

## **CAPITULO 8.**

### **8. *Determinación del perfil alimentario de los triatomínos.***

- 8.1. Procesamiento del contenido del mesenterón de los triatomínos.
- 8.2. Obtención del suero. Preparación de las placas.
- 8.3. Análisis del perfil alimentario.
- 8.4. Identificación de ingestas de los triatomínos hasta 3 meses antes de su captura.
- 8.5. Determinación sistemática de los vertebrados hallados en las palmas o en su cercanía.
- 8.6. Otras fuentes potenciales de alimentación presentes en el palmar.

## DETERMINACIÓN DEL PERFIL ALIMENTARIO DE LOS TRIATOMINOS.

### Objetivo:

- Identificar las fuentes de alimentación de los triatominos capturados en *Butia yatay*.

### Materiales y Métodos:

#### ***Procesamiento de los contenidos del mesenterón de los triatominos.***

Los triatominos colectados en las palmas se procesaron individualmente. La sangre del promesenterón se obtuvo después de efectuar un corte entre la cabeza y el protórax y presionar el mismo hasta expulsar las gotas de contenido que se colocaron en uno de los receptáculos de una placa plástica para microhemaglutinación, por medio de un capilar graduado. Las muestras de sangre intestinal se diluyeron con una solución tamponada de Sörensen, pH 7,2, adicionándose a la mezcla 0,2 ml de violeta de genciana al 25 por mil, para eliminar cualquier tripanosoma que pudiera estar presente.

Los contenidos intestinales se mantuvieron a 4°C durante 24 horas y se conservaron luego congelados a - 20°C, o se impregnaron en papel Whatman N° 4, hasta la realización del estudio del perfil alimentario por doble difusión.

Los contenidos intestinales con las proteínas séricas se enfrentaron, en doble difusión en gel de agar, (Wisnivesky-Colli *et al.*,1980) a una batería de antisueros reactivos específicos de algunos de los animales detectados en la zona de estudio, considerados como posibles fuentes de alimentación.

El contenido del promesenterón de cada individuo se enfrentó a 14 antisueros: antihumano, anticánido, antifélido, antimúrido, anticricétido, antídél-

fido, antiblattaria, antireptil, antianfibio, antiéquido, anticabra (bóvido), antiave, antiporcino y antizorrino.

### ***Obtención de suero.***

Los antisueros utilizados provenían de la seroteca de la Unidad de Ecología de Reservorios y Vectores de Parásitos, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires y fueron gentilmente cedidos por la Dra. Cristina Wisnivesky-Colli.

### ***Preparación de las placas.***

Se utilizó como medio difusor una solución de agar Difco al 0,2% en tampón veronal sódico-ácido clorhídrico ph 8,2-8,4.

En cada uno de los portaobjetos limpios y desengrasados se vertió con una pipeta 3,5 ml de la solución de agar previamente calentada a baño María, hasta formar una capa de 3 mm de espesor. Las placas se colocaron en una cámara húmeda provista de una cama de gasa humedecida con azida sódica al 1% para evitar la formación de hifas de hongos y se guardaron en heladera durante 2 horas. Cuando el agar se solidificó se procedió a realizar las perforaciones en cada portaobjetos, utilizando un sacabocados diseñado para perforar 7 orificios, uno central y seis periféricos dispuestos en forma hexagonal.

A continuación se sembraron las 7 cavidades con pipetas Pasteur. En las cavidades centrales de cada portaobjetos se colocó el contenido del mesenterón de cada ejemplar y en las cavidades periféricas los diferentes antisueros, se incluyó además un testigo de solución fisiológica salina. Se trabajó sobre una tela negra para obtener una mejor visualización.

Las placas se incubaron en cámara húmeda a temperatura ambiente durante 48 horas para que se difundieran y luego se guardaron en heladera. Se

llevaron a cabo dos lecturas: la primera a las 24 horas y la segunda a las 48 horas, a efectos de observar la formación de las bandas de precipitación.

