**ESTUDO DE POPULAÇÕES DOMICILIADAS DE
Panstrongylus megistus DE DIFERENTES REGIÕES
GEOGRÁFICAS BRASILEIRAS COM POSSÍVEIS
DIFERENÇAS DO METABOLISMO ENERGÉTICO
ATRAVÉS DE DETERMINAÇÕES ENZIMÁTICAS E
ISOENZIMÁTICAS**

LÊDA TEIXEIRA COELHO

**Tese de Doutorado apresentada à Faculdade
de Saúde Pública da Universidade de São Paulo,
Departamento de Epidemiologia, para obtenção
do título de "Doutor em Saúde Pública".**

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ MARIA SOARES BARATA

SÃO PAULO

1985

ESTA TESE É DEDICADA

À MEMÓRIA DO MEU PAI, MINHA MÃE E DARIO

AOS MEUS IRMÃOS E SOBRINHOS

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Prof.Dr. José Maria Soares Barata, nosso orientador, que tornou possível este trabalho.
- Ao Prof.Dr. Gunter Hoxter, que com invulgar capacidade científica e com valiosas sugestões e críticas, nos auxiliou na elaboração deste trabalho.
- Ao Prof.Dr. Durval Mazzei Nogueira, pelo apoio no transcorrer de nossa atividade profissional.
- Ao Prof.Dr. Bruno Strufaldi, pelo apoio, confiança e sugestões de metodologia bioquímica empregada.
- À Profa.Dra. Lourdes de Freitas Carvalho, por consentir o uso dos equipamentos do Laboratório Clínico do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo.
- Ao Prof.Dr. Alfredo dos Reis Viegas pelo apoio e sugestões a nós dispensados.
- Ao Prof.Dr. Cid Guimarães, pela colaboração e atenção durante a nossa permanência na Faculdade de Saúde Pública.
- À Profa.Dra. Sandra Maria Ottati Nitrini, pelo estímulo no transcorrer do curso de Saúde Pública.
- À Profa.Dra. Maria Coeli Campedelli, pelo empréstimo do material didático geográfico.
- À Profa.Dra. Sabina Léa D. Gotlieb, pela colaboração nas tabelas.
- Ao Prof.Dr. Antônio Flávio Midio, pelo auxílio prestado.
- À Srta. Margareth Sueli Peraçoli, pelo apoio recebido.

- À Sra. Joselita Silvia B. Passos, pela seleção dos espécimens adequados.
- À Srta. Silvia Mara Seixas de Barros, pelos trabalhos datilográficos.
- Aos amigos José e Elda Pereira de Jesus, pelos desenhos.
- À Srta. Sarah Cristina T. Coelho, pela colaboração nas traduções das Referências Bibliográficas.
- À Sra. Odete Maria I. Barbosa, pelos cuidados dispensados aos espécimes.
- À Sra. Dayse Pires Noronha, pela revisão bibliográfica.
- Aos Amigos Doutores: Célia Maria S. Braga, Elda M.H. Pastor, Décio R. Nitrini, Silvia Pieroni, Telma Lucia Andrade e Joaquim Silva, pelo apoio.
- E o meu agradecimento especial ao colega, amigo e verdadeiro irmão, Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro, pela colaboração.

ÍNDICE DE MATÉRIA

	pag.
1. INTRODUÇÃO -----	1
1.1 Aspectos de domiciliação Triatomínea e aspectos naturais -----	2
1.2 Aspectos biogeográficos da área estudada -----	5
1.3 Aspectos comportamentais e metabólicos -----	9
2. MATERIAL E MÉTODOS -----	16
2.1 População triatomínea -----	16
2.2 Obtenção das amostras e preparo do homogenato -----	16
2.3 Dosagem de Proteína -----	17
2.4 Dosagem de Glicose -----	17
2.5 Determinação da atividade da LD -----	17
2.6 Determinação da atividade da CK -----	17
2.7 Isoenzimograma da LD e CK -----	17
2.8 Métodos estatísticos -----	18
3. RESULTADOS -----	19
4. DISCUSSÃO -----	26
4.1 Proteínas -----	26
4.2 Glicose -----	26
4.3 LD -----	27
4.4 CK -----	27
5. CONCLUSÕES -----	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	50

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

pág.

Figura	1	-	Distribuição do <u>Panstrongylus megistus</u> : 1) áreas onde se observa a ocupação de ecótopos artificiais; e 2) áreas onde o hemíptero é encontrado quase exclusivamente em ecótopos naturais. A linha interrompida indica o limite de ação da Frente Polar Atlântica. -----	3
Figura	2	-	Representante da área de transição no território paulista dos dois tipos de comportamento do <u>Panstrongylus megistus</u> -----	4
Figura	3	-	Aspectos morfoclimáticos e paisagísticos associados à área atual a potencial de domiciliação da Triatomínea no Brasil. -----	6
Figura	4	-	Dispersão da domiciliação de <u>Panstrongylus megistus</u> . L-Limite aproximado da área de domiciliação triatomínea. -----	7
Figura	5	-	Aspecto geral aproximado da situação atual do ambiente aberto no território do Brasil. -----	8
Figura	6	-	Mobilidade das 5 isoenzimas da LD -----	12
Figura	7	-	As cinco possíveis isoenzimas da LD e sua relação metabólica -----	13

Figura 8	-	Gráfico eletroforético das frações do padrão de CK - isoenzimas. -----	15
Figura 9	-	Comparação entre as médias de proteínas, CK, LD e glicose por região estudada. -----	32
Figura 10	-	Comparação entre as médias de proteínas, CK, LD e glicose por dias de jejum. -----	33
Figura 11	-	Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de <u>Panstrongylus megistus</u> da região Tropical Atlântica (Alagoas) -----	36
Figura 11.a	-	Perfil eletroforético da CK isoenzimas do Grupo I, Alagoas, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum -----	37
Figura 12	-	Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de <u>Panstrongylus megistus</u> da Região Tropical Atlântica (São Paulo). -----	38
Figura 12.a	-	Perfil eletroforético CK isoenzimas, do Grupo I, São Paulo, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum. -----	39
Figura 13	-	Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de <u>Panstrongylus megistus</u> da Região Tropical Atlântica (Paraná). -----	40
Figura 13.a	-	Perfil eletroforético da CK isoenzima do Grupo I, Paraná após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum.	

Figura 14	-	Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de <u>Panstrongylus megistus</u> da Região da Floresta de Inclusão (Bahia). -----	42
Figura 14.a	-	Perfil eletroforético da CK isoenzima do Grupo II, Bahia, após alimentação 30, 60, 90, dias de jejum. -----	43
Figura 15	-	Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de <u>Panstrongylus megistus</u> da Região do Agreste (Pernambuco). -----	44
Figura 15.a	-	Perfil eletroforético da CK isoenzimas do Grupo III - Pernambuco, após alimentação 30, 60, 90, dias de jejum. -----	45
Figura 16	-	Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de <u>Panstrongylus megistus</u> da Região da Caatinga (Rio Grande do Norte). -----	46
Figura 16.a	-	Perfil eletroforético da CK isoenzima do Grupo IV - Rio Grande do Norte, após alimentação 30, 60, 90 dias de jejum. -----	47
Figura 17	-	Perfil eletroforético da LD isoenzima nos 4 grupos estudados após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum.	

ÍNDICE DE TABELAS

pág.

