 1961.
2. DALMA, J. — Primeiros ensayos de piretotherapia en la enfermedad de Chagas. *Rev. Med. Norte* (Tucuman) 3:187-193, 1956.
3. DEANE, M. & KIRCHNER, E. — Life cycle of *T. conorhini*. Influence of temperature and other factors on growth and morphogenesis. *J. Protozool.* 10:391, 1963.
4. DIAS, E. — Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 28:1-110, 1934.
5. DI PRIMIO, R. — Triatomíneos e índices de infecção pelo *T. cruzi* no R. G. do Sul. Rio de Janeiro. Anais do Congresso Internacional sobre Doenças de Chagas, Vol. IV, 1963.
6. KOLODNY, M. — The effect of environmental temperature upon experimental trypanosomiasis (*T. cruzi*) of rats. *Amer. J. Hyg.* 32:(Set C) 21-33, 1940.
7. MAYRINK, W. — Comunicação pessoal.
8. NEVA, F.; MALONE, A. & MYERS, B. — Factors influencing the intracellular growth of *T. cruzi* *in vitro*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 10:140-154, 1961.

9. OKASHA, A. Y. K. — Effects of sub-lethal high temperature on an insect *R. prolixus* (Stal). III. Metabolic changes and their bearing on the cessation and delay of moulting. *J. Exp. Biol.* 48:475-486, 1968.
10. TREJOS, A.; GODOY, G. A.; GREENHALATT, C. & CEDILLOS, R. — Effects temperature on morphologic variation of *S. cruzi* in tissue culture. *Exp. Parasit.* 13: 211-212, 1963.
11. TREJOS, A. — Influence of environmental temperature on the pathogenesis of American trypanosomiasis. W. H. O. Scientific Group on comparative studies of American and African Trypanosomiasis. Washington, 11-16, December, 1967.
12. VÁRIOS AUTORES In PESSÓA, S. B. — *Parasitologia Médica*. 7.ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1967.
13. WOOD, S. F. — Additional observations on *T. cruzi* Chagas, from Arizona in insects, rodents and experimentally infected animals. *Amer. J. Trop. Med.* 29:43-55, 1949.
14. WOOD, S. F. — Environmental temperature as a factor in development of *T. cruzi* in *Triatoma protracta*. *Exp. Parasit.* 3:227-233, 1954.

Recebido para publicação em 17/4/1969.