

## Estudio comparativo de la susceptibilidad de cuatro especies del género *Rhodnius* a la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*

Ana Gisela Pérez R.<sup>1</sup>, Jorge E. Moreno<sup>2\*</sup> & Luisa Colina<sup>3</sup>

Con el objetivo de comparar su susceptibilidad, se infectaron experimentalmente con *Trypanosoma cruzi* especímenes de *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius robustus*, *Rhodnius neivai* y *Rhodnius neglectus*. El análisis de varianza de Kruskal-Wallis con los datos agrupados por especie y por estadio reveló diferencias estadísticamente significativas entre las especies en cuanto al volumen de sangre ingerida, volumen de orina producida y número de parásitos desarrollados en orina y heces para cada estadio. Posteriormente la prueba de comparación múltiple de Mínima Diferencia Significativa demostró que *R. prolixus* ingirió el volumen más elevado de sangre mientras que *R. neivai* produjo el volumen de orina más elevado, seguido por *R. robustus*, *R. prolixus* y *R. neglectus*, en ese orden. Asimismo, *R. neivai* mostró el promedio más elevado de parásitos tanto en orina como en heces mientras que *R. robustus* y *R. neglectus* produjeron significativamente menos parásitos en orina y heces respectivamente. Las cuatro especies estudiadas son capaces de infectarse, multiplicar y excretar el parásito en su forma infectante, en todos los estadios.

**Palabras clave:** *Rhodnius*, *Trypanosoma cruzi*, infección experimental, Chagas, Venezuela.

### INTRODUCCIÓN

Se estima que en las comunidades rurales y suburbanas de América Latina hay de 18 a 20 millones de personas infectadas con el mal de Chagas, mientras que 120 millones viven en áreas de riesgo a la enfermedad (Añez *et al.*, 2004). En Venezuela, debido al incremento de la población rural y el abandono de las medidas de control de vectores, en la última década han aumentado las tasas de infestación a triatomíneos, especies como *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius robustus* y *Panstrongylus geniculatus* han ocasionando el aumento de la incidencia y la re-emergencia de la enfermedad en el país (Añez *et al.*, 2004, Carrasco *et al.*, 2005)

El parásito causante del mal de Chagas, *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), usualmente es transmitido al humano a través de la deposición de excretas de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) sobre el hospedador. Se conocen 92 especies de triatomíneos en América, distribuidas en 18 países desde México hasta Argentina, de las cuales más de la mitad han sido halladas infectadas con *T. cruzi* y por lo menos 17 pueden ser vectoras de la enfermedad (Coello, 1992; Feliciangeli *et al.*, 2007).

La capacidad de una especie de triatómino para alojar y desarrollar el parásito hasta las formas infectantes, depende principalmente de factores fisiológicos, tales como la respuesta inmune del insecto e identidad genética con el parásito, o el patrón de alimentación, frecuencia y calidad de la defecación (Azambuja & García, 2005; Arévalo *et al.*, 2007). La infección experimental de triatomíneos con *Trypanosoma* es utilizada frecuentemente para investigar estos aspectos. De esta manera ha sido estudiado el efecto de la infección con *T. rangeli* y *T. cruzi* sobre la frecuencia de alimentación de *R. prolixus* (D'Alessandro & Mandel, 1969), sobre su fecundidad y longevidad (Pereira & Barroca, 1975), o el efecto que

<sup>1</sup> BIOPLANT, C.A. Ingeniería y Protección Ambiental, Maracay, estado Aragua, Venezuela.

<sup>2</sup> Centro de Investigación de Campo Dr. Francesco Vitanza, Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon", Ministerio del Poder Popular para la Salud, Tumeremo, estado Bolívar, Venezuela.

<sup>3</sup> Dirección General de Salud Ambiental. Ministerio del Poder Popular para la Salud, Maracay, estado Aragua, Venezuela.

\*Autor de correspondencia: jorermo@yahoo.com

tiene el ayuno en el triatomino sobre la supervivencia de *T. cruzi* y *T. rangeli* (Vallejo *et al.*, 1988). Así también los patrones de alimentación y defecación sobre humanos de *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius neivai*, *R. prolixus* y *R. robustus* (Aldana *et al.*, 2000), la susceptibilidad de *R. neglectus*, *Triatoma infestans* y *R. robustus* a *T. cruzi*, (Martins *et al.*, 2000) y la susceptibilidad de *R. prolixus* a diferentes linajes, cepas y clones de *T. cruzi* y *T. rangeli* (Mello *et al.*, 1996; García *et al.*, 1999).

