

EL XENODIAGNOSTICO ARTIFICIAL EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Rafael A. Cedillos,¹ J. W. Torrealba,² R. J. Tonn,¹ W. Mosca³ y A. Ortegón⁴

*Se estudia una nueva técnica de xenodiagnóstico artificial, comparando la efectividad de diversos tipos de membranas y de anticoagulantes para favorecer la alimentación, a temperatura ambiente, de ninfas de *Rhodnius prolixus*.*

Introducción

El xenodiagnóstico, el hemocultivo y el examen microscópico de sangre fresca y por concentración son los métodos que se utilizan con mayor frecuencia para hacer el diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas. De ellos, el xenodiagnóstico es, hasta ahora, el método más sensible, en especial en la fase crónica de la infección (1-5), siguiéndole en importancia el hemocultivo (6) y el examen de sangre por concentración (5).

Por otra parte, la efectividad del xenodiagnóstico para descubrir *Trypanosoma cruzi*, está en relación directa con el número de insectos que se utiliza. Schenone *et al.* (3) encontraron una positividad creciente en pacientes chagásicos crónicos, que varió de 46,1 a 69,1% cuando aplicaron, respectivamente, una caja y seis cajas de xenodiagnóstico que contenían cada

una de ellas siete ninfas de *Triatoma infestans* en el tercer estado ninfal. La aplicación de tal número de insectos representa, sin embargo, una molestia para los pacientes debido a la acción traumática de la picadura; además, en los lugares donde se utiliza *Rhodnius prolixus*, las reacciones de hipersensibilidad causadas por la saliva de esta especie constituyen un serio inconveniente. Por estos motivos, varios investigadores han intentado estandarizar el xenodiagnóstico artificial, utilizando diversas membranas para alimentar a los triatomíneos (7-9). Los resultados obtenidos, sin embargo, no han sido comparables a los del xenodiagnóstico natural porque con esa técnica los insectos ingieren menor cantidad de sangre. Por otra parte, las técnicas no son adecuadas para el trabajo de campo ya que es necesario contar con dispositivos especiales para mantener la sangre a una temperatura de 37°C.

El presente estudio tiene por objetivo presentar la técnica de xenodiagnóstico artificial ideada por uno de los autores en 1970, y que se utiliza desde entonces en los trabajos docentes de campo de la cátedra de parasitología de la Universidad de Carabobo. Para ello, se compara la

¹ División de Prevención y Control de Enfermedades, Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C., EUA.

² Cátedra de Parasitología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

³ Centro Panamericano de Investigación y Adiestramiento en Lepra y Enfermedades del Trópico (CEPIALET), Caracas, Venezuela.

⁴ Centro de Investigaciones y Referencia sobre Biología y Control de Vectores CIRBCV/OPS, Maracay, Venezuela.

adecuación de diversas membranas y anticoagulantes para permitir a los triatomíneos una ingestión de sangre similar a la obtenida con el xenodiagnóstico natural.

Materiales y métodos

Triatomíneos

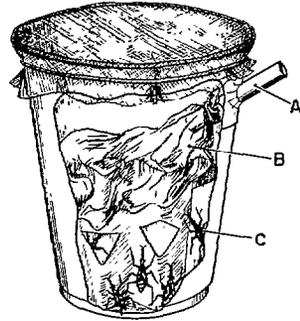
Se emplearon especímenes de *Rhodnius prolixus*, cepa Cojedes (Venezuela) y cepa El Salvador, mantenidos en el laboratorio por más de cinco años. En cada xenodiagnóstico artificial o natural se usaron 10 ninfas en el cuarto estado a las que se había mantenido sin alimentar durante cuatro semanas, como mínimo. La cantidad de sangre ingerida por cada xenodiagnóstico se calculó determinando el peso en miligramos de las 10 ninfas, inmediatamente antes y después de alimentadas.

Xenodiagnóstico artificial

El xenodiagnóstico artificial consistió en alimentar ninfas de *Rhodnius prolixus* con sangre a través de una membrana artificial.