Tabela 1	-	Número dos espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em <u>Panstrongylus megistus</u> , após alimentação 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Ortigueira-PR (RCT-353) - Região Tropical Atlântica. -----	20
Tabela 2	-	Número de espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em <u>Panstrongylus megistus</u> , após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Cássia dos Coqueiros-SP (RCT-44) Região Tropical Atlântica. -----	21
Tabela 3	-	Número dos espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em <u>Panstrongylus megistus</u> , após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Boca da Mata-AL (RCT-339) - Região Tropical Atlântica. -----	22
Figura 4	-	Número dos espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em <u>Panstrongylus megistus</u> , após alimentação,	

30, 60, 90 dias de jejum,pro
cedentes do municipio de Ita
gi-BA (RCT-347) - Região da
Floresta de Inclusão. ----- 23

Figura 5 - Número de espécimens, pêsso,
determinação de proteínas,
glicose, LD, CK e suas iso
enzimas em Panstrongylus
megistus, após alimentação,
30, 60, 90 dias de jejum,pro
cedentes do municipio de San
ta Maria do Cambucá-PE (RCT-
222) - Região do Agreste. ----- 24

Figura 6 - Número de espécimens, pêsso,
determinação de proteínas,
glicose, LD, CK e suas iso
enzimas em Panstrongylus
megistus, após alimentação,
30,60, 90 dias de jejum, pro
cedentes do municipio de Al
mino Afonso-RN (RCT-337) -
Região da Caatinga ----- 25

Figura 7 - Número de espécimens, média
e desvio-padrão da proteína,
glicose, LD, CK dos 4 grupos
estudados de Panstrongylus
megistus, após alimentação,
30, 60, 90 dias de jejum. ----- 28

Figura 8 - Teste de Nemenyi para signi-
ficância da proteína nos 4
grupos e dias de jejum. ----- 29

Figura 9 - Teste de Nemenyi para signi-
ficância da glicose nos 4
grupos e dias de Jejum. ----- 29

Figura 10 - Teste de Nemenyi para signi-

ficância da LD total nos 4
grupos e dias de jejum. ----- 30

Figura 11 - Teste de Nemenyi para signi-
ficância da CK total nos 4
grupos e dias de jejum. ----- 30

Figura 12 - Teste "t" - Determinação da
significância da diferença
das médias entre os 4 grupos
estudados de Panstrongylus
megistus, após alimentação
30, 60, 90 dias de jejum. ----- 31

RESUMO

Foi estudado o comportamento bioquímico energético de populações domiciliadas de Panstrongylus megistus de quatro regiões geográficas brasileiras (Região Tropical Atlântica, Região Floresta de Inclusão, Região do Agreste e Região da Caatinga), através dos seguintes parâmetros do metabolismo energético:

Proteínas, Glicose, Deidrogenase láctica,
Creatino-quinase e respectivas isoenzimas.

Os espécimens foram mantidos em jejum de 0 a 90 dias.

Foram observadas diferenças de metabolismo energético entre populações de duas regiões:

Tropical Atlântica (Grupo I)
Floresta de Inclusão (Grupo II)

SUMMARY

The population's behaviour of Panstrongylus megistus, which is domiciliated in four different geographycal brazilian regions ("Tropical Atlântica" system and "Inclusão" Forest, and "Agreste" and "Caatinga" regions, was studied by different bioenergetic metabolism parameters:

Proteins, Glucose, Lactate dehydrogenase,
Creatine Kinase and their respective isoenzymes.

These specimens were kept from 0 to 90 days fasting. During this time, it was observed many differences in the energetic metabolism of the vectors of Chagas' disease in the

"Tropical Atlântica" system (Grupo I)

"Inclusão" Forest (Grupo II)

A B R E V I A T U R A S

ADP	-	Adenosina difosfato
ATP	-	Adenosina trifosfato
ATPase	-	Adenosina trifosfatase
CK	-	Creatino-quinase
LD	-	Deidrogenase láctica
NAD ⁺		Nicotinamida adenina dinucleotideo (forma oxidada)
NADH	-	Nicotinamida adenina dinucleotideo (forma reduzida)
RCT	-	Registro de colônias de Triatomíneos

I. INTRODUÇÃO

Provavelmente nenhuma outra doença transmissível esteja mais relacionada ao continente Americano e em especial ao Brasil do que a Moléstia de Chagas.

Devido sua vasta distribuição, altos índices de prevalência, surgiu como um dos maiores problemas de Saúde Pública.

Sua transmissão é feita por vetores hematófagos sub-família Triatominae.

A atuação do Panstrongylus megistus como vetor e seu controle tem importância do ponto de vista epidemiológico, quer pela alta capacidade de domiciliação, quer pela gravidade da doença por ele transmitida; bem como as consequências sócio-econômicas que se traduzem pela incapacidade física e laborativa dos indivíduos acometidos pela tripanossomíase americana.

Os objetivos deste trabalho são o de estudar o metabolismo energético de populações de Panstrongylus megistus domiciliados das seguintes regiões geográficas brasileiras: Região Tropical Atlântica, Região do Agreste, Região da Caatinga e Região da Floresta de Inclusão, e verificar as possíveis diferenças existentes através de determinações enzimáticas e isoenzimáticas.

Com relação aos triatomíneos, a referência mais antiga foi a relatada pelo Padre Reginaldo Lizarraga que em 1590 ao passar pela província de Tucuman (Argentina) verificou a presença do inseto.^{36,53,54,56}

Segundo Lent,³⁶ em 1784 o Padre Martin Dobrizhoffer descreveu muito bem os triatomíneos, entretanto, só em 1793 que eles foram considerados sob o aspecto entomológico.

Os indígenas sulamericanos, descendentes dos Incas já o conheciam e chamavam-no "Vinchuca, Chepito e Quipito" palavras de origem Quechua.

É possível que o Triatoma infestans tenha migrado através da Argentina ou dos países andinos com quem o Brasil faz fronteira.^{8,48,53,56}

A adaptação dos triatomíneos ao domicílio no Brasil é mais recente do que a desses outros países conforme enfatiza Lent.^{10,36}

Arthur Neiva em 1918, foi o primeiro a fazer um estudo sobre os triatomíneos no Nordeste do Brasil encontrando as seguintes espécies:^{36,38,50,53,54}

Triatoma brasiliensis - nos estados de Pernambuco e Rio Grande do Norte.

Triatoma maculata - nos estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba, Ceará.^{1,2,3,40}

Panstrongylus megistus - nos estados de Pernambuco onde desde 1873 já havia sido registrado por Walker. Em 1947 Albuquerque & Machado em Alagoas, de 2.338 insetos coletados 99% eram Panstrongylus megistus.

1.1 Aspectos da domiciliação Triatomínea e aspectos naturais

No Brasil foram descritas 41 espécies, 8 gêneros e o Panstrongylus megistus é considerado uma das espécies mais importante em virtude de sua larga distribuição geográfica e por apresentar um comportamento variável em relação a transmissão.

A domiciliação ou sinantropia, sendo um comportamento populacional dos triatomíneos associado ao homem, admite-se que a sua dispersão e ocorrência deva estar sujeita a atuação deste. No Brasil tal efeito parece ter se iniciado à partir da colonização européia que aqui se estabeleceu. Como consequência houve uma maior expansão de áreas abertas, com grandes devastações alterando a configuração geográfica inicial.^{9,19,20,21,30}

Em vastas regiões do Nordeste do Brasil é acentuadamente sinantrópico e portanto dotado de apreciável importância na transmissão chagásica.

Segundo Forattini^{24,29} em outras regiões como no ecossistema da serra do mar habita ecótopos naturais dificilmente abandonando-o para domiciliar-se.

Aragão⁷ levanta a hipótese de que sob certas condições de clima, a espécie poderia encontrar nas edificações, ambiente propício à sua proliferação, maior disponibilidade de alimento e abrigo. Seria também um mecanismo através do qual o inseto se dispersaria vencendo a aridez do solo provocada pelo homem. Procurou explicar a diversidade climática entre as regiões do Norte e Sul no comportamento do Panstrongylus megistus.

Forattini^{24,30} ao analisar a distribuição desse hemíptero verificou que as atitudes supracitadas correspondem à duas áreas geográficas distintas delimitadas por uma linha hipotética que percorre o Norte-Nordeste do estado de São Paulo (Fig.1,2). Acima deste limite observa-se a domiciliação do

Fonte: Forattini, 1972.