Si bien *R. prolixus* es el principal vector de Chagas en Venezuela y Colombia, especies como *R. neivai*, *R. neglectus* y *R. robustus* también tienen potencial como vectores de Chagas. Por este motivo, en este trabajo se explora de manera experimental la susceptibilidad de estas especies a *T. cruzi*, comparándolas con *R. prolixus*, con la finalidad de saber si existen diferencias en la susceptibilidad al parásito entre estas cuatro especies y entre diferentes estadios de una misma especie. Esto permitirá medir el potencial vectorial de estas especies y el peligro que representan para la salud pública.

## MATERIALES Y METODOS

### *Inoculación de ratones*

Ratones *Mus musculus* de aproximadamente treinta días de nacidos y 18 a 20 g de peso (cepa NMRI/IVIC 1997), fueron inoculados con *T. cruzi* de la cepa "Petra Mendoza", mantenida en la Dirección de Salud Ambiental del Ministerio de Salud de Venezuela [originaria del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)]. Los parásitos fueron obtenidos de ratones con 10 a 12 días de infección, cuya parasitemia era de aproximadamente  $1 \times 10^6$  parásitos/mL de sangre. El seguimiento de la parasitemia se hizo mediante el método de conteo convencional con cámara de Neubauer.

### *Infección de triatominos con T. cruzi*

De cada especie de triatomino; *R. prolixus*, *R. neivai*, *R. robustus* y *R. neglectus*, se infectaron 240 ninfas de tercer estadio agrupadas en 30 unidades experimentales formadas por ocho ninfas cada uno ( $n = 30$ ). Los insectos pertenecen a las colonias de la Dirección de Salud Ambiental del Ministerio de Salud. Las ninfas fueron pesadas y puestas a picar directamente por un lapso de 35 minutos sobre un ratón infectado con *T. cruzi* con parasitemias de  $4$  a  $5 \times 10^6$  parásitos/mL. Después fueron pesadas nuevamente para calcular el volumen de sangre y el número de parásitos ingeridos, alimentándoseles

nuevamente con ratones sanos después de cada muda subsiguiente hasta el estadio adulto. Los triatominos fueron mantenidos en condiciones de laboratorio a una temperatura de 27 a 30°C y 50 a 60% de humedad relativa.

### *Contaje de parásitos en orina y heces*

Después de cada alimentación, mediante una pipeta automática se procedió a la recolección y medición del volumen de orina excretado, en los estadios cuarto, quinto y adulto. De cada grupo de triatominos se colectaron 10  $\mu$ L de orina y heces diluidas con solución salina para realizar el conteo de parásitos por mililitro.

### *Análisis de los datos*

Se realizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de una prueba a posteriori de comparación múltiple de mínima diferencia significativa (MDS), con los datos agrupados por especie y por estadio, y análisis de correlación de Spearman entre el número de parásitos ingurgitados y el número de parásitos producidos por especie y por estadio. Se usó el programa Statistica for Window versión 5.1 (StatSoft. Inc, 1996).

## RESULTADOS

### *Volumen de sangre y parásitos ingeridos*

El análisis de varianza de Kruskal-Wallis revela que existen diferencias altamente significativas entre las especies en cuanto al volumen de sangre ingerida [H (3, 120) = 111,5;  $P = 0,000$ ] y número de parásitos ingeridos [H (3, 120) = 107,5;  $P = 0,000$ ]. La prueba a posteriori de MDS revela un gradiente significativo idéntico para el volumen promedio de sangre ingerida y el número de parásitos ingurgitados por cada especie, en el cual *R. prolixus* ocupa el primer lugar seguida de *R. neivai*, *R. robustus* y *R. neglectus*, en ese orden (Tabla I).