Se determinaron número y frecuencia de las diferentes fuentes alimentarias.

### ***Determinación sistemática de los vertebrados hallados en las palmas o en su cercanía.***

La identificación específica de las aves se efectuó según Narosky & Yzurieta, (1987) y Canevari *et al.*; (1991). Los mamíferos se clasificaron sistemáticamente según Cabrera & Yepes, (1940) y Olrog & Lucero (1981); los reptiles según Peters & Donoso-Barros, (1986) y los anfibios de acuerdo a Cei, (1980) y Gallardo, (1992).

### **Resultados:**

#### ***Análisis del perfil alimentario.***

Los triatomíneos (N= 143) pertenecientes a la muestra que fue procesada para determinar el perfil alimentario fueron previamente analizados por presión abdominal para verificar la presencia de tripanosomas en las heces. En 20 individuos (13,9%) se comprobó infección por *Trypanosoma cruzi* por observación directa y los 123 restantes resultaron negativos al parásito.

Los ejemplares de *T. sordida* en los que se estudió la fuente hematofágica por doble difusión pertenecían a los estados ninfal y adulto.

En 57 individuos (39,9%) no pudo extraerse material del contenido intestinal y en 86 (60,1%) si se logró obtener material para ser analizado. El 60,4% de los especímenes (N =52), si bien se les pudo extraer las proteínas sanguíneas del mesenterón, no reaccionó ante la batería de antisueros empleados.

El análisis de una mayor cantidad de ejemplares no fue posible por los siguientes motivos: a) mortalidad durante el traslado desde el área rural al laboratorio, y/o en el laboratorio, tal vez por las altas temperaturas reinantes en algunas oportunidades, b) ejemplares con mínimo o nulo contenido en el mesenterón, por lo que aún disecándolos no se obtuvo material, c) más de 50 individuos infectados por *T. cruzi* fueron destinados al análisis por P.C.R.

### ***Identificación de ingestas de los triatominos hasta tres meses antes de su captura.***

Las identificaciones obtenidas permitieron confirmar especímenes con alimentación única, o sea sobre un solo tipo de hospedero: ave y Dictyoptera-Blattaria.

Treinta y cuatro individuos de *T. sordida* reaccionaron a una fuente alimentaria (34/86), o sea un 39,5%. (Tabla 8-1.)

Un 30,2% (26/86) reaccionaron al suero antiave.

Una muestra de 72 ejemplares se enfrentó al suero antiblattaria, y el porcentaje de individuos reactivos fue de 11,1% (8/72). Las ingestas identificadas en las diferentes clases de edad de *Triatoma sordida* se presentan en la Tabla 8-2.

El 46,7% de ejemplares infectados por *T. cruzi* dieron reacciones positivas para el suero antiave.

Un 23,0% de individuos con reacción positiva al antisuero de ave se colectaron en palmas con nidos de aves.

En las ninfas de primero y segundo estadio no se pudo identificar las ingestas, dado que no fue posible sacar material del mesenterón y aún en las ninfas de tercer estadio, cuando se logró obtener el contenido intestinal, no reaccionaron o lo hicieron en pequeñas proporciones.

No se comprobaron reacciones positivas para *Didelphis albiventris*, ni para Rodentia, Cricetidae, a pesar de haberse encontrado nidos, materia fecal y otros indicios en varias palmas, incluso ejemplares de *T. sordida* infectados

por *Trypanosoma cruzi* colectados en palmeras con tales evidencias, reaccionaron al antisuero de ave como puede apreciarse en la Tabla 8-2.

### **Otras fuentes potenciales de alimentación presentes en el palmar.**

En el 28,0 % de las palmas infestadas (N =14) *T. sordida* fue localizada en nidos de aves encontrados en el interior de las palmas. Se logró identificar a aves de la Flia Furnariidae, (“colgaditos”), Tyrannidae, (*Machetornis rixosa*: “matadura” o “picabuey”).