Fig. 1 Distribuição do Panstrongylus megistus: 1) áreas onde se observa a ocupação de ecótopos artificiais; e 2) áreas onde o hemíptero é encontrado quase exclusivamente em ecótopos naturais. A linha interrompida indica o limite de ação da Frente Polar Atlântica.

Fonte: FORATTINI, 1970

Fig.2 Representação da área de transição no território paulista dos dois tipos de comportamento do Panstrongylus megistus.

triatomíneo principalmente nos estados de Minas Gerais e Bahia, tendo papel epidemiológico, além de outras áreas do Nordeste. Ao Sul, o triatomíneo é encontrado apenas em biótopos naturais florestais e seu relacionamento com o homem limita-se a incursões domiciliares acidentais. Ainda segundo Forattini^{23,24,26,30} também pesquisou a umidade da região meridional do Brasil aliado a redução da temperatura. Como resultado conclui que o baixo teor de evaporação, não induziria o inseto a abandonar seus biótopos naturais para domiciliar-se, entretanto a alteração ambiental age com o fator estimulante da domiciliação e propiciando dessa forma dispersão maior.

1.2 Aspectos biogeográficos da área estudada

Quanto aos aspectos naturais biogeográficos, a domiciliação ocorre em diferentes regiões morfoclimáticas e paisagistas formando centros de endemismo. Assim, a sinantropia do Panstrongylus megistus tem sido encontrada como endêmica em regiões naturais pertencentes aos domínios com áreas nucleares, da caatinga, do cerrado, da Região Tropical Atlântica, das pradarias mistas subtropicais e regiões com aspectos de transição (Floresta de Inclusão), (Fig. 3,4)³⁰.

Em sentido lato, o agreste constitui-se em zona de transição e seu aspecto é de mata pouco densa sobre o solo quase destituído de húmus. As árvores são esparsas, raramente altas e permitindo à fácil penetração da luz solar. Por exemplo, a zona do Agreste que apesar de pertencer ao domínio semi-úmido possui, pela sua posição geográfica algumas características diferentes em função da ação refrescante dos ventos alísios do Sudoeste.⁴

A caatinga é uma região semi-árida cuja feição típica corresponde à de vegetação aberta constituída de árvores de porte baixo ou médio e arbustos espinhosos, incapaz de impedir que a radiação solar atinja diretamente o solo. O clima é quente e seco de intensidade variável.⁴

A Região Tropical Atlântica é a zona geográfica⁴⁶ que mais sofreu devastação pelo homem, estende-se quase sem interrupção desde o Rio Grande do Sul ao Rio Grande do Norte. O relevo, a pluviosidade e a umidade condicionaram o aparecimento de uma vegetação exuberante com árvores geralmente altas e esguias, fetos arborescentes e palmeiras, constituindo a Floresta Perenifolia Higrófila como o maciço da Serra do

Fonte: FORATTINI, 1980.

Fig.3 Aspectos morfoclimáticos e paisagísticos associados à área atual a potencial de domiciliação da Triatomínea no Brasil ● Regiões estudadas.

Domicílios com áreas nucleares:

CA - Caatinga

CR - Cerrado

PR - Pradarias mistas subtropicais

TA - Tropical Atlântico

Áreas de transição não diferenciadas:

1 - Agreste

2 - Bahia

3 - Chaco oriental

4 - Maranhão-Piauí

5 - Pantanal

L - Limite aproximado da área de domiciliação triatomínea.

Fonte: Forattini, 1980.

Fig. 4 Dispersão da domiciliação de Panstrongylus megistus.
L-Limite aproximado da área de domiciliação triatominea.

Fonte: Forattini, 1980.

Fig.5 Aspecto geral aproximado da situação atual do ambiente aberto no território do Brasil.

- A - Espaços de ambiente predominante aberto.
- AN - Área primitivamente umbrosa, e, na atualidade, com predomínio de espaços abertos, devido à ação antrópica, resultando em feição paisagística pontilhada de ilhas de vegetação residual (arquipélago terrestre).
- AS - Áreas de ambiente predominantemente umbroso, correspondentes ao estado atual da floresta higrófila costeira do Sistema da Serra do Mar.
- D - Limite oriental aproximado da domiciliação triatomínea.
- L - Limites aproximados do ambiente aberto.

Mar (Fig. 5).

Pertence ainda a Região Tropical Atlântica a floresta semi-úmida ou floresta sub-caducifólia tropical encontrada em zonas intermediária entre formações florestais úmidas e formações não florestais. Sua presença está ligada ao clima continental com duas estações nítidas, sendo a periodicidade de sua vida vegetativa marcada pela perda das folhas durante a estação seca. Sendo uma floresta relativamente aberta, é fácil à penetração da luz solar, onde plantas mais baixas aparecem.^{4,29,30}

A região de transição ou floresta de inclusão, apresenta seus limites imprecisos, dada a localização entre formações florestais mais úmidas e formações não florestais, com características de semi-aridez. Na estação chuvosa pode ser confundida com as formações úmidas. As árvores possuem troncos delgados e são altas, características estas bem notadas na Bahia, na Mata do Cipó, onde se apresenta bem densa com pouca penetração da luz solar.^{4,28}

1.3 Aspectos comportamentais e metabólicos

Comportamento dos insetos: De um modo geral, o comportamento dos insetos consiste em respostas a estímulos. Uma resposta é o resultado de impulsos que são despertados pelos estímulos e que se deslocam pelo sistema nervoso para os efetores. A forma pela qual um inseto responde é determinado pelo padrão de percurso no qual os impulsos caminham. Os percursos nervosos envolvidos no comportamento dos insetos são a maioria das vezes hereditários às respostas automáticas. O estímulo que produz uma resposta dirigida pode ser a água, temperatura, luz, força da gravidade, correntes de ar, etc. Um comportamento instintivo é valioso para as espécies que tem sobrevivido durante o curso da evolução. Algumas se comportam de tal forma que sua sobrevivência fica garantida e passam para os seus descendentes esta "qualidade". A entomologia é rica em descrições. O comportamento dos insetos dá impressão de possuírem inteligência rudimentar, isto é, a capacidade de aprender.^{13,55,61}

A domiciliação triatomínea no Brasil sendo um fenômeno ocorrente em vários domínios biogeográficos^{28,38} poderia atuar na fisiologia dos insetos, com possíveis alterações do seu metabolismo. Dos fatores exógenos ou ambientais capazes de agir

sobre o metabolismo destacam-se a umidade e a temperatura.^{11,13,61}

Para sobreviver os triatomíneos precisam manter uma concentração de água (H_2O) dentro de certos limites críticos. A reserva desta pode ser reposta, quando o alimento ingerido, contenha determinada proporção de água que oscilará entre 70 e 90%. Tal concentração é obtida por insetos hematófagos, na qual a única fonte de água é o sangue dos vertebrados.

Um baixo teor de umidade pode afetar o índice de natalidade nas populações, influenciando sobre a taxa de oviposição, desenvolvimento, etc. Pelo fato da longevidade ser limitada para o triatomíneo em condições muito seca, e tendo em vista que muitos dos ambientes terrestres encontram-se nesse estado, parece provável que por atuação deste sobre o equilíbrio hídrico do animal, a umidade ambiental deficiente "exerça pressão" obrigando o mesmo a domiciliar-se sob pena de morrer. Aragão estudando o Panstrongylus megistus verificou que o mesmo tem preferência por ambientes com maior teor de umidade, dessa forma a aridez parece ser o único elemento climático a limitar-lhe a dispersão.^{24,25,27,30}

Um inseto é "constituído" por um metabolismo que por sua vez, compreende uma série de vias metabólicas, diferenciadas, cada via desta é mediada por um grupo de enzimas.^{16,17,18}

O efeito da temperatura ambiente, atuará sobre a atividade de cada enzima em particular e sobre o conjunto enzimático total do inseto. Atua também controlando a atividade do sistema nervoso e humoral que regulam os processos da reprodução, ou seja, sobre a taxa de natalidade e mortalidade, alterando a dinâmica populacional.^{12,13,31,34,61}

Um inseto em equilíbrio térmico com seu ambiente, cuja temperatura permaneça constante, ou flutue ligeiramente em torno de um valor fixo; o intercâmbio do calor do inseto e do ambiente será zero, havendo pois, equilíbrio entre o ganho e as perdas de calor.⁵²

Na atividade muscular, o ciclo energético proporcionado pelos carboidratos, gorduras e proteínas transforma a energia química em calor, e trabalho mecânico.^{17,22,37,43,58,59}

Os insetos fazem uso para o seu metabolismo energético (à partir dos carboidratos) dos mesmos substratos, enzimas e princípios bioquímicos utilizados por outros seres vivos.^{17,18,59}

Veiga e Cols⁵⁹ verificaram que a presença da quitina como componente da estrutura do exo-esqueleto é outra característica dos insetos, a qual encontra-se relacionada intimamen

te com o metabolismo dos carboidratos.

