

***Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infectado con *Trypanosoma cruzi* en el estado Anzoátegui (Venezuela)**

***Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected with *Trypanosoma cruzi* in the state of Anzoátegui (Venezuela)**

Antonio Morocoima¹, Héctor Coriano¹, Carlos Navas¹, Leonardo De Sousa², Elizabeth Ferrer³ & Leidi Herrera^{4,*}

RESUMEN

En el caserío rural Mundo Nuevo, municipio Pedro María Freites, estado Anzoátegui (Venezuela) se capturaron en la pared externa de una vivienda cuatro ejemplares adultos de *Panstrongylus rufotuberculatus* (Champion, 1899) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), uno de los cuales mostró infección por *Trypanosoma cruzi*, evidenciada por examen directo del contenido intestinal. El comportamiento del aislado en ratones NMRI presentó parasitismo tisular en 47% de 12 tejidos estudiados. La especie *T. cruzi* fue confirmada por PCR-ADNk y PCR ADN satélite. Se demuestra por primera vez la presencia de esta especie silvestre en el estado Anzoátegui.

Palabras clave: *Panstrongylus rufotuberculatus*, *Trypanosoma cruzi*, estado Anzoátegui, Venezuela.

SUMMARY

In the rural village Mundo Nuevo, municipality Pedro María Freites, Anzoátegui state (Venezuela), four adults of *Panstrongylus rufotuberculatus* (Champion, 1899) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) were captured in the external wall of a human dwelling. One triatomine was infected by *Trypanosoma cruzi*. The isolate inoculated in NMRI mice showed parasites in 47% of 11 studied tissues. *T. cruzi* was confirmed by PCR-kDNA and PCR satellite DNA. The presence of this species represents, to our knowledge, the first report for this state.

Key words: *Panstrongylus rufotuberculatus*, *Trypanosoma cruzi*, Anzoátegui state, Venezuela.

En el mundo existen 140 especies de insectos estrictamente hematófagos (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) las cuales en su mayoría actúan como vectores del *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) causante de la Enfermedad de Chagas (ECh) en el neotrópico. Unas 22 de estas especies han sido señaladas para Venezuela (Galvão, Carcavallo, Rocha & Jurberg, 2003. *Zootaxa* **202**: 1-36; Schofield & Galvao, 2009. *Acta Trop.* **110**:88-100).

Según Salomón *et al.* (1999. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **94**: 285-288); Otero *et al.* (1975.

WHO/VBC/75.517) y Zavala-Jaspe *et al.* (2009. *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **49**: 309-311) *Panstrongylus rufotuberculatus*, es una especie que se captura muy poco en relación a otras, a pesar de lo cual su presencia se ha registrado desde México hasta Argentina. En Venezuela ha sido encontrada en 17 estados con registros que datan desde 1930 (Otero *et al.*, 1975. WHO/VBC/75.517), entre los cuales no está el estado Anzoátegui (Carcavallo *et al.*, 1999. Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion. En: *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas*. Eds. Carcavallo *et al.* **3**: 747-792. FioCruz Editorial, Rio

¹ Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud y Centro de Medicina Tropical de Oriente (CMTO), Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Barcelona, Venezuela.

² Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Barcelona, Venezuela.

³ Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana Alonso" (BIOMED) y Departamento de Parasitología, Universidad de Carabobo, Sede Aragua, Maracay, Venezuela.

⁴ Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

*Autor de correspondencia: herrerleidi@yahoo.com

de Janeiro, Brasil; Chavez 2006. *An. Fac. Med. Lima* **67**: 65-76; Reyes-Lugo *et al.*, 2006. *Braz. J. Biol.* **66**: 443-446).

De acuerdo con Guhl (2006. *Acta Biol. Venez.* **26**: 23-34) este triatomino se ha encontrado en Colombia y Venezuela infectado con *T. cruzi*, sin embargo se le ha considerado una especie de poca importancia epidemiológica. Otero *et al.* (1975) y Zavala-Jaspe *et al.* (2009 *loc. cit.*) le atribuyen propiedades que permiten considerarlo como vector potencial para la ECh en Venezuela. Recientemente, se ha indicado la presencia de adultos infectados y huevos en el interior de viviendas humanas revelando su capacidad potencial de domiciliación (Traviezo-Valles *et al.*, 2008. *Bol. Mal. Salud Amb.* **48**: 99-101).