Asimismo en el 14,0 % de palmeras (N =7) colonizadas por *T. sordida* se constató la presencia de nidos, materia fecal de comadrejas o fueron atrapados ejemplares de *Didelphis albiventris* (Fig. 8-1.). En el 10,0% de los biotopos se comprobó que estaban habitados por roedores, o se hallaron indicios de los mismos: nidos y materia fecal; los que no pudieron ser identificados ya que huyeron al disecar la palma.

Es interesante resaltar que los vertebrados citados en última instancia actuarían por una parte como reservorios del *T. cruzi*, ya que los triatomos hallados en las palmas, en las cuales habitaban estos vertebrados, estaban altamente infectados y por otra como potenciales recursos alimenticios.

Otras fuentes de alimentación de *T. sordida*, además de las citadas, estuvieron representadas por ranas: *Scinax nasica* 56,0% (N=28); murciélagos: *Myotis nigricans* 18,0% (N =9); verificándose en una sola ocasión la presencia de lagartijas: *Mabuya frenata*: 2,0 %.

Cabe resaltar que la oferta de alimento cambia en cantidad y calidad por que los vertebrados identificados, en muchas oportunidades, sólo actúan como visitantes temporarios.

Asimismo es sabido que la disponibilidad del recurso alimentario depende de la biomasa presente y en este caso de la conducta defensiva adoptada por *T. sordida* frente a distintos hospedadores: mamíferos, roedores, aves, etc, lo que significa que la cantidad de sangre obtenida en cada comida fue diferente, teniendo en cuenta la mayor o menor irritabilidad del hospedero.

## Discusión:

La mayor frecuencia de alimentación en los ejemplares analizados fue sobre ave.

Si bien los nidos de aves no estuvieron presentes en la totalidad de las palmas, el predominio de ingestas comprobado sobre ave podría deberse a que los pájaros que habitan los nidos representan la fuente de alimentación más estable de la que dispone *Triatoma sordida* en *Butia yatay*.

En algunas de las palmas en las cuales se colectaron diferentes estadios de *Triatoma sordida*, las que reaccionaron al suero antiave, se encontraron nidos de aves: “matadura” (*Machetornis rixosa*).

Se presupone que las 14 ninfas infectadas con *Trypanosoma cruzi*, que reaccionaron al antisuero de ave, adquirieron el parásito en alimentaciones previas sobre otros reservorios, entre ellos, principalmente *Didelphis albiventris*, teniendo en cuenta que las palmas en las que fueron capturadas éstas ninfas se registraron nidos y materia fecal de este marsupial.

*Triatoma sordida* también utiliza hemolinfa de insectos como recurso alimentario, dado que Dictyoptera-Blattaria aparece como segundo hospedador en orden de frecuencia.

En una de las palmeras en que se capturó una N4 infectada con *T. cruzi*, que reaccionó ante el antisuero de Dictyoptera-Blattaria, se detectó abundante materia fecal de un roedor no identificado. En otra palma en la que se hallaron 3 N5 alimentadas de hemolinfa, sólo se verificó la presencia del anfibio *Scinax nasica*. Cabe destacar que en ambas palmas se colectaron numerosas ninfas y adultos de Dictyoptera-Blattaria como integrantes de la fauna acompañante de *Triatoma sordida*.

En el caso del primer ejemplo citado podría interpretarse que la N4 se infectó con *T. cruzi*, en una ingesta anterior realizada sobre el roedor y ante la ausencia de otros vertebrados hospederos, utilizó a ejemplares de Dictyoptera-Blattaria como recurso alimenticio alternativo.

No obstante estos resultados, se plantea el interrogante de si la hemolinfa de los Artrópodos posee proteínas que a semejanza de las proteínas hemáticas de vertebrados posibiliten la ovogénesis y una oviposición eficiente.