O Panstrongylus megistus utiliza os carboidratos como fonte de energia e em sua composição corpórea e na hemolinfa foram encontrados glicose, trealose, etc.¹⁸ Melo⁴⁴ verificou a presença de frutose na hemolinfa do Panstrongylus megistus 15 minutos após ministração da glicose-U¹⁴C radioativa. Este fato comprova que a frutose pode ser sintetizada pelo inseto e aparecer como um componente normal da hemolinfa, independente do tipo de alimentação que o mesmo tenha se submetido.

O açúcar mais característico do hemolinfa dos insetos, é a trealose, um dissacarídeo de glicose que não tem propriedades redutoras. A possível função da trealose por ação da enzima trealase é da regulação energética em relação ao uso dos músculos responsáveis pelo voo. A trealose da hemolinfa é degradada à glicose na sua passagem através das membranas das fibras musculares por difusão e também por um processo de expansão e contração dos músculos das asas.^{18,44}

Os carboidratos não podem ser utilizados imediatamente na forma que se encontram para fins energéticos.³³ Necessitam ser degradados. Uma das funções das enzimas é proporcionar esta degradação com a liberação e uso desta energia armazenada.^{17,18,42}

Todas as enzimas do organismo são consideradas essenciais mais a Deidrogenase láctica (LD) e a Creatino-Quinase (CK) e suas isoenzimas serão o objeto de nosso estudo experimental.

A LD é uma enzima encontrada na via metabólica principal da glicose, tem função de transformar o piruvato em lactato transformando o ADP em ATP com liberação de energia. Encontra-se em tecidos onde há necessidade de energia como o tecido muscular, sanguíneo, cardíaco, etc. (Fig. 6).

Tibayrenc⁵⁷ comparou duas populações bolivianas de Triatoma infestans de regiões planas e Andinas através da determinação enzimática para verificação e confirmação de diferenças genéticas que só pela morfologia ficaria difícil de se distinguir. Estes dados podem ser importantes do ponto de vista epidemiológico para verificação da existência ou não de diferenças genéticas, que poderiam atuar significativamente no comportamento do vetor.

Em 1952, Neilands⁴⁹ mostrou que em preparações de coração de boi, a LD podia ser separada por eletroforese em duas proteínas e que elas apresentavam atividades enzimáticas.

Fig. 6 Mobilidade das 5 isoenzimas da LD.

Em 1957, Wieme⁶⁰ demonstrou a presença de cinco frações enzimáticas ativas nos fluidos biológicos que foram denominadas Isoenzimas, definidas como sendo um grupo de enzimas que, embora quimicamente diferentes apresentavam atividades comparáveis frente ao mesmo substrato.

Coelho¹⁷ em 1976, evidenciou a presença em eritrócitos de uma sub-fração situada entre as isoenzimas LD₂ e LD₃, a qual denominou de fração G.

Em 1962, Markert e Cols^{41, 42} mostraram que a formação⁶ da enzima está ligada a atividade gênica e que cada gen poderia se hibridizar, dando origem a outras formas intermediárias. Posteriormente, Guttler verificou a existência do tipo H que estaria ligada à mitocôndria, e o tipo M ligado ao núcleo celular. Na Fig.7 são apresentadas as cinco possíveis isoenzimas da LD e sua relação metabólica.

Fig.7

Isoenzima	Composição	Metabolismo
LD ₁	HHHH	Aeróbico
LD ₂	HHHM	Aeróbico
LD ₃	HHMM	Intermediário?
LD ₄	HMMM	Anaeróbico
LD ₅	MMMM	Anaeróbico

A Creatino-Quinase (CK)³² age no tecido muscular e tem estrutura de um dímero. Distinguem-se as subunidades M (músculo) que se encontram no músculo esquelético e as subunidades B que se apresentam no cérebro e a forma híbrida MB,⁴⁷ encontra-se no tecido cardíaco, evidenciado na eletroforese; O dímero MM migra para o cátodo, o dímero BB migra para o ânodo e a forma MB migra para o ânodo com velocidade intermediária. As isoenzimas da CK apresentam-se em vários órgãos com distintas concentrações. As isoenzimas da CK que intervêm fisiologicamente na contração muscular e no metabolismo energético no soro não são órgãos específicos, podem ser no entanto, consideradas típicas de um órgão determinado (Fig.8).

Recentemente foram observadas, uma CK mitocondrial inespecífica comprovado por eletroforese e por imunologia, conhecidas como as variantes atípicas.

Para este trabalho deu-se prioridade ao Panstrongylus megistus por ser espécie epidermiologicamente importante na transmissão da tripanosomíase americana e também devido às suas características de alta capacidade de domiciliação e ampla distribuição geográfica.^{24,28,30,38,39,45,48}

Fig. 8 Gráfico eletroforético das frações do padrão de CK - isoenzimas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 População triatomínea

Estudou-se 95 ninfas de Panstrongylus megistus domiciliada e proveniente de diferentes regiões geográficas, e criadas no insetário da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

A população triatomínea foi dividida em:

- GRUPO I = Região Tropical Atlântica compreendendo os municípios de Ortigueira (Estado do Paraná RCT 353), Cássia dos Coqueiros (Estado de São Paulo - RCT 44), Boca da Mata (Estado de Alagoas - RCT 339) e composta de 47 exemplares.
- GRUPO II = Região da Floresta de Inclusão proveniente dos municípios de Itagi (Estado da Bahia - RCT 347) e composta de 16 exemplares.
- GRUPO III = Região do Agreste proveniente do município de Santa Maria do Cambucá (Estado de Pernambuco - RCT 222) e composta de 16 exemplares.
- GRUPO IV = Região da Caatinga proveniente do município de Almino Afonso (Estado do Rio Grande do Norte - RCT 337) e composta de 16 exemplares.

2.2 Obtenção das Amostras e Preparo do Homogenato

Utilizou-se ninfas de 4º e 5º estágio que inicialmente foram alimentadas com sangue de pato, variedade doméstica (Cairina moschata) durante 1 hora. No mesmo dia 4 exemplares foram sacrificados; após 30, 60, 90 dias de jejum, novos grupos de 4 também foram sacrificados.

Os insetos foram mantidos em estufa à temperatura de 28°C a umidade relativa do ar constante.

Inicialmente procedeu-se a pesagem individual de cada ninfa. A seguir cada exemplar foi homogeneizado através do Homogeneizador de Potter-Elvehjem em 1mL de solução gelada (4°C) de cloreto de sódio a 0,85% (NaCl 8,5 g/L).

Após completa homogeneização procedeu-se a centrifugação para remoção do sobrenadante, em centrífuga refrigerada*, velocidade 3000 rpm durante 10 minutos. Todo o homogenato obtido foi submetido a refrigeração e utilizado no mesmo dia.