### *Volumen de orina excretado por estadio y por especie*

La correlación entre el volumen de sangre ingerida y el volumen de orina en microlitros excretado por estadio para todas las especies, fue débil en el estadio IV ( $R = 0,27$ ;  $P = 0,003$ ), el estadio V ( $R = 0,18$ ;  $P = 0,043$ ) y estadio adulto ( $R = 0,19$ ;  $P = 0,043$ ). El análisis de varianza de Kruskal-Wallis con los datos agrupados por estadio, revela que existen diferencias altamente significativas entre las especies en el volumen de orina

**Tabla I. Volumen de sangre promedio en microlitros y número de parásitos ingeridos por las cuatro especies de *Rhodnius*.**

ESPECIE	Sangre ingerida ( $\mu\text{L}$ )	Parásitos ingeridos ( $\times 1000$ )
	Media ( $\pm$ 95% IC)	Media ( $\pm$ 95% IC)
<i>R. prolixus</i>	67,0 a (66,6-67,4)	296,4 a (287,2-306,7)
<i>R. neivai</i>	46,4 b (46,2-46,5)	205,5 b (198,5-212,6)
<i>R. robustus</i>	37,3 c (37,1-37,6)	176,6 c (173,1-180,2)
<i>R. neglectus</i>	16,5 d (16,4-16,7)	78,7 d (76,9 - 80,5)
Todas las especies	41,8 (38,5-45,1)	189,5 (75,0-203,9)

Valores en las columnas seguidos de letras iguales no difieren significativamente entre si al nivel de  $\alpha = 0,05$  (Prueba de Mínima Diferencia Significativa, MDS).

excretado en el cuarto estadio [ $H(3, 120) = 99,2; P = 0,000$ ], en el quinto estadio [ $H(3, 120) = 111,8; P = 0,000$ ] y en el estadio adulto [ $H(3, 120) = 74,7; P = 0,000$ ]. La Tabla II resume los valores del volumen promedio de orina excretado en cada estadio para cada una de las especies de triatomo. Así, en el cuarto y quinto estadio hay gradientes similares en los cuales *R. robustus* ocupa la posición superior, seguido por *R. neivai*, *R. prolixus* y *R. neglectus*, en ese orden. En ambos casos *R. robustus* excretó significativamente más orina que las demás especies, por encima del promedio general, mientras que *R. neglectus* excretó el promedio significativamente más bajo de todos. En los adultos, *R. neivai* excretó significativamente más orina que las otras tres especies, las cuales no difieren entre si.

#### Número de parásitos contados en orina por estadio y por especie

Se encontró una débil correlación entre el volumen de orina producido y el número de parásitos contados en orina para todas las especies en conjunto ( $R = 0,10; P = 0,046$ ). No obstante, la correlación de esta variable con la cantidad de parásitos ingurgitada fue altamente significativa en el estadio IV ( $R = 0,41; P = 0,000$ ), el estadio V ( $R = 0,24; P = 0,0094$ ) y el estadio

adulto ( $R = -0,29; P = 0,0013$ ) siendo en este último caso negativa.

Al agrupar los datos por estadio, se encontraron diferencias altamente significativas entre las especies en el número de parásitos contados en orina en el estadio IV [ $H(3, 120) = 53,7; P = 0,000$ ], en el estadio V [ $H(3, 120) = 55,9; P = 0,000$ ] y los adultos [ $H(3, 120) = 34,1; P = 0,000$ ]. La Tabla III resume los resultados obtenidos en la prueba de MDS en cuanto al promedio de parásitos contados en orina para cada especie por estadio. En el cuarto estadio *R. neivai* y *R. prolixus* produjeron significativamente más parásitos que *R. neglectus* y *R. robustus*, en el quinto estadio se obtuvo un gradiente significativo, en el cual *R. neivai* ocupa el primer lugar, seguida de *R. neglectus*, *R. prolixus* y *R. robustus*, mientras que en los adultos, *R. neivai* y *R. neglectus* produjeron significativamente más parásitos que *R. robustus* y *R. prolixus*. En todos los estadios la excreción de parásitos de *R. neivai* fue superior a la de las otras especies, para las demás especies el orden de magnitud se altera de un estadio a otro. Al agrupar los datos por especie, se encontraron diferencias altamente significativas en el promedio de parásitos en la orina entre los grupos [ $H(3, 120) = 81,156; P = 0,0000$ ]. De tal manera que *R. neivai* excretó un promedio de parásitos