Tres machos y una hembra adultos de *P. rufotuberculatus* fueron capturados vivos por colecta activa en horas de la noche, cercanos a una fuente de iluminación en la pared externa de una vivienda localizada al pie de una zona montañosa, en el caserío rural Mundo Nuevo (09° 48' 25.9" latitud Norte y 064° 35' 32" longitud Oeste, 598 msnm, temperatura promedio de 28°C) al extremo noreste del municipio Pedro María Freites, límite con el estado Monagas.

La especie fue identificada utilizando la clave de Lent y Wydogzinsky (1979, *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* **163**: 125-520) y la clave pictórica de Soto-Vivas (2009. *Bol. Mal. Sal. Amb.* **49**: 259-274) y los ejemplares fueron fotografiados con un lente

Macro acoplado a cámara digital Nikon D200 (12 MP formato RAW) en condiciones de iluminación de estudio (Fig. 1A, B).

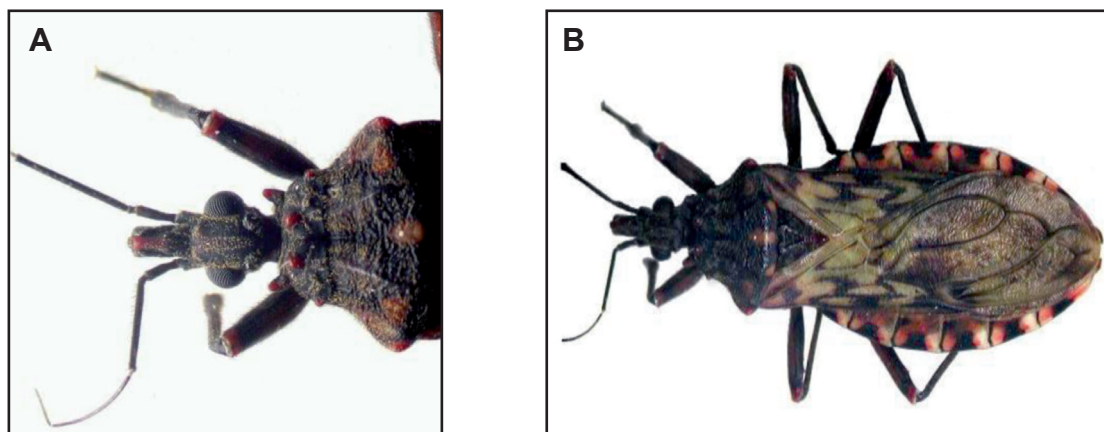
De cada ejemplar se maceró el intestino en solución salina fisiológica estéril (0,85%) y se seccionaron los tarsos de algunas patas para la extracción de hemolinfa y observación al microscopio (400X) en búsqueda de flagelados (Urdaneta-Morales & Tejero. 1986. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* **28**: 166-169).

No se observaron flagelados en la hemolinfa de los cuatro ejemplares. En uno de los triatominos se encontró flagelados intestinales con morfotipos compatibles con tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi*, cuantificados según Brener (1962. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* **4**:389-396) a razón de $1,8 \times 10^5$ metacíclicos/mL de solución de contenido intestinal y con capacidad infectante cuando fueron inoculados por vía intraperitoneal (200 metacíclicos/g de peso) en lotes de 6 ratones NMRI machos, isogénicos de 12g en promedio.

La parasitemia fue determinada 3 veces/semana hasta la cronicidad o la muerte de los animales y la infección presentó un periodo prepatente de 16 días promedio y un valor de parasitemia máxima de $1,2 \times 10^5$ tripomastigotes/ml de sangre, con 40% de mortalidad en los ratones infectados.