2.3 Dosagem de Proteína**

Usou-se para a determinação das proteínas, o método de Lowry et all.³⁷ que devido a sua grande sensibilidade pode detectar até concentração de 0,2 ug/mL de proteína. Nesta prova as amostras sofreram diluições que variaram de 1:5 a 1:50. Os volumes utilizados de amostras e padrão foram 0,2mL, para a daptação do método ao estudo dos hemípteros.

2.4 Dosagem de Glicose**

Na determinação de Glicose utilizou-se o método enzimático de Massod, M.F. et all.⁴³ cujo princípio baseia-se nas ações da glicose oxidase sobre a glicose (GOD. PAP.).

2.5 Determinação da Atividade de Deidrogenase Láctica*** [LD] EC.1.1.1.27

Para a determinação da atividade total da Deidrogenase Láctica (LD) adotou-se o método Amador⁵ que diz: Na presença da LD, o lactato é convertido em piruvato com simultânea redução do NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$.

2.6 Determinação da atividade da Creatino-Quinase*** [CK] EC.2.7.3.2

Para a determinação da atividade total da Creatino-Quinase (CK) utilizou-se o método de Gruber et all.³² onde a creatino-quinase age transformando o ADP em ATP pela creatino fosfofato.

2.7 Isoenzimograma da Deidrogenase Láctica (LD) e da Creatino-Quinase (CK)***

O isoenzimograma da LD foi obtida usando-se com supor

te, fitas de acetato. As frações da LD foram evidenciadas através de coloração com sal de tetrazólio, metassulfato de fe nazina, lactato de lítio e NAD^+ .

Para a determinação de CK usou-se como suporte fitas Titan III Iso-Fluor (Helena laboratories-Texas).

As isoenzimas obtidas da LD foram lidas em densitômetro e as da CK visualizadas com lâmpada U.V.

Para cada ensaio realizado para a obtenção das isoenzimas colocou-se paralelamente no mesmo suporte fitas de acetato de celulose e fitas Titan III Iso-Fluor igual quantidade de padrão contendo todas as frações, afim de se poder comparar com o material biológico que se pesquisava.

Em todos os ensaios fizemos também determinação das proteínas por fracionamento eletroforético, usando como suporte fitas de acetato de celulose e Agarose, e igual quantidade de padrão contendo também todas as frações proteicas, afim de se poder comparar com o material que se pesquisava.

2.8 Métodos estatísticos

Na análise dos resultados, foram utilizados os seguintes testes estatísticos:

a) Média e desvio-padrão para as variáveis estudadas foram calculadas e o nível de rejeição da hipótese foi fixado em 5%.

b) Teste de Student ("t") para verificar a significância das diferenças encontradas entre os grupos.

c) Teste não paramétrico de Nemenyi⁵¹ para comparações múltiplas de grupos independentes, testando para as possíveis diferenças significativas.

* Centrífuga refrigerada - marca SORVALL II RC 2B.

** Espectrofotômetro - marca BECKMAN - modelo 35.

*** Densitômetro Quick Scan-Flur Vis (Helena)

3. RESULTADOS

Os 95 espécimens analisados estão apresentados nas seguintes Tabelas:

- Grupo I - Região Tropical Atlântica - Município de Ortigueira - Estado do Paraná - Tabela 1.
- Município de Cássia dos Coqueiros - Estado de São Paulo - Tabela 2.
- Município da Boca da Mata - Estado de Alagoas - Tabela 3.
- Grupo II - Região da Floresta de Inclusão - Município de Itagy - Estado da Bahia - Tabela 4.
- Grupo III - Região do Agreste - Município de Santa Maria do Cambucá - Estado de Pernambuco - Tabela 5.
- Grupo IV - Região da Caatinga - Município de Almino Afonso - Estado do Rio Grande do Norte - Tabela 6.

Estas Tabelas reúnem todos os dados obtidos em nosso trabalho experimental como:

- Peso em gramas de cada espécimen no momento anterior a maceração.

- Dias de jejum - 0, 30, 60 e 90 dias.

- Proteína em mg/g de tecido animal determinada no homogenato.

- Glicose em $\mu\text{mol/g}$ de tecido animal determinado no mesmo homogenato.

- As enzimas LD e CK em mU/mg de tecido animal e o número de frações isoenzimáticas da LD e CK também foram determinadas no mesmo homogenato.

TABELA 1

Número dos espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedente do município de Ortigueira-PR (RCT-353) - Região Tropical Atlântica (Grupo I)

Número de espécimen	Peso (g)	Dias de jejum	Proteínas mg/g tecido	Glicose $\mu\text{mol/g}$ tecido	LD mU/mg proteína	CK mU/mg proteína	Isoenzimas	
							Número de frações LD	CK
1	0,400	0	121,2	13,1	9,40	11,08	1	1
2	0,250	0	51,2	8,1	12,25	12,85	1	1
3	0,300	0	82,7	12,6	7,75	9,56	1	1
4	0,400	0	91,0	12,9	12,20	10,80	1	1
5	0,140	30	55,4	5,9	6,97	13,31	1	1
6	0,260	30	72,1	7,7	5,37	8,80	1	1
7	0,200	30	71,2	8,3	5,98	9,55	1	1
8	0,170	30	42,6	6,5	7,20	7,21	1	1
9	0,070	60	121,4	3,9	5,20	5,00	1	1
10	0,130	60	65,4	6,4	6,17	10,51	1	1
11	0,120	60	114,6	6,0	5,70	8,40	1	1
12	0,130	60	57,7	6,4	5,40	4,12	1	1
13	0,130	90	33,5	5,6	6,09	8,52	1	1
14	0,090	90	39,1	6,1	5,62	5,86	1	1
15	0,100	90	33,5	7,3	6,26	6,77	1	1
16	0,080	90	45,5	4,6	5,76	4,08	1	1

TABELA 2

Número dos espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Cássia dos Coqueiros-SP (RCT-44) - Região Tropical Atlântica

(Grupo I)

Número de espécimen	Peso (g)	Dias de jejum	Proteínas (mg/g tecido)	Glicose μ mol/g tecido	LD mU/mg proteína	CK mU/mg proteína	Isoenzimas	
							Número de frações LD	Número de frações CK
17	0,400	0	140,5	14,4	9,94	9,54	1	1
18	0,240	0	137,9	8,8	10,55	8,72	1	1
19	0,200	0	128,0	9,2	10,00	10,50	1	1
20	0,400	0	130,0	13,9	11,09	7,66	1	1
21	0,070	30	66,0	10,9	5,40	5,50	1	1
22	0,080	30	57,8	14,3	6,00	5,40	1	1
23	0,270	30	72,2	7,8	10,70	11,00	1	1
24	0,160	30	45,3	10,7	7,20	7,17	1	1
25	0,100	60	52,0	14,4	5,55	4,76	1	1
26	0,200	60	50,0	8,8	6,71	8,80	1	1
27	0,190	60	46,0	9,2	4,68	7,07	1	1
28	0,200	60	58,5	13,9	6,37	10,10	1	1
29	0,100	90	32,7	7,6	4,75	5,04	1	1
30	0,110	90	30,3	10,4	5,10	5,79	1	1
31	0,090	90	45,8	6,3	4,63	4,20	1	1
32	0,100	90	31,5	9,5	4,43	5,50	1	1

TABELA 3

Número dos espécimens, pêso, determinação de proteína, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Boca da Mata-AL (RCT-339) - Região Tropical Atlântica (Grupo I)