**Tabla II. Volumen de orina promedio en microlitros excretado por estadio para las cuatro especies de *Rhodnius*.**

ESPECIE	Estadio IV	Estadio V	Adulto
	Media (95% IC)	Media (95% IC)	Media (95% IC)
<i>R. prolixus</i>	60,0 b (56,9-63,1)	89,3 c (85,3-93,4)	84,0 b (81,0-87,0)
<i>R. neivai</i>	61,7 b (56,9-63,1)	145,7 b (142,5-148,9)	273,0 a (265,5-280,5)
<i>R. robustus</i>	83,7 a (80,3-87,0)	189,3 a (185,7-193,0)	95,3 b (88,3-102,3)
<i>R. neglectus</i>	36,3 c (33,7-38,3)	47,7 d (43,8-51,6)	78,7 b (72,0-85,4)
Todas las especies	60,3 (57,0-63,7)	118,0 (108,1-127,9)	132,8 (117,8-147,8)

Valores en las columnas seguidos de letras iguales no difieren significativamente entre si al nivel de  $\alpha = 0,05$  (Prueba de Mínima Diferencia Significativa, MDS).

**Tabla III. Promedio de parásitos ( $\times 10^6$ ) contados en orina para cada estadio en las cuatro especies de *Rhodnius*.**

ESPECIE	Estadio IV	Estadio V	Adulto
	Media (95% IC)	Media (95% IC)	Media (95% IC)
<i>R. prolixus</i>	1,48 a (1,23-1,73)	1,91 b (1,64-2,18)	0,56 b (0,37-0,75)
<i>R. neivai</i>	1,85 a (1,47-2,23)	4,02 a (3,25-4,79)	1,96 a (1,41-2,50)
<i>R. robustus</i>	0,31 b (0,21-0,42)	0,72 c (0,55-0,89)	1,12 b (0,91-1,35)
<i>R. neglectus</i>	0,69 b (0,40-0,98)	2,30 b (1,56-3,04)	1,89 a (1,19-2,58)
Todas las especies	1,08 (0,90-1,25)	2,24 (1,89-2,58)	1,38 (1,13-1,63)

Valores en las columnas seguidos de letras iguales no difieren significativamente entre si al nivel de  $\alpha = 0,05$  (Prueba de Mínima Diferencia Significativa, LSD).

significativamente más elevado que el todas las demás especies, seguida de *R. neglectus* y *R. prolixus*, cuyos valores promedio no difieren significativamente entre si, y *R. robustus* el cual excretó significativamente menos parásitos que las demás especies (Tabla IV).

*Número de parásitos contados en heces por especie*

El análisis con los datos agrupados por especie para el número de parásitos contados en heces, evidencia diferencias altamente significativas entre los grupos [H (3, 120) = 21,2;  $P = 0,0001$ ]. La prueba de comparación múltiple (MDS), revela que existe un gradiente significativo en el número de parásitos contados en heces, con solapamiento entre especies (Tabla IV). Igual a como ocurrió con la orina, *R. neivai* excretó significativamente más parásitos en las heces, seguido de *R. robustus*, *R. prolixus* y *R. neglectus*, en ese orden. Asimismo, el promedio de parásitos contados en heces de *R. neivai* y *R. robustus* es superior al promedio general para todas las especies, mientras que el promedio de *R. prolixus* y *R. neglectus* es inferior a éste. Además, el número de parásitos para todas la especies contados en las heces, mostrado en la Tabla IV, fue significativamente superior al número de parásitos contados en la orina ( $N = 360$ ;  $t = -8,373$ ;  $P = 0,000$ ).

*Número de parásitos contados en las heces por estadio*

Se encontró una correlación positiva altamente significativa entre el número de parásitos contados en la orina con el numero de parásitos contados en las heces para todas las especies ( $R = 0,30$ ;  $P = 0,000$ ). Contradictoriamente, la correlación entre la cantidad de parásitos ingurgitada y el número de parásitos contados en heces fue no significativa para el estadio V ( $R = 0,13$ ,  $P = 0,1675$ ) y el estadio adulto ( $R = 0,07$ ;  $P = 0,4386$ ), solo hubo correlación positiva significativa con el estadio IV ( $R = 0,35$ ;  $P = 0,0001$ ).