La comprobación parasitológica del tripanosoma fue realizada usando xenodiagnósticos sobre los ratones infectados, con 12 ninfas de IV

Fig. 1A, B. *Panstrongylus rufotuberculatus* capturado en el estado Anzoátegui (Venezuela).



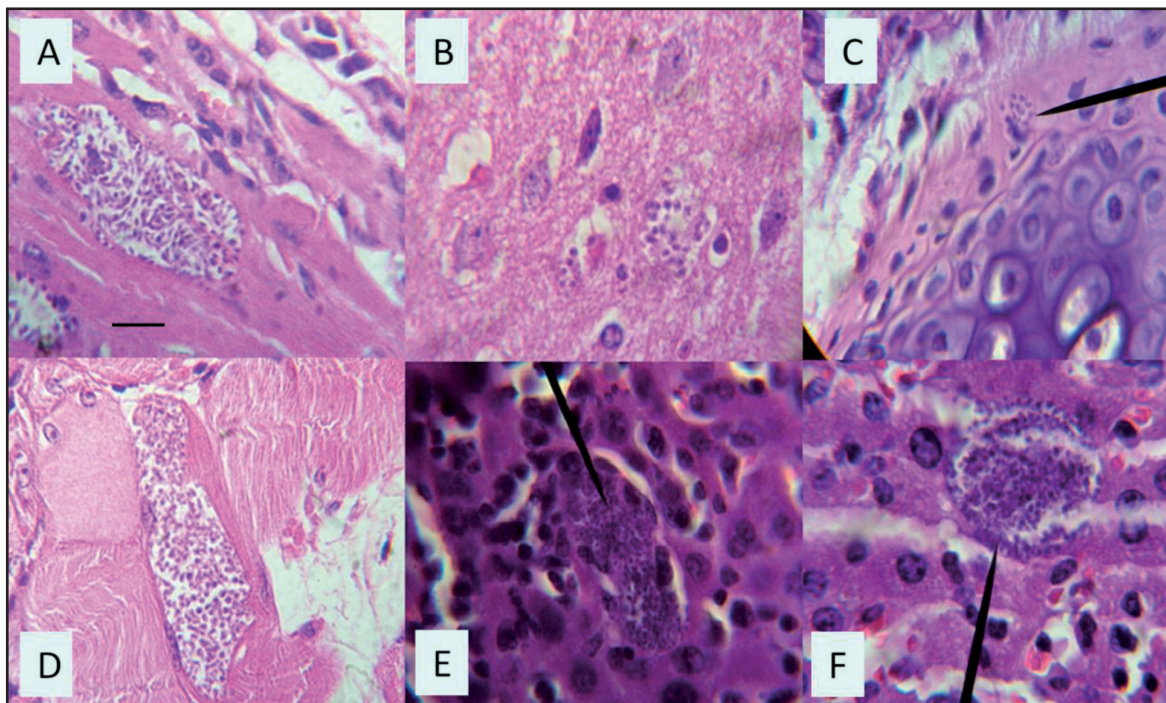
estadio de *R. prolixus*, criadas y mantenidas en el Laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos del Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Universidad Central de Venezuela. Al cabo de 22 días, los insectos presentaron flagelados intestinales infectantes para el modelo murino, con lo cual se cerró el ciclo propio de *T. cruzi*.

En los animales moribundos se practicó eutanasia y toma de biopsias de músculo esquelético, músculo cardíaco, intestino, hígado, cerebro, páncreas, bazo, pulmón, riñón, esternón (tejido condrial) y ganglios los cuales fueron fijados en formol tamponado al 10%, incluidos en parafina, seccionados a 3 micrómetros, teñidos con hematoxilina/eosina y examinados al microscopio (400X y 1000X). Se observó un 47% de los 11 tejidos evaluados con infección siendo algunos de ellos poco incriminados en el parasitismo tisular para la Enfermedad de Chagas experimental, tales como el tejido condrial, cerebro y riñón (Morocoima, *et al.* 2006. *Parasitol. Res.* **99**: 663-668). Pseudoquistes

con estadios amastigotes y tripomastigotes en su interior fueron fotografiados con cámara digital HP Photosmart R927 (Fig. 2A, B, C, D, E, F).