Recipiente para la alimentación de los triatomíneos. El recipiente para alimentar a las ninfas (figura 1), consistió de: a) un vaso de plástico de 200 ml de capacidad y de 8 cm de altura, por 6,5 cm de diámetro en su extremidad abierta; b) dos fragmentos de cartulina de 14 cm de largo por 5 cm de alto, colocados en dobleces en el fondo del vaso para permitir la movilización de las ninfas; c) un tubo de plástico de 5 cm de largo por 0,8 cm de diámetro; d) una pequeña bolsa de 6 cm de longitud, hecha con un fragmento de preservativo o con segmentos cuadrados, de 12 cm de lado, de tripa de ganado vacuno o papel parafinado, con capacidad para 5 ml de sangre, que se fijó mediante

FIGURA 1—Aparato para alimentar los triatomíneos.



A. Tubito que comunica la membrana con el exterior y por donde se introduce la sangre en la membrana.

B. Membrana para permitir que se alimenten las ninfas.

C. Ninfas.

una banda de hule o un fragmento de hilo a una de las extremidades del tubo de plástico, y e) un cuadrado de gasa, de 14 cm de largo, para cubrir el vaso y evitar así que se escaparan los insectos.

Membranas. Para la alimentación de los triatomíneos se utilizaron tres tipos de membranas: a) preservativo lubricado, marca "Sultán" (Akwel Industries, Dothan, Alabama, EUA); b) tripa de ganado vacuno (Long and Long, 69 Roosevelt Ave., Belleville, New Jersey 07109, EUA), y c) papel parafinado "M" (American Can Co., Ltd., Neenah, Wisconsin, EUA). Los preservativos se lavaron primero con agua de chorro abundante, después con alcohol etílico al 70% en un vaso de vidrio durante una noche y posteriormente con solución salina al 0,85%, en la que se mantuvieron en refrigeración hasta su uso. La tripa de ganado vacuno y el papel parafinado "M" se usaron sin ninguna preparación especial.

Anticoagulantes. Se utilizaron dos tipos de anticoagulantes: a) heparina de sodio en tubos de vidrio de 100 × 15 mm (Becton Dickinson & Co., EUA), en la proporción de 143 unidades USP para 10 ml de sangre o 200 unidades en 0,2 ml de una

solución base de heparina de sodio Grado I (Sigma Chemical Co., EUA), y b) citrato de sodio (Baker Analyzed Reagent) al 3,8% en agua destilada, de la cual se depositaron cinco gotas en la bolsa antes de agregar la muestra de sangre.

Procedimientos. Para cada xenodiagnóstico se usaron 5 ml de sangre venosa humana, extraída en cantidades de 10 ml del mismo donante, para preparar de manera simultánea dos xenodiagnósticos. Inmediatamente después de la extracción, la sangre se vertió en la bolsa de cada uno de los recipientes de los xenodiagnósticos a través del tubo plástico. Los xenodiagnósticos así preparados se dejaron una hora en la oscuridad a temperatura ambiente (26-28°C) para permitir que los triatomíneos se alimentaran. Para efectos comparativos, algunos experimentos se realizaron a temperatura ambiente más baja (20-24°C), y en estufa a 37°C. El término "bien alimentadas" se utilizó para identificar las ninfas cuyo abdomen se distendía completamente por la cantidad de sangre ingerida.

La interpretación de los resultados se basó en el análisis estadístico por la prueba de *t* de la cantidad promedio de sangre ingerida por los triatomíneos que se utilizaron en los diferentes grupos de xenodiagnósticos.

Xenodiagnóstico natural

El xenodiagnóstico natural consistió en alimentar ninfas de triatomíneos directamente sobre la piel de un huésped determinado, de acuerdo con la técnica descrita por Dias (10) y Pifano (1). Se usaron 10 ninfas de *R. prolixus* en el cuarto estado, que procedían del mismo lote que se utilizó para el xenodiagnóstico artificial. Los insectos se alimentaron durante una hora en el mismo huésped donador de la sangre que sirvió para alimentar al xenodiagnóstico artificial.