Igual a como ocurre con la orina, también se encontraron diferencias altamente significativas entre las especies en el número de parásitos contados en las heces en el estadio IV [H (3, 120) = 16,9;  $P = 0,0007$ ], en el estadio V [H (3, 120) = 9,5  $P = 0,023$ ] y adultos [H (3, 120) = 18,9;  $P = 0,0003$ ]. La Tabla V resume los resultados de la prueba de comparación múltiple de MDS. En el cuarto estadio existe un gradiente solapado en el número de parásitos contados en heces, en el cual no hay diferencias significativas entre especies contiguas. *R. prolixus* presenta el promedio más alto, seguida de *R. neivai*, *R. robustus*, y *R. neglectus*. En el quinto estadio, *R. neivai* es la especie con el promedio significativamente

**Tabla IV. Promedio de parásitos ( $\times 10^6$ ) contados en orina y heces por especie de *Rhodnius*.**

ESPECIE	Parásitos en orina	Parásitos en heces
	Media (95% IC)	Media (95% IC)
<i>R. prolixus</i>	1,32 b (1,14-1,50)	3,50 bc (2,67-4,32)
<i>R. neivai</i>	2,61 a (2,22-2,99)	6,16 a (4,41-7,90)
<i>R. robustus</i>	0,72 c (0,60-0,84)	4,74 ab (3,49-6,00)
<i>R. neglectus</i>	1,63 b (1,26-1,99)	2,68 c (1,90-3,45)
Todas las especies	1,56 (1,41-1,72)	4,27 (3,66-4,88)

Valores en las columnas seguidos de letras iguales no difieren significativamente entre si al nivel de  $\alpha = 0,05$  (Prueba de Mínima Diferencia Significativa, LSD).

**Tabla V. Promedio de parásitos ( $\times 10^6$ ) contados en heces por estadio en las cuatro especies de *Rhodnius*.**

ESPECIE	Estadio IV	Estadio V	Adulto
	Media (95% IC)	Media (95% IC)	Media (95% IC)
<i>R. prolixus</i>	2,17 a (1,40–2,93)	2,93 b (2,21–3,65)	5,40 bc (3,23– 7,57)
<i>R. neivai</i>	1,57 ab (1,10–2,03)	5,47 a (3,77–7,16)	11,43 a (7,03–15,84)
<i>R. robustus</i>	1,37 bc (1,08–1,65)	3,50 b (2,15–4,85)	9,37 ab (6,45– 2,29)
<i>R. neglectus</i>	0,77 c (0,46–1,07)	2,97 b (1,85–4,09)	4,30 c (2,39– 6,20)
Todas las especies	1,46 (1,21–1,72)	3,72 (3,08–4,35)	7,63 (6,09–9,16)

Valores en las columnas seguidos de letras iguales no difieren significativamente entre sí al nivel de  $\alpha = 0,05$  (Prueba de Mínima Diferencia Significativa, MDS).

más elevado, mientras que las otras tres especies no difieren significativamente entre sí. En los adultos, también hay un gradiente solapado, correspondiendo los promedios más altos a *R. neivai* y *R. robustus*, los cuales no difieren significativamente entre sí, seguidas de *R. prolixus* y *R. neglectus* con promedios similares.

## DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo demuestran que existen diferencias en la susceptibilidad a *T. cruzi* entre las cuatro especies de triatomino estudiadas, que se manifiestan en las diferencias observadas entre especies y estadios en los niveles de infección detectadas en orina y heces. En este sentido, *R. neivai* fue la especie más susceptible, por cuanto produjo significativamente más parásitos tanto en orina como en heces en casi todos los estadios de manera consistente.

En cuanto a las demás especies, el orden en la susceptibilidad no está claro, por cuanto el lugar en el gradiente ocupado por las especies después de *R. neivai* se altera según el estadio y el tipo de excreta. Al analizar los resultados por especie el orden de magnitud obtenido para la orina fue *R. neglectus*, *R. prolixus* y *R. robustus*, pero en las heces este orden se altera pasando *R. robustus* al segundo lugar y *R. neglectus* al último lugar, habiendo diferencias significativas entre ellas. Igualmente ocurre con el promedio de parásitos contado en la orina y en las heces por estadio, los lugares entre especies se alternan de un estadio a otro en ambos casos, sin que haya un patrón claro en la susceptibilidad en estas tres especies. Con relación a las últimas dos especies, Martins *et al.*, (2000) encontraron que *R. neglectus* era más susceptible a una cepa de *Trypanosoma* que *Triatoma infestans* y *R. robustus*, siendo este último el menos susceptible, concluyendo que las tres especies tenían buena susceptibilidad al parásito. Igualmente, Carvalho-

Moreira *et al.*, (2003) encontraron que *R. neglectus* era más susceptible a *T. cruzi* que *Triatoma pseudomaculata* demostrando la susceptibilidad de la especie al parásito.