Número de espécimen	Peso (g)	Dias de jejum	Proteínas mg/g tecido	Glicose μ mol/g tecido	LD mU/mg proteína	CK mU/mg proteína	Isoenzimas	
							Número de frações	
							LD	CK
33	0,320	0	146,9	11,6	8,68	14,20	1	3
34	0,260	0	146,2	11,7	7,97	12,60	1	3
35	0,380	0	126,3	10,8	9,71	12,89	1	3
36	0,190	30	89,0	10,0	7,39	9,76	1	3
37	0,130	30	52,2	7,4	4,60	7,90	1	3
38	0,120	30	52,5	7,9	4,43	6,03	1	3
39	0,210	30	90,0	10,4	7,89	10,90	1	3
40	0,130	60	36,5	7,2	5,88	5,79	1	3
41	0,160	60	50,0	8,1	5,09	7,08	1	3
42	0,160	60	54,7	8,1	7,45	8,84	1	3
43	0,150	60	48,3	4,9	6,43	7,59	1	3
44	0,100	90	33,3	5,5	6,30	7,68	1	3
45	0,140	90	49,3	6,7	6,08	7,89	1	3
46	0,150	90	46,9	8,6	7,42	7,92	1	3
47	0,120	90	29,8	6,9	5,87	7,70	1	3

TABELA 4

Número dos espécimens, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedente do município de Itagi-BA (RCT-347) - Região da Floresta de Inclusão (Grupo II)

Número de espécimen	Peso (g)	Dias de jejum	Proteínas mg/g tecido	Glicose $\mu\text{mol/g}$ tecido	LD mU/mg proteína	CK mU/mg proteína	Isoenzimas	
							Número de frações LD	frações CK
48	0,260	0	49,2	11,3	9,07	14,94	1	4
49	0,480	0	50,4	12,3	17,01	16,13	1	4
50	0,280	0	50,4	10,9	11,43	14,67	1	4
51	0,320	0	53,1	11,2	16,21	15,08	1	4
52	0,150	30	56,5	10,2	5,22	11,10	1	4
53	0,180	30	56,6	9,6	6,32	8,51	1	4
54	0,130	30	52,2	8,8	4,64	6,33	1	4
55	0,150	30	51,7	9,6	7,06	8,65	1	4
56	0,130	60	37,2	7,3	5,05	5,68	1	4
57	0,150	60	37,9	9,5	6,55	6,02	1	4
58	0,120	60	40,3	6,3	5,13	4,90	1	4
59	0,140	60	37,2	7,5	4,47	5,94	1	4
60	0,110	90	30,0	6,1	5,13	6,02	1	4
61	0,110	90	26,7	6,1	6,32	7,00	1	4
62	0,070	90	35,3	5,4	6,29	5,50	1	4
63	0,070	90	36,3	5,4	6,10	5,36	1	4

TABELA 5

Número de espécimen, peso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Santa Maria do Cambucá-PE (RCT-222) - Região do Agreste (Grupo III)

Número de espécimen	Peso (g)	Dias de jejum	Proteínas mg/g tecido	Glicose μ mol/g tecido	LD mU/mg proteína	CK mU/mg proteína	Isoenzimas	
							Número de frações LD	CK
64	0,260	0	66,9	10,6	10,95	13,36	1	3
65	0,530	0	70,0	13,0	9,74	13,90	1	3
66	0,240	0	60,4	9,9	11,78	10,44	1	3
67	0,280	0	77,9	11,6	10,26	13,61	1	3
68	0,180	30	63,9	7,4	9,71	8,39	1	3
69	0,250	30	67,8	9,5	9,60	9,53	1	3
70	0,190	30	67,0	10,0	10,26	8,17	1	3
71	0,230	30	68,5	8,7	9,36	8,17	1	3
72	0,160	60	44,8	8,3	6,24	7,60	1	3
73	0,120	60	34,3	8,7	6,00	5,60	1	3
74	0,110	60	35,6	6,9	4,40	5,26	1	3
75	0,120	60	34,3	8,7	6,40	5,40	1	3
76	0,100	90	32,1	5,7	5,44	6,40	1	3
77	0,110	90	36,1	6,9	5,28	6,85	1	3
78	0,080	90	37,9	5,9	5,38	5,10	1	3
79	0,110	90	35,2	7,8	5,40	6,70	1	3

TABELA 6

Número de especimen, pêso, determinação de proteínas, glicose, LD, CK e suas isoenzimas em Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum, procedentes do município de Almino Afonso-RN (RCT-337) - Região da Caatinga (Grupo IV)

Número de especimen	Pêso (g)	Dias de jejum	Proteína mg/g tecido	Glicose μ mol/g tecido	LD mU/mg proteína	CK mU/mg proteína	Isoenzimas	
							Número de frações LD	CK
80	0,430	0	61,9	14,3	15,33	14,30	1	1
81	0,380	0	59,2	13,1	12,93	13,10	1	1
82	0,380	0	59,7	12,9	14,36	12,90	1	1
83	0,470	0	58,7	14,5	16,01	14,50	1	1
84	0,180	30	58,9	10,6	11,60	10,60	1	1
85	0,170	30	57,0	10,1	8,66	10,10	1	1
86	0,140	30	58,9	8,2	7,01	8,20	1	1
87	0,150	30	58,1	8,9	7,35	8,90	1	1
88	0,090	60	45,8	7,4	6,22	7,40	1	1
89	0,120	60	41,3	9,5	6,57	9,50	1	1
90	0,130	60	40,1	10,2	7,15	10,20	1	1
91	0,110	60	44,0	7,8	6,73	7,80	1	1
92	0,090	90	47,1	7,2	6,03	7,20	1	1
93	0,080	90	46,9	7,1	5,28	7,10	1	1
94	0,100	90	48,4	7,6	6,02	7,60	1	1
95	0,100	90	47,2	7,6	6,17	7,60	1	1

4. DISCUSSÃO

Afim de apreciar melhor as diferenças observadas entre as várias regiões, com relação aos constituintes bioquímicos do homogenato do Panstrongylus megistus, foram calculadas: média e desvio-padrão da proteína, glicose, LD, CK (Tabela 7).

4.1 Proteína

No dia zero ou seja, no dia em que os insetos foram alimentados, observou-se uma nítida elevação da proteína, do Grupo I (Região Tropical Atlântica) em relação aos demais grupos. Talvez isto possa ser explicado como uma maior hemofagia ou voracidade dos Panstrongylus megistus dessa região. Também é possível que os insetos desse grupo estivessem mais esfomeados; o conhecido canibalismo desses animais, podia ter ocasionado a morte de um exemplar do Estado de Alagoas. Foi o único fato isolado acontecido. Após 30 dias de jejum o comportamento das proteínas do Grupo I se assemelhou àquele dos outros grupos. Após 60 dias de jejum não houve queda do nível da proteína no Grupo I, enquanto que, nos demais grupos foi observada uma diferença nítida entre as médias de 30 a 60 dias. Após 90 dias observou-se uma sensível diminuição do nível da proteína apenas no Grupo I, sem variação nos outros grupos.

Afim de se determinar a significância destas diferenças, observadas entre os vários grupos, foi feita a análise estatística dos níveis de proteína em cada espécimen. O nível de significância escolhido foi de 95% para todos os testes.

Devido a dificuldade em se trabalhar com maior número de espécimen de cada região estudada, o número de animais utilizados teve que ser limitado. Assim não se pode garantir que os dados obtidos sigam uma distribuição normal. Por esse motivo foi utilizado o método estatístico não paramétrico de Nemenyi com o objetivo de se testar as diferenças entre os grupos (Tabela 8).

Foram verificadas diferenças significativas no Grupo I de 0 a 60 dias, 0 a 90 dias, 30 a 90 dias e 60 a 90 dias. No Grupo II a diferença de 30 a 90 dias foi significativa e no Grupo IV de 0 a 60 dias também foi. Não houve diferença significativa nos demais dias (Tabela 8).

4.2 Glicose

No dia zero não foram observadas diferenças significantes na concentração da glicose nos 4 grupos estudados. Após 30 dias observou-se uma nítida queda nas concentrações de modo proporcional em todos os grupos. A concentração inicial mais elevada pode ser explicada pela ingestão recente da glicose do sangue do pato.

Pela análise estatística de Nemenyi (Tabela 9) foram observadas diferenças significativas entre 0 e 90 dias em todos os grupos e entre 0 e 60 dias apenas no Grupo I.