Resultados

Xenodiagnóstico artificial con membrana de preservativo: efecto comparativo de heparina y citrato de sodio al 3,8% como anticoagulantes

En el cuadro 1 se presentan los datos sobre la cantidad de sangre ingerida por los triatomíneos a través de la membrana de preservativo en 11 xenodiagnósticos, utilizando dos tipos diferentes de anticoagulantes. Puede observarse que en los xenodiagnósticos con heparina, 41 (37,3%) de 110 ninfas (10 ninfas por xenodiagnóstico) ingirieron 10,289 g de sangre. La cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico varió de 0,221 a 2,039 g, con una ingestión media de $0,935 \pm 0,187$ g por xenodiagnóstico. En cambio, en los xenodiagnósticos con citrato de sodio únicamente 21 (19,1%) de las ninfas ingirieron 5,096 g de sangre. La cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico fue de 0,0 a 1,100 g, con una ingestión media de $0,463 \pm 0,109$ g. Existió, por consiguiente, una diferencia de 0,472 g en la cantidad media de sangre ingerida a favor de los xenodiagnósticos preparados con heparina, diferencia que fue estadísticamente significativa al ser analizada por la prueba de *t* (véase cuadro 4).

Xenodiagnóstico artificial con membrana de tripa de ganado vacuno: efecto comparativo de heparina y citrato de sodio al 3,8% como anticoagulantes

En los xenodiagnósticos que se usó heparina, 51 (63,8%) de 80 ninfas (ocho xenodiagnósticos) ingirieron 12,859 g de sangre (cuadro 2). La cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico varió de 0,720 a 2,460 g, con una ingestión media de $1,607 \pm 0,251$ g de sangre por xenodiagnóstico. En cambio, en los que se usó

CUADRO 1—Resultados comparativos de xenodiagnósticos artificiales preparados con membranas de preservativo, y heparina y citrato de sodio al 3,8% como anticoagulantes.^a

Experimento No.	Preservativo y heparina		Preservativo y citrato de sodio	
	No. de ninfas alimentadas	Sangre ingerida en g	No. de ninfas alimentadas	Sangre ingerida en g
1	1	0,130	4	0,810
2	4	1,030	4	1,100
3	7	1,720	3	0,570
4	5	0,960	0	0,0
5	6	2,039	2	0,700
6	2	0,589	0	0,005
7	1	0,285	1	0,319
8	1	0,221	1	0,098
9	2	0,395	2	0,444
10	7	0,703	1	0,275
11	5	0,217	3	0,775
Total	41	10,289	21	5,096

^a Se usaron 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* en el cuarto estado para cada xenodiagnóstico.

cittrato de sodio, 26 (32,5%) de las 80 ninfas ingirieron 7,123 g de sangre. La cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico varió de 0,118 a 2,510 g, con un consumo promedio de $0,890 \pm 0,261$ g por xenodiagnóstico. La diferencia de 0,717 g en la cantidad media de sangre ingerida por los xenodiagnósticos con heparina, fue estadísticamente significativa (véase cuadro 4).

Efecto comparativo entre xenodiagnósticos artificiales preparados con membranas de preservativo y tripa de ganado vacuno y heparina como anticoagulante

Un total de 46 (38,3%) de 120 ninfas (12 xenodiagnósticos) ingirieron 10,800 g de sangre a través de la membrana hecha con preservativo (cuadro 3). La cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico va-

CUADRO 2—Resultados comparativos de xenodiagnósticos artificiales preparados con membranas de tripa de ganado vacuno, y heparina y citrato de sodio al 3,8% como anticoagulantes.^a

Experimento No.	Tripa de ganado vacuno y heparina		Tripa de ganado vacuno y citrato de sodio	
	No. de ninfas alimentadas	Sangre ingerida en g	No. de ninfas alimentadas	Sangre ingerida en g
1	4	0,960	9	2,510
2	6	2,267	2	0,620
3	6	1,480	5	1,360
4	8	1,645	3	0,540
5	4	0,720	1	0,118
6	4	0,914	2	0,775
7	9	2,413	2	0,615
8	10	2,460	2	0,585
Total	51	12,859	26	7,123

^a Se usaron 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* en el cuarto estado para cada xenodiagnóstico.