Obviando el orden en el gradiente de susceptibilidad observado, la habilidad de las cuatro especies estudiadas para adquirir, desarrollar y excretar formas infectantes en cantidades elevadas en todos los estadios fue demostrada, lo que confirma que éstas son capaces de transmitir el parásito por deposición de sus excretas en los hospedadores. Esta hipótesis es reforzada por varios autores; así, *R. neivai* ha sido descrita como una especie de hábitos domésticos y peri domésticos y ha sido hallada naturalmente infectada (Carcavallo *et al.*, 1976; Cóello, 1992), mientras que *R. robustus* ha sido señalado como vector extra doméstico y ha sido hallada naturalmente infectada con *T. cruzi* y *T. rangeli* en Venezuela y Colombia (Carcavallo *et al.*, 1975; Tonn *et al.*, 1976; Feliciangeli *et al.*, 2002), y *R. neglectus* ha sido incriminado como un vector secundario en Brasil (Pinto *et al.*, 1999).

Con respecto a *R. prolixus*, dada su conocida capacidad vectorial, estos resultados confirman que hay otros aspectos biológicos involucrados en la transmisión además de la susceptibilidad al parásito, tales como la frecuencia de alimentación, de defecación y el tiempo de permanencia sobre el hospedador, tal como han sugerido Arévalo *et al.*, (2007). En éste trabajo, *R. prolixus* fue la especie que ingirió la mayor cantidad de sangre, lo cual parece ser una característica de esta especie (Azambuja y García, 2005), resultados similares fueron obtenidos por Arévalo *et al.* (2007) al comparar *R. prolixus* con *R. colombiensis*. En consecuencia, *R. prolixus* debió ingerir la parasitemia más elevada, dada la altísima correlación encontrada entre ambas variables, siendo superada no obstante por *R. neivai* en la producción de parásitos. Este resultado sugiere que el número de parásitos ingeridos por

el vector no es el único factor crítico para determinar la infección, sino que hay factores tales como la afinidad parasito-vector, y variabilidad genética de las cepas de *Trypanosoma* que regulan la susceptibilidad, tal como ha sido demostrado con modelos de *T. rangeli*, los cuales sugieren que la capacidad de *R. prolixus* para infectarse depende de la capacidad del parásito para superar barreras celulares y humorales de respuesta inmune del vector (Azambuja y García, 2005; Vallejo *et al.*, 2007).

Otro aspecto a resaltar de los resultados por sus implicaciones epidemiológicas, es la cantidad de parásitos excretados por estadio. En este sentido, en la orina, no se observó un incremento significativo entre estadios en el promedio general de parásitos, habiendo una pequeña disminución en el estadio adulto, mientras que por otro lado, hubo correlación positiva de esta variable en el cuarto y quinto estadio con la cantidad de parásitos ingerida pero no en el estadio adulto, sugiriendo que la capacidad del parásito para multiplicarse dentro del vector decrece en el estadio adulto. Un resultado similar fue obtenido por Aldana *et al.* (2000) quienes concluyeron que los primeros estadios son los de mayor potencial vectorial, debido a que en su trabajo encontraron que el tercer estadio presenta un mayor índice de defecación al realizar comparaciones entre especies y entre estadios de *R. pictipes*, *R. neivai*, *R. prolixus* y *R. robustus*. No obstante, en este trabajo, el promedio general de parásitos contados en las heces fue significativamente mayor que en la orina, en cada una de las especies y en casi todos los estadios, a pesar de que de algunos autores afirman que la máxima cantidad de tripanosomas es expulsado en la orina luego de una ingesta sanguínea (Zeledón *et al.*, 1977; Zeledón, 1998). También se observó en las heces un notable incremento en el promedio de parásitos excretados de un estadio a otro, particularmente en el estadio adulto, lo cual reafirma el papel preponderante de las heces en la transmisión del parásito e indica que el estadio adulto es el que tiene mayor potencial vectorial, lo que concuerda con la tesis de Ramírez-Pérez (1987) quien afirma que la tasa de infección aumenta con la edad debido a las sucesivas divisiones del parásito con cada ingesta sanguínea, y Carcavallo *et al.* (1978) quienes encontraron tasas de infección natural con *T. cruzi* más elevadas en los estadios superiores de *R. prolixus* en Venezuela.