En un 39,9% de la muestra, que incluía especímenes de diferentes clases de edad, no fue posible obtener sangre del promesenterón de *Triatoma sordida* lo que indica que esta especie es capaz de sobrevivir, aún en condiciones de ayuno prolongado a que está sometida en diferentes estaciones del año.

Asimismo la proporción importante de ejemplares que no reaccionaron ante ningún antisuero podría atribuirse a las mismas causales, es decir a la escasa cantidad de proteínas séricas obtenidas al disecar el triatomino, hecho que pone en evidencia que durante largos períodos no disponen de hospedador vertebrado.

Por lo que cabe resaltar que la oferta de alimento cambia en cantidad y calidad dado que los vertebrados identificados, en muchas oportunidades, sólo actúan como visitantes temporarios.

Asimismo es sabido que la disponibilidad del recurso alimentario depende de la biomasa presente y en este caso de la conducta defensiva adoptada por *T. sordida* frente a distintos hospedadores: mamíferos, roedores, aves, etc, lo que significa que la cantidad de sangre obtenida en cada comida fue diferente, teniendo en cuenta la mayor o menor irritabilidad del hospedero.

Como otra alternativa se presenta la hipótesis de que estos ejemplares de *Triatoma sordida* ocasionalmente se hayan alimentado de otros mamíferos infectados por *T. cruzi*, presentes en la zona de estudio y cuyos antisueños no se utilizaron en las pruebas de doble difusión.

Entre estas fuentes potenciales de alimento, ya comprobadas por otros investigadores como reservorios del *Trypanosoma cruzi*, cabe citarse a *Myotis nigricans* (murciélago, colectado en 4 muestreos), *Eptesicus argentinus* (murciélago), *Conepatus chinga* (zorrino), roedores del género *Ctenomys sp.* y *Cavia aperea*, edentados entre los que se encuentran *Dasypus novemcinctus*, *D. hibrydus* y *Euphractus sexcinctus* (mulita grande, tatú peludo, etc.).

En el caso de “vinchucas” infectadas por *Trypanosoma cruzi*, que reaccionaron al antisuero de ave y de Dictyoptera-Blattaria debe entenderse que la infección y la presencia de un tipo dado de sangre corresponden a fenómenos que ocurren en diferentes momentos. Así, los ejemplares pudieron haber adquirido la infección en diferentes estadios ninfales, pero la sangre infectada con el parásito fue digerida, por lo que las proteínas sanguíneas contenidas en el intestino del triatomino corresponden a ingestas posteriores sobre hospederos no infectados.

Tabla 8-1. Número y porcentaje de individuos de *Triatoma sordida* colectados en *Butia yatay*, discriminados por estado evolutivo, analizados por doble difusión y con ingesta identificada. Áreas rurales de la Provincia de Corrientes, Argentina. 1998-1999.

	N1	N2	N3	N4	N5	Adultos	Total
Ejemplares colectados	46	60	96	100	86	17	423
Ejemplares analizados	-	-	15	21	43	7	86
Ejemplares con 1 fuente de alimento	-	-	6	6	21	1	34
% de <i>T. sordida</i> reactivos	-	-	40,0	28,6	48,4	14,3	39,5

Tabla 8-2. Número de individuos de *Triatoma sordida*, con alimentación única y recurso alimentario identificado, colectados en *Butia yatay*. Áreas rurales de la Provincia de Corrientes. Argentina. 1998-1999.

	Blattaria	Ave
Macho	-	1
N5	3	18 **
N4	2*	4***
N3	3	3***
Total	8	26

\* 1 ejemplar infectado por *T. cruzi*

\*\* 7 ejemplares infectados por *T. cruzi*

\*\*\* Todos los ejemplares infectados por *T. cruzi*

Fig.8-1. *Didelphis albiventris* capturada mediante una trampa instalada junto a un ejemplar de *Butia yatay*. Colonia Laurel. Departamento de San Roque. Provincia de Corrientes. Argentina.1999.