4.3 LD

No dia zero o Grupo I apresentou o nível mais baixo da atividade enzimática e o Grupo IV a mais alta. Em todos os grupos houve uma queda da atividade de 0 a 30 dias. Pela análise estatística, segundo Nemenyi, foram observadas diferenças significativas entre 0 e 30 dias, 0 e 60 e 0 e 90 dias para o Grupo I. Para o Grupo II observou-se diferenças significativas apenas entre 0 e 60 dias, e para os Grupos III e IV entre 0 e 90 dias (Tabela 10).

4.4 CK

No dia zero observou-se níveis mais elevados em todos os 4 grupos. Nos demais dias houve uma queda progressiva da atividade da CK em todos os 4 grupos.

O aumento da atividade da CK no dia em que foram alimentados (dia zero) sugere que a maior atividade da enzima esteja ligada a uma maior atividade muscular do Panstrongylus megistus. Pelos testes estatísticos observa-se diferença significativa entre 0 e 60 dias nos Grupos I, II, III, e entre 0 e 90 dias em todos os grupos (Tabela 11).

Na Tabela 12 encontram-se os valores de "t" para a determinação da significância da diferença entre os 4 grupos.

Nas Figuras 9 e 10, encontram-se a comparação entre as médias por regiões e dias de jejum.

TABELA 7

Número de espécimen, média e desvio-padrão da proteína, glicose, LD, CK dos 4 grupos estudados de Panstrongylus megistus, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum.

Determinação	Grupos		I	II	III	IV
	Nº de insetos	Dias de jejum	47*	16	16	16
Proteína mg/g tecido	0		118,35 $\pm$ 30,48	50,78 $\pm$ 1,65	68,80 $\pm$ 7,27	59,88 $\pm$ 1,41
	30		63,86 $\pm$ 15,61	54,25 $\pm$ 2,66	66,80 $\pm$ 2,02	58,23 $\pm$ 0,90
	60		62,93 $\pm$ 26,74	38,15 $\pm$ 1,47	37,26 $\pm$ 1,47	42,80 $\pm$ 2,58
	90		37,60 $\pm$ 7,28	32,82 $\pm$ 4,31	35,32 $\pm$ 2,43	47,40 $\pm$ 0,68
Glicose μ mol/g tecido	0		11,55 $\pm$ 2,11	11,43 $\pm$ 0,61	11,28 $\pm$ 1,35	13,70 $\pm$ 0,82
	30		8,98 $\pm$ 2,35	9,55 $\pm$ 0,57	8,90 $\pm$ 1,13	9,45 $\pm$ 1,10
	60		8,11 $\pm$ 3,22	7,65 $\pm$ 1,34	8,15 $\pm$ 0,85	8,73 $\pm$ 1,34
	90		7,09 $\pm$ 1,71	5,75 $\pm$ 0,40	6,58 $\pm$ 0,97	7,38 $\pm$ 0,26
LD mU/mg proteína	0		9,96 $\pm$ 1,51	13,43 $\pm$ 3,81	10,68 $\pm$ 0,88	14,66 $\pm$ 1,34
	30		6,59 $\pm$ 1,72	5,81 $\pm$ 1,09	9,73 $\pm$ 0,38	8,66 $\pm$ 2,09
	60		5,89 $\pm$ 0,78	5,30 $\pm$ 0,88	5,76 $\pm$ 0,92	6,67 $\pm$ 0,39
	90		5,69 $\pm$ 0,85	5,96 $\pm$ 0,56	5,38 $\pm$ 0,07	5,88 $\pm$ 0,40
CK mU/mg proteína	0		10,95 $\pm$ 2,02	15,21 $\pm$ 0,64	12,83 $\pm$ 1,61	13,51 $\pm$ 2,81
	30		8,54 $\pm$ 2,46	8,65 $\pm$ 1,95	8,57 $\pm$ 0,65	8,39 $\pm$ 0,88
	60		7,34 $\pm$ 2,09	5,64 $\pm$ 0,51	5,97 $\pm$ 1,10	7,03 $\pm$ 1,21
	90		4,58 $\pm$ 3,29	5,97 $\pm$ 0,74	6,26 $\pm$ 0,80	5,83 $\pm$ 0,43

* Dado o fato de ter morrido 01 inseto (0 dias) no Grupo I, a distribuição ficou, 11,12,12,12, nos demais grupos a distribuição foi homogênea.

Tabela 8

Teste de Nemenyi para significância da proteína nos quatro (4) Grupos e Dias de jejum.

Grupo	Dias de jejum					
	0a30	0a60	0a90	30a60	30a90	60a90
I	-	+	+	-	+	+
II	-	-	-	-	+	-
III	-	-	-	-	-	-
IV	-	+	-	-	-	-

+ = Significante

- = Não significante

Tabela 9

Teste de Nemenyi para significância da glicose nos quatro (4) Grupos e Dias de Jejum.

Grupo	Dias de jejum					
	0a30	0a60	0a90	30a60	30a90	60a90
I	-	+	+	-	-	-
II	-	-	+	-	-	-
III	-	-	+	-	-	-
IV	-	-	+	-	-	-

+ = Significante

- = Não significante

Tabela 10

Teste de Nemenyi para significância da LD total nos quatro (4) Grupos e Dias de Jejum.

Grupo \ Dias de jejum						
	0a30	0a60	0a90	30a60	30a90	60a90
I	+	+	+	-	-	-
II	-	+	-	-	-	-
III	-	-	+	-	-	-
IV	-	-	+	-	-	-

+ = Significante

- = Não significante

Tabela 11

Teste de Nemenyi para significância da CK total nos quatro (4) Grupos e Dias de jejum.

Grupo \ Dias de jejum						
	0a30	0a60	0a90	30a60	30a90	60a90
I	-	+	+	-	-	-
II	-	+	+	-	-	-
III	-	+	+	-	-	-
IV	-	-	+	-	-	-

+ = Significante

- = Não significante

TABELA 12

Teste "t" - Determinação da significância da diferença das médias entre os 4 grupos estudados de Panstrongylus megistus, após alimentação 30, 60, 90 dias de jejum.

Determinação	Dias de jejum	Grupos					
		I/II	I/III	I/IV	II/III	II/IV	III/IV
Proteína	0	7,38*	5,01*	6,34*	4,83*	8,39*	2,41
	30	2,05	0,64	1,24	7,51*	2,83*	7,75*
	60	3,20*	3,16*	2,57*	0,34	3,13*	1,95
	90	1,59	0,94	4,60*	1,01	6,68*	9,57*
Glicose	0	0,18	0,30	2,93*	0,20	4,44*	3,06*
	30	0,77	0,09	0,54	1,03	0,16	0,70
	60	0,40	0,04	0,54	0,63	1,14	0,73
	90	2,52*	0,74	0,57	1,58	6,83*	1,59
LD	0	1,77	1,14	5,80*	1,41	0,61	4,97*
	30	1,06	5,91*	1,79	6,79*	2,42	1,01
	60	1,19	0,25	2,62*	0,72	2,85*	1,82
	90	0,73	1,25	0,60	2,06	0,23	2,46*
CK	0	6,19*	1,86	1,67	2,75*	1,18	0,42
	30	0,09	0,04	0,18	0,08	0,24	0,33
	60	2,60*	1,68	0,36	0,54	2,12	1,30
	90	1,36	1,63	1,28	0,53	0,33	0,95

*Significante ao nível de 95%. Limite para 13 graus de liberdade=2,16, para 6 graus de liberdade=2,45.

Fig. 9 Comparação entre as médias de proteínas, CK, LD e glicose por região estudada.

Fig.10 Comparação entre as médias de proteínas, CK, LD e glicose por dias de jejum.

As proteínas no dia zero dependem da ingestão da proteína do sangue do pato (estranha) e por isso a sua concentração não permite interpretar as diferenças obtidas. Mesmo assim é interessante observar que tanto o Grupo I (Região Tropical Atlântica) como o Grupo II (Floresta de Inclusão) diferem dos restantes e entre si; talvez refletindo uma maior ou menor hemofagia destes hemípteros. (Tabela 12 - Fig. 9 e 10).