Muestras del tejido cardíaco, muscular esquelético y hepático, de tres ratones infectados y sacrificados en el momento de elevada parasitemia, fueron desparafinados y lisados con proteinasa K para extracción de ADN con resina Chelex® 100 (BioRad) según indicaciones del fabricante. Posteriormente se realizó la amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) de ADN de minicírculo de cinetoplasto (PCR-ADNk) y la amplificación de ADN satélite (PCR-ADNsat) de *T. cruzi* a fin de verificar por métodos moleculares la presencia de ADN del parásito siguiendo los protocolos de Wincker *et al.* (1994. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **51**: 771-777) y Moser *et al.* (1989. *J. Clin. Microbiol.* **27**: 1477). Se aplicaron ambas técnicas con modificaciones para adaptarlas a las condiciones del laboratorio (Ferrer *et al.* 2008. Memorias VI Cong. Investigac. Universidad de Carabobo, Valencia,

Fig. 2. A/F. Pseudoquistes con parasitos en biopsias de tejidos de ratones NMRI inoculados con un aislado de *Trypanosoma cruzi* obtenido de *Panstrongylus rufotuberculatus*. A) músculo cardíaco con estadios alargados en transición hacia tripomastigotes 400X ; B) cerebro con estadios de amastigotes 1000X (sustancia blanca); C) esternón con estadios de amastigotes 400X (condroasblasto); D) músculo esquelético 400X; E) hígado con estadios de amastigotes 400X; F) riñón con estadios de amastigotes 1000X (H-E; 400X ó 1000X según el caso, barra de 1 cm equivale a 15 µm).



Carabobo, Venezuela. I: 532-536). La electroforesis en gel de agarosa del producto de amplificación de ambos marcadores demostró ADN de *T. cruzi* para los animales seleccionados.

Panstrongylus rufotuberculatus ha sido señalada, generalmente, como una especie silvestre. Su presencia en el domicilio posiblemente sea producto de modificaciones sobre su hábitat, particularmente por procesos de deforestación ligado a la agricultura y a las construcciones urbanas y periurbanas, lo cual sumado al marcado fototropismo de la especie conllevaría a su migración hacia el interior de la vivienda o sus alrededores (Otero *et al. loc. cit.*; Traviezo-Valles *et al. loc. cit.*). Sin embargo, la ausencia de huevos y estadios ninfales del insecto, indicaría que no se puede hablar de domiciliación de la especie para el caso referido en el presente trabajo.

La asociación *P. rufotuberculatus* –*T. cruzi* ha sido señalada en Venezuela desde la década de los cuarenta y desde 1952 en el estado Monagas, vecino al área de estudio (Lent & Pifano, 1940. *Rev. Entomol.* **11**: 629-639 ; Cova García & Suarez , 1959. *Estudio de los triatomíneos en Venezuela*. Min. San. Asist. Soc. **11**. Tip. Vargas, Caracas).

Los hallazgos del caso agudo humano de Enfermedad de Chagas con transmisión activa, autóctono del Estado Anzoátegui (Morocoima *et al.* 2008. *Bol. Mal. Sal. Amb.* **48**: 121-126) y el primer registro de *Eratyrus mucronatus* en la region (Morocoima *et al.* 2010. *Bol. Mal. Salud Amb.* **50**: 91-94), llevan a la necesidad de profundizar los estudios sobre triatomíneos y particularmente sobre *P. rufotuberculatus* para dilucidar su posible papel como transmisor de la parasitosis y establecer la necesidad de una vigilancia epidemiológica en esta entidad considerada como no endémica.

CONFLICTOS DE INTERESES

No se presentó conflicto de intereses entre los autores durante la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo fue financiado por el MPPCTI/FONACIT, Proyecto Misión Ciencia N° 2008000911, componente Enfermedad de Chagas 2008000911-6.

Recibido el 28/02/2012
Aceptado el 09/05/2012