CUADRO 3—Resultados comparativos de xenodiagnósticos artificiales preparados con membranas de preservativo y de tripa de ganado vacuno, y heparina como anticoagulante.^a

Experimento No.	Preservativo y heparina		Tripa de ganado vacuno y heparina	
	No. de ninfas alimentadas	Sangre ingerida en g	No. de ninfas alimentadas	Sangre ingerida en g
1	5	0,960	4	0,960
2	4	1,030	4	0,960
3	3	0,810	5	1,460
4	5	1,050	10	1,980
5	5	0,500	8	0,880
6	6	2,039	6	2,267
7	2	0,590	6	1,480
8	1	0,285	8	1,645
9	1	0,221	4	0,720
10	2	0,395	4	0,914
11	7	1,703	9	2,413
12	5	1,217	10	2,460
Total	46	10,800	78	18,139

^a Se usaron 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* en el cuarto estado para cada xenodiagnóstico.

rió de 0,221 a 2,039 g, con una ingestión media $0,900 \pm 0,162$ g. En cambio, 78 (65,0%) de 120 ninfas ingirieron 18,139 g de sangre a través de la membrana preparada con tripa de ganado vacuno. La cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico varió de 0,720 a 2,460 g, con una ingestión media de $1,512 \pm 0,185$ g. Se observó, por consiguiente, una diferencia significativa de 0,612 g a favor de los xenodiagnósticos artificiales preparados con la membrana de tripa de ganado vacuno.

Efecto comparativo de xenodiagnósticos artificiales alimentados a temperatura ambiente y a 37°C en estufa

La cantidad de sangre ingerida por los xenodiagnósticos alimentados a 37°C en estufa varió, en ocho experimentos, de 0,180 a 0,640 g cuando se usó la membrana de tripa de ganado vacuno y heparina. Tales cantidades representan la mitad de la ingestión lograda a temperatura ambiente con la misma combinación de membrana y anticoagulante. Los resulta-

dos fueron aún menores al usar membrana de preservativo y citrato de sodio al 3,8%.

Efecto comparativo entre el xenodiagnóstico artificial y el xenodiagnóstico natural

La cantidad de sangre ingerida por los xenodiagnósticos artificiales preparados con tripa de ganado vacuno y heparina varió, en 10 pruebas comparativas realizadas con conejos, de 0,680 a 2,172 g, con un promedio de 1,330 g por xenodiagnóstico. En cambio, la ingestión de sangre por xenodiagnóstico natural varió de 0,926 a 1,870 g, con un promedio de 1,309 g por xenodiagnóstico.

Análisis estadístico

El análisis estadístico (cuadro 4) indicó que el xenodiagnóstico artificial con membrana de tripa de ganado vacuno y heparina como anticoagulante, fue el más efectivo para alimentar las ninfas de *R.*

CUADRO 4—Datos comparativos de la ingestión promedio de sangre por xenodiagnóstico artificial, según tipo de membrana y anticoagulante utilizados.^a

Tipo de membrana	No. de xenodiagnósticos comparados	Sangre ingerida por xenodiagnóstico (\bar{X} en g)		Prueba de <i>t</i>
		Con heparina	Con citrato de sodio	
Preservativo	11	0,935 ± 0,187	0,463 ± 0,109	<i>p</i> ≤ 0,01
Tripa de ganado vacuno	8	1,607 ± 0,251	0,890 ± 0,261	<i>p</i> ≤ 0,01

^a Se usaron 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* en el cuarto estado para cada xenodiagnóstico.

prolixus. El consumo promedio de sangre por xenodiagnóstico fue de 1,607 g, cantidad muy superior a la ingestión promedio de sangre que se obtuvo al usar preservativo y heparina (0,935 g), tripa de ganado vacuno y citrato de sodio al 3,8% (0,890 g), y preservativo y citrato de sodio (0,463 g).

Discusión

Membranas

La membrana de preservativo, que se utilizó de manera rutinaria para el xenodiagnóstico artificial, resultó definitivamente inferior a la tripa de ganado vacuno. Esto quedó demostrado no sólo por la menor cantidad de sangre ingerida por xenodiagnóstico, sino también por la variación de los resultados. Se hicieron, por otra parte, algunos experimentos con preservativos no lubricados, o de colores, obteniéndose resultados variables muy semejantes a los logrados con preservativos lubricados.