Al interpretar los resultados de este trabajo, hay que tener en cuenta que las poblaciones ensayadas provienen de cepas mantenidas en laboratorio durante mucho tiempo, lo cual podría haber provocado pérdida de variabilidad por deriva genética al ser manipulados,

ocasionando la eventual selección de individuos muy susceptibles o refractarios al parásito, de acuerdo a la teoría de la evolución clonal de las poblaciones del parásito (Vallejo *et al.*, 2007) Esto también es aplicable a la “cepa” del parásito utilizada; así como, entre otros factores, a la variabilidad genética de las cepas de *Trypanosoma*. Esto constituye una limitación importante que puede tener un efecto considerable sobre la respuesta observada en las especies en cuanto a la susceptibilidad a *T. cruzi*. A pesar de ello, este trabajo aporta datos importantes sobre las relaciones parásito-vectores en Chagas y ayudan a la comprensión de la ecología de ésta enfermedad en Venezuela y Latinoamérica.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal del laboratorio de la Dirección General de Salud Ambiental (Maracay) por la colaboración prestada en el suministro del material biológico para la realización de este trabajo.

#### **Comparative study of susceptibility of four species of genera *Rhodnius* to experimental infection with *Trypanosoma cruzi* in Venezuela**

#### SUMMARY

In order to compare their susceptibility to *Trypanosoma cruzi* specimens of *Rhodnius prolixus*, *R. robustus*, *R. neivai* and *R. neglectus* were experimentally infected with this parasite. Statistically significant differences among the species in the volume of blood ingested, volume of urine produced and number of parasites in urine and grounds developed in each stage, were detected with a non parametric Kruskal-Wallis analysis of variance, with the data grouped in species and instars. The Low Significant Difference posteriori test, shows that *R. prolixus* ingested the highest blood volume while *R. neivai* produced the highest urine volume, followed by *R. robustus*, *R. prolixus* and *R. neglectus*. Likewise, *R. neivai* showed the highest average of parasites in urine and feces, while *R. robustus* and *R. neglectus* showed significantly less parasites in urine and feces respectively. The four studied species are able to infect, to multiply and to excrete the parasite in their infective form in all instars stages.