Los resultados con la membrana de ganado vacuno son similares a los obtenidos por Nussenzweig y Sonntag (7) y Freitas *et al.* (8), quienes usaron fragmentos frescos de intestino de buey para alimentar xenodiagnósticos con cinco ninfas en el cuarto y quinto estado de *Triatoma vitticeps* con sangre calentada a 37°C en baño de María. Los últimos autores (8) reportaron

una ingestión promedio de sangre de 1,85 g por xenodiagnóstico, cantidad que se aproxima al consumo de 1,607 g obtenido en este estudio con 10 ninfas de *R. prolixus* en el cuarto estado. La diferencia en la cantidad de sangre ingerida con un menor número de ninfas de *T. vitticeps* se debe probablemente al mayor tamaño de esta especie. Sin embargo, la técnica que se describe en este trabajo tiene las siguientes ventajas sobre el método diseñado por Sonntag y Freitas (7, 8): a) la alimentación de las ninfas se realiza a temperatura ambiente, sin necesidad de aparatos especiales para mantener a 37°C la temperatura de la sangre, y b) la membrana artificial utilizada (tripa de ganado vacuno) puede obtenerse en el comercio ya elaborada. Otros investigadores han usado en el xenodiagnóstico artificial, o en estudios de reproducción de triatomíneos, diferentes tipos de membranas de origen animal, generalmente frescas o recién preparadas, con resultados cualitativos satisfactorios. Romaña y Gil (12) en 1947 utilizaron piel de ratón o de cobayo recién sacrificados; Silva (9) en 1958 usó fragmentos de piel de gallina para alimentar ninfas en el tercer y cuarto estado de *Triatoma infestans* y Harington (11) empleó el ciego de ratas y conejos para alimentar, en estudios con fines nutricionales, todos los estados ninfales de *R. prolixus*. No obstante, tales técnicas han sido poco prácticas por la desventaja

de usar membranas frescas de animales recién sacrificados, que son difíciles de preparar y almacenar.

Por último, existen informes sobre el uso de otros tipos de membranas artificiales para alimentar triatómíneos u otros insectos hematófagos. Langley y Pimley (13) ensayaron con éxito la alimentación de varias especies de triatómíneos a través de membranas de hule siliconado y de papel parafinado "M". El hule siliconado fue probado igualmente con éxito por Bauer y Wetzel (14) en la alimentación de *Glossina morsitans*. Aun cuando nuestra experiencia con membranas de hule se ha limitado al uso de preservativos, creemos que sería interesante comparar los efectos de membranas de hule recubiertas de silicón. En cambio, nuestros experimentos con papel parafinado "M" resultaron un fracaso, al no permitir una alimentación promedio mayor de 0,300 g de sangre por xenodiagnóstico, tanto a temperatura ambiente como en estufa a 37°C. Estos resultados tal vez estén relacionados con la dificultad de hacer una bolsa adecuada de papel parafilm para contener la sangre, o bien se deban a la escasa transmisión del calor de la sangre a través de la textura de dicha membrana.

Temperatura

La ingestión de sangre por xenodiagnóstico fue mayor a temperatura ambiente de 26-28°C, y aun a temperatura ambiente de 20-24°C, que a 37°C en estufa. La pobre alimentación de los xenodiagnósticos a esta última temperatura quizás se deba al cambio brusco de temperatura, pues a 37°C se observó mayor excitabilidad de los insectos y una respuesta lenta para acercarse a la sangre y tratar de alimentarse. Por otra parte, los resultados a temperatura ambiente más baja (20-28°C) fueron mejores cuanto más rápidamente se depositó la sangre extraída del

donante en la bolsa del xenodiagnóstico. El estímulo que ejerce sobre los triatómíneos el calor de la sangre recién extraída, ha sido comunicado con anterioridad por Harington (11) y Nicole y Mathis (15).

Anticoagulantes

La heparina, en proporción de 143 ó 200 unidades USP para cada 10 ml de sangre, fue más efectiva que el citrato de sodio al 3,8% para favorecer mayor ingestión de sangre por las ninfas en los xenodiagnósticos artificiales preparados con tripa de ganado vacuno o preservativo. Sin embargo, la combinación de tripa de ganado vacuno con heparina, como puede observarse en el cuadro 4, produjo mejores resultados que la combinación de dicha membrana con citrato de sodio. Estos resultados tal vez se relacionen con la mejor acción anticoagulante de la heparina usada, pues las ninfas alimentadas con sangre citrada por lo general mostraron el abdomen distendido y transparente debido a que habían ingerido plasma. En cambio, otros investigadores han comunicado buenos resultados con citrato de sodio y oxalato como anticoagulante. Una diferencia de sabor entre la sangre citrada y la heparinizada podría descartarse con base en los resultados obtenidos por Harington (11), quien encontró que *R. prolixus* tenía muy poca discriminación para escoger su alimento entre varios nutrientes: leche descremada, glóbulos rojos lavados, sangre de diversos animales, suero de caballo, soluciones salinas y solución de pectonas.

Resultados comparativos entre el xenodiagnóstico artificial y el xenodiagnóstico natural

En las 10 pruebas comparativas que se realizaron con conejos, la cantidad pro-

medio de sangre ingerida por xenodiagnóstico artificial (1,330 g) fue muy similar a la ingerida por el xenodiagnóstico natural (1,309 g). Sin embargo, la ingestión de sangre varió más en los xenodiagnósticos artificiales que en los naturales debido, probablemente, a los factores externos ya discutidos, que interfieren con la buena alimentación de las ninfas que se utilizaron en el xenodiagnóstico artificial, entre ellos la pérdida rápida del calor de la sangre extraída, la textura de las membranas artificiales, la dispersión de los insectos al manipular el xenodiagnóstico y el período mínimo de ayuno de dichos insectos.

La técnica de xenodiagnóstico artificial que se describe es una técnica sencilla, práctica y menos traumática que el xenodiagnóstico natural que se utiliza en el diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas. Por otra parte, el uso del xenodiagnóstico natural se ha asociado, con frecuencia, a reacciones cutáneas de tipo alérgico provocadas por la saliva de los triatomíneos utilizados en el examen (16). Así, Dias (17) en un estudio comparativo realizado en pacientes de Bambuí, Brasil, observó reacciones alérgicas leves principalmente de tipo eritematoso y localizadas en el área de alimentación de los triatomíneos, en 50 (63,3%) de 79 pacientes a quienes se les habían aplicado xenodiagnósticos naturales con ninfas de *Triatoma infestans*; en 19 (76,0%) de 25 pacientes examinados con ninfas del género *Rhodnius* (*R. neglectus* y *R. prolixus*) y en 12 (44,4%) de 27 pacientes examinados con ninfas de *Panstrongylus megistus*. La intensidad y duración de los síntomas locales fue mayor en los pacientes a los que se aplicaron ninfas de *Rhodnius* sp. En cambio, Soto (18), en Venezuela, observó "intensa reacción alérgica local caracterizada por eritema, pápulas e intenso prurito, e incluso en uno de los pacientes edema de todo el antebrazo", en varios pacientes a quienes aplicó un se-

gundo xenodiagnóstico natural con ninfas de *R. prolixus*.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se considera que el xenodiagnóstico artificial puede llegar a substituir al xenodiagnóstico natural en el diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas, en especial en países como Colombia, Venezuela, Nicaragua, Honduras, Guatemala y El Salvador en donde *R. prolixus* es prevalente y, además, agente de reacciones alérgicas cuando se utiliza en el xenodiagnóstico natural. El uso de esta especie presenta también la posibilidad de incrementar la efectividad del método para detectar *T. cruzi* o *T. rangeli* en humanos al aumentar el número de ninfas por xenodiagnóstico. Este último aspecto debe aún ser investigado, en comparación con el xenodiagnóstico natural.

No obstante las ventajas aparentes del xenodiagnóstico artificial para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas a nivel hospitalario, su uso para estudios epidemiológicos de campo es muy limitado, pues los pacientes se resisten al efecto traumático de la extracción de sangre venosa. Sin embargo, para este tipo de estudios es siempre preferible la investigación serológica, que puede fácilmente realizarse con muestras de sangre extraídas por punción capilar del dedo.