**Key words:** *Rhodnius*, *Trypanosoma cruzi*, experimental infection, Chagas, Venezuela.

## REFERENCIAS

- Añez A., Crisante G. & Rojas A. (2004). Update in Chagas disease on Venezuela, a review. *Mem. Ints. Oswaldo Cruz.* **99**: 781-787.
- Aldana E., Lizano E., Rodríguez M. & Valderrama A. (2000). Alimentación y defecación en triatominos del género *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) alimentados con sangre humana. *Rev. Biol. Trop.* **49**: 693-696.
- Arévalo A., Carranza J. C., Guhl F., Clavijo J. A. & Vallejo G. A. (2007). Comparación de los patrones de alimentación y defecación de *Rhodnius colombiensis* y *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en condiciones de laboratorio. *Biomédica.* **27**: 101-109.
- Azambuja P. & Garcia E. S. (2005). *Trypanosoma rangeli* interactions within the vector *Rhodnius prolixus* – a mini review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **100**: 567-572.
- Carcavallo R. U., Martínez S. R., Otero M., & Tonn R. J. (1975). Infección natural de *Rhodnius robustus* Larrouse y *Rhodnius pictipes* Stal por *T. cruzi* y *T. rangeli*. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **15**: 117-120.
- Carcavallo R. U., Tonn R. J. & Jiménez J. C. (1976). Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica de *Rhodnius neivai* Lent, 1953 (Hemiptera, Reduviidae). *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **16**: 169-171.
- Carcavallo R., Tonn R., Ortega R., Betancourt P. & Carrasquero B. (1978). Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae). *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **18**: 175-198.
- Carrasco H. J., Torrellas A., García C., Segovia M. & Feliciangeli M. D. (2005). Risk of *Trypanosoma cruzi* I (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) transmission by *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) in Caracas (Metropolitan District) and neighboring states, Venezuela. *Int. J. Parasitol.* **35**: 1379-1384.
- Carvalho-Moreira C. J., Spata M. C. D., Coura J. R., Garcia E. S., Azambuja P., Gonzalez M. S. & Mello C. B. (2003). In vivo and in vitro metacyclogenesis tests of two strains of *Trypanosoma cruzi* in the triatomine vectors *Triatoma pseudomaculata* and *Rhodnius neglectus*: short/long-term and comparative study. *Exp. Parasitology.* **103**: 102-111.
- Cóello D. (1992). Aspectos de la biología y comportamiento de *Rhodnius neivai* Lent, 1953 (Hemiptera, Reduviidae). *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **32**: 10-42.
- D'Alessandro A. & Mandel S. (1969). Natural infections and behavior of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in the vector *Rhodnius prolixus* in Colombia. *J. Parasitol.* **55**: 846-852.
- Feliciangeli M. D., Dujardin J. P., Bastrenta B., Mazzarri M., Villegas J., Flores M. & Muñoz M. (2002). Is *Rhodnius robustus* (Hemiptera: Reduviidae) responsible for Chagas disease transmission in Western Venezuela? *Trop. Med. Int. Health.* **17**: 280-287.
- Feliciangeli M. D., Sánchez-Martín M. J., Suárez B., Marrero R., Torrellas A., Bravo A. et al. (2007). Risk factors for *Trypanosoma cruzi* human infection in Barinas state, Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **76**: 915-921.
- García E. S., Gonzalez M. S. & Azambuja P. (1999). Biological factors involving *Trypanosoma cruzi* life cycle in the invertebrate vector *Rhodnius prolixus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **94**: 213-216.
- Martins L. P., da Rosa J. A., Castaño R. E., Sauniti G. L. & Medeiros H. (2000). Susceptibilidade de *Rhodnius neglectus*, *Rhodnius robustus* e *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) à infecção por duas cepas de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastidae, Trypanosomatidae) utilizando xenodiagnóstico artificial. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* **33**: 559-563.
- Mello C. B., Azambuja P., Garcia E. S. & Ratcliffe N. A. (1996). Differential in vitro and in vivo behaviour of three strains of *Trypanosoma cruzi*

- in the gut and hemolymph of *Rhodnius prolixus*. *Exp. Parasitology*. **82**: 112-121.
- Pereira D. & Barroca R. (1975). Aspectos da biología do *Rhodnius prolixus* quando alimentado em animais sadios ou infectados com o *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* **35**: 317-320.
- Pinto R., Barbosa S., Dujardin J. P., Schofield C., Siqueira A. & Diotauiti L. (1999). Characterization of *Rhodnius neglectus* from two regions of Brazil using isoenzymes, genitalia morphology and morphometry. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **94**: 161-166.
- Ramírez-Pérez J. (1987). Revisión de los triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **27**: 118-146.
- Tonn R., Carcavallo R. & Ortega R. (1976). Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica de *Rhodnius robustus* Larousse, 1927 (Hemiptera: Reduviidae). *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **26**: 158-171.
- Vallejo G. A., Marinkelle C. J., Gulh f. & Sanchez N. de. (1988). Comportamiento de la infección y diferenciación morfológica entre *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en el intestino del vector *Rhodnius prolixus*. *Rev. Brasil. Biol.* **48**: 577-587.
- Vallejo G. A., Gulh F., Carranza J. C., Triana O., Pérez G., Ortiz P. A. *et al.* (2007). Interacción tripanosoma-vector-vertebrado y su relación con la sistemática y la epidemiología de la tripanosomiasis americana. *Biomédica.* **27**: 110-118.
- Zeledón R., Alvarenga N. J. & Schosinsky. (1977). Ecology of *Trypanosoma cruzi* in the insect vector. pp 59-70. En: *Proc. Int. Symp. Chagas Disease, Sci. Pub.* N° 347, Pan Am. Health Org., Washington, DC, USA.
- Zeledón R. (1998). Infection of the insect host by *Trypanosoma cruzi*. pp. 271 - 287. En: *Atlas dos vectores da doença de Chagas nas Américas*. Vol II. Eds.: Carcavallo R., Galíndez I., Jurberg J. & Herman L. Ed. Fiocruz. Rio de Janeiro. Brasil.

Recibido el 19/10/2008  
Aceptado el 11/03/2009