Resumen

Se estudia la efectividad de una nueva técnica de xenodiagnóstico artificial y se compara la adecuación de diversos tipos de membranas y de anticoagulantes para favorecer, a temperatura ambiente (20-28°C), un mayor consumo de sangre por xenodiagnóstico. El xenodiagnóstico artificial consistió en alimentar con sangre a través de una membrana artificial a 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* en el cuarto estado ninfal. La combinación de tripa de

ganado vacuno y heparina fue la más efectiva, al permitir un consumo promedio de sangre por xenodiagnóstico de 1,607 g, en comparación con los resultados obtenidos con preservativo y heparina (0,935 g), tripa de ganado vacuno y citrato de sodio al 3,8% (0,890 g), y preservativo y citrato de sodio (0,463 g). La ingestión promedio de sangre por xenodiagnóstico artificial con tripa de ganado va-

cuno y heparina resultó muy similar al consumo promedio de sangre obtenido con el xenodiagnóstico natural. Se discuten, además, las ventajas del xenodiagnóstico artificial para los países donde prevalece *R. prolixus*, puesto que el xenodiagnóstico natural con esa especie provoca en humanos, por lo general, reacciones alérgicas de variada intensidad y frecuencia. ■

REFERENCIAS

1. Pifano, F. C. El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas en fase crónica. *Arch Venez Patol Trop Parasitol Med* 2:121-156, 1954.
2. Maekelt, G. A. A modified procedure of xenodiagnosis of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 13(1):11-15, 1964.
3. Schenone, H., Alfaro, E., Reyes, H. y Taucher, H. Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. *Bol Chil Parasitol* 23:149-154, 1968.
4. Marsden, P. D. South American trypanosomiasis (Chagas' Disease). *Int Rev Trop Med* 4:97-121, 1971.
5. Cerisola, J. A., Rohwedder, R., Segura, E. L., del Prado, C. E., Alvarez, M. y Martini, G. J. W. In: *El xenodiagnóstico*. Ministerio de Bienestar Social, Buenos Aires, Argentina, 1974. pp. 127.
6. Chiari, E. y Brener, Z. Contribuição ao diagnóstico parasitológico da Doença de Chagas na fase crónica. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 8:134-138, 1966.
7. Nussenzweig, V. y Sonntag, R. Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeros resultados positivos. *Rev Paul Med* 40:41-43, 1952.
8. Freitas, I. L. P., Nussenzweig, V., Amato Neto, A. y Sonntag, R. Estudio comparativo entre xenodiagnósticos practicados *in vivo* e *in vitro* en formas crónicas de molestia de Chagas. *O Hospital* 47:181-188, 1955.
9. Silva, I. I. Sobre la conveniencia de realizar el xenodiagnóstico fuera del organismo en todos los casos. *Rev Fac Med Tucuman* 1:405-415, 1958.
10. Dias, E. Xénodiagnostique appliqué a la trypanosomiase americaine. *C R Soc Biol (Paris)* 118:188-189, 1934.
11. Harington, J. S. A simple apparatus for the artificial feeding of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). *Parasitology* 50:273-277, 1960.
12. Romaña, C. y Gil, J. Xenodiagnóstico artificial. *An Inst Med Reg (Tucumán)* 2:57-60, 1947.
13. Langley, P. A. y Pimley, W. Rearing triatominae bugs in the absence of a live host and some effects of diet on reproduction in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). *Bull Enterol Res* 68:243-250, 1978.
14. Bauer, B. y Wetzel, H. A new membrane for feeding *Glossina morsitans* Westw. (Diptera, Glossinidae). *Bull Enterol Res* 65:563-565, 1976.
15. Nicollet, P. y Mathis, M. Le thermotropisme facteur déterminant primordial pour la piqûre des reduvidés hematophages. *C R Soc Biol (Paris)* 135:25, 1941.
16. Zeledón, R. y Rabinovich, J. E. Chagas' disease: An ecological appraisal with special emphasis on its insects vectors. *Ann Rev Entomol* 26:101-133, 1981.
17. Dias, J. C. P. Manifestações cutâneas no prática do xenodiagnóstico. *Rev Bras Malariol Doenças Trop* 20:247-257, 1968.
18. Soto, U. R. El xenodiagnóstico. Experiencia personal en 100 casos de enfermedad de Chagas crónica. *Kasmera (Venez)* 3(3):167-225, 1970.

Artificial xenodiagnosis in Chagas' disease (Summary)

A new artificial xenodiagnostic technique was assessed and a comparison was made of various types of membranes and anticoagulants with respect to their effectiveness in facilitating maximum blood utilization at room temperature (20-28°C) in the process of xenodiagnosis. The artificial xenodiagnostic procedure consisted of feeding blood through an artificial membrane to 10 *Rhodnius prolixus* nymphs in the fourth nymphal stage. The most effective of the combinations was that of bovine gut and heparin which allowed an average blood

consumption per xenodiagnosis of 1,607 g. The other results were 0,935 g of blood with condom and heparin; 0,890 g with bovine gut and 3,8% sodium citrate solution; and 0,463 g with condom and sodium citrate. Average blood uptake per artificial xenodiagnosis with bovine gut and heparin was very close to that of natural xenodiagnosis. The advantages of artificial xenodiagnosis are also discussed for countries where *R. prolixus* is prevalent, since natural xenodiagnosis with this species generally produces allergic reactions of varying intensity and frequency in human beings.

O xenodiagnóstico artificial na doença de Chagas (Resumo)

Estuda-se a eficácia de uma nova técnica de xenodiagnóstico artificial e compara-se a adequação de vários tipos de membranas e de anticoagulantes, para favorecer à temperatura ambiente (20-28°C), maior consumo de sangue por xenodiagnóstico. O xenodiagnóstico artificial consistiu na alimentação com sangue através de uma membrana artificial, de 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* no seu quarto estado como tais. A combinação de tripa de gado vacum e heparina foi a mais eficaz, ao permitir um consumo médio de sangue por xenodiagnóstico de 1,607 g, em comparação com os resultados obtidos com preservativo e heparina (0,935 g);

tripa de gado vacum e citrato de sódio a 3,8% (0,890 g) ou com preservativo e citrato de sódio (0,463 g). A ingestão média de sangue pelo xenodiagnóstico artificial com tripa de gado vacum e heparina mostrou ser muito semelhante ao consumo médio de sangue obtido pelo xenodiagnóstico natural. Discutem-se outrossim, as vantagens do xenodiagnóstico artificial para países onde prevalece o *R. prolixus*, visto que o xenodiagnóstico natural com essa espécie, provoca geralmente nos seres humanos, reações alérgicas de frequência e intensidade que variam.

Le xénodagnostic artificiel dans la maladie de Chagas (Résumé)

On a étudié l'efficacité d'une nouvelle technique de xénodagnostic artificiel et l'on compara l'adaptation de divers types de membranes et d'anticoagulants pour favoriser, à température ambiante (20-28°C), une plus grande consommation de sang par xénodagnostic. Le xénodagnostic artificiel consistait à alimenter, avec du sang, 10 nymphes de *Rhodnius prolixus* dans leur quatrième état d'évolution, à travers une membrane artificielle. La combinaison de boyau de bovin et d'héparine fut la plus efficace, permettant une consommation moyenne de sang par xénodagnostic de 1,607 g, par rapport aux résultats obtenus avec un

préservatif et de l'héparine (0,935 g), du boyau de bovin et du citrate de sodium à 3,8% (0,890 g), ou avec un préservatif et du citrate de sodium (0,463 g). L'absorption moyenne de sang par xénodagnostic artificiel avec boyau de bovin et héparine donna des résultats très similaires à l'absorption moyenne de sang obtenue avec le xénodagnostic naturel. On étudie, aussi, dans cet article, des avantages du xénodagnostic artificiel pour les pays où abonde *R. prolixus*, étant donné que le xénodagnostic naturel avec cette espèce provoque, en général, chez l'homme, des réactions allergiques d'intensité et de fréquence diverses.