Aos 30 dias de jejum, o Grupo II continuou diferindo dos grupos III e IV, que também diferem entre si. Nota-se a constância dos níveis protéicos nos Grupos II, III e IV, que não acusaram diminuição em 30 dias de jejum, apesar de todos os espécimens terem se alimentado como evidenciado pelo nível uniformemente elevado da glicose e das maiores atividades enzimáticas (LD e CK) no dia zero. (Tabela 12 - Fig. 9 e 10).

Aos 60 dias de jejum, o Grupo I se destaca novamente dos demais, pois neste grupo não houve a esperada diminuição dos metabólitos de 30 dias para os 60 dias de jejum. Novamente observa-se uma diferença entre o Grupo II e IV. (Tabela 12 - Fig. 9, 10).

Aos 90 dias de jejum, o Grupo IV difere dos outros 3 grupos, mostrando maior resistência ao jejum, como evidenciado pela manutenção dos níveis de proteína entre 60 e 90 dias. É provável que o Panstrongylus megistus do Grupo IV (Região da Caatinga) resistiria a um tempo de jejum mais prolongado.

Em relação às proteínas o Grupo II (Região da Floresta de Inclusão) esta apresentou constantemente níveis mais baixos, inclusive no dia zero, além disso, este Grupo II diferiu significativamente do Grupo IV em todas as épocas. (Tabela 12 - Fig. 9, 10)

Os níveis da glicose não acusaram diferenças muito expressivas entre os grupos. Todos os valores do dia zero mostraram-se elevados em decorrência da alimentação. Não obstante, o Grupo II (Região da Floresta de Inclusão) continua com valores significativamente mais baixos do que o Grupo IV (Região da Caatinga) aos zero e 90 dias. (Tabela 12 - Fig. 9 e 10).

As atividades enzimáticas que refletem o metabolismo energético revelaram diferenças pouco elucidativas tanto para LD como para CK, corroborando assim com as variações observadas para os níveis de glicose (Tabela 12 - Fig. 9 e 10).

No dia zero as atividades enzimáticas da LD e CK se apresentavam elevados em virtude da alimentação. Uma queda intensa da atividade enzimática da CK entre os 60 dias e os 90 dias de jejum no Grupo I (Região Tropical Atlântica) foi atribuída

aos espécimens dos Estados de São Paulo e Paraná. Os espécimens do Estado de Alagoas apresentaram aos 90 dias de jejum, pesos e atividades da CK maiores. Os menores índices foram observados no espécimens do Estado de São Paulo. Com relação às isoenzimas, na mesma região I (Tropical Atlântica) os espécimens do Estado de Alagoas apresentaram 3 frações da CK enquanto que, os espécimens dos Estados de São Paulo e Paraná tinham uma isoenzima somente. (Fig. 11,12,13).

As isoenzimas da CK do Grupo II (Região da Floresta de Inclusão) apresentaram 4 frações sendo as duas intermediárias de intensidade mais fraca. (Fig. 14).

No Grupo III (Região do Agreste) foram observadas 3 frações isoenzimáticas da CK, como nos espécimens do Estado de Alagoas do Grupo I, embora com mobilidades diferentes. (Fig. 15).

No Grupo IV (Região da Caatinga) aparece apenas uma fração isoenzimática da CK em todos os espécimens estudados (Fig.16).

Na análise das isoenzimas da LD, foi encontrada apenas uma fração em todos os espécimens dos quatro grupos estudados, com mobilidade entre as frações LD₃ e LD₄ do padrão (Fig.17).

Fig. 11 Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de Panstrongylus megistus da Região Tropical Atlântica (Alagoas).

Fig. 11.a Perfil eletroforético da CK isoenzimas do Grupo I, Alagoas, após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum.

Fig.12 Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de Panstrongylus megistus da Região Tropical Atlântica (São Paulo).

Panstrongylus megistus

Padrão

Fig. 12.a Perfil eletroforético da CK isoenzimas, do Grupo I, São Paulo, após alimentação 30, 60, 90, dias de jejum.

Fig. 13 Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de Panstrongylus megistus da Região Tropical Atlântica (Paraná).

Panstrongylus megistus

Padrão

Fig. 13.a. Perfil eletroforético da CK isoenzima do Grupo I - Paraná, após alimentação, 30, 60, 90, dias de jejum.

Fig. 14 Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de Panstrongylus megistus da região da Floresta de Inclusão (Bahia).

Fig.14a Perfil eletroforético da CK isoenzima do Grupo II - Bahia após alimentação 30, 60, 90 dias de jejum.

Fig.15 Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de Panstrongylus megistus da Região do Agreste (Pernambuco).

Panstrongylus megistus

Padrão

Fig. 15.a Perfil eletroforético da CK isoenzimas do Grupo III - Pernambuco, após alimentação 30, 60, 90 dias de jejum.

Fig. 16 Gráfico eletroforético das frações da CK - isoenzimas de Panstrongylus megistus da região da caatinga (Rio Grande do Norte).

Fig.16a Perfil eletroforético da CK isoenzima do Grupo IV - Rio Grande do Norte após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum.

Panstrongylus megistus

Padrão

Fig. 17 Perfil eletroforético da LD isoenzima nos 4 grupos estudados após alimentação, 30, 60, 90 dias de jejum.

5. CONCLUSÕES

5.1 Na população triatomínea foram observadas diferenças do metabolismo energético com relação a dois metabólitos (Proteína e Glicose) e a duas enzimas (LD e CK) estudadas entre as diferentes regiões geográficas brasileiras (Região Tropical Atlântica, Região da Floresta de Inclusão, Região do Agreste, Região da Caatinga).

5.2 Com relação à proteína notou-se uma queda progressiva dos níveis em função dos dias de jejum. A região I (Tropical Atlântica) apresentou concentração protéica mais elevada, e os níveis mais baixos foram observados no Grupo II (Região da Floresta de Inclusão).

5.3 Com relação à glicose, o Grupo II (Região da Floresta de Inclusão) acusou uma queda mais intensa durante o tempo de jejum, que os outros grupos.

5.4 A atividade enzimática da LD que apresentou apenas uma fração isoenzimática em todos os espécimens, revelou níveis mais baixos no Grupo II.

5.5 Na atividade enzimática da CK notou-se uma queda maior no Grupo I provocadas pelos espécimens do Estado de São Paulo. As frações isoenzimáticas da CK revelaram diferenças nítidas entre o Grupo II (4 frações), o Grupo III (3 frações) e o Grupo IV (1 fração).

5.6 O Grupo I (Região Tropical Atlântica) mostrou um comportamento diferente da isoenzima CK do Estado de Alagoas com 3 frações, em relação a São Paulo e Paraná que apresentaram 1 fração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALENCAR, J. E; FONTENELE, Z.F.; CUNHA, R.V.; SHERLOCK, I. R.A. - A moléstia de Chagas no Ceará. An:Congr,Intern. Doenças de Chagas, 1:35-50, Rio de Janeiro, 1959.
- 2- ALENCAR, J.E.; SHERLOCK, V.A. - Triatomídeos capturados em domicílio no Estado do Ceará. Brasil. B. Soc.Ceará Agron. 3:49-54, 1962.
- 3- ALENCAR, J.E. et al; Distribuição geográfica dos principais vetores de endemias no Estado do Ceará 1 - Triatomíneos. Rev.Soc. Bras.Med.Trop., 10:261-84, 1976.
- 4- ALONSO, M.T.A. - Vegetação. In: Fundação IBGE - Paisagens do Brasil. Rio de Janeiro, 1968. v.2, p.60-77.
- 5- AMADOR, E. - Serum lactic dehydrogenase activity: analytical assessment of current assays. Clin. Chem., New York, 9:391-9, 1963.
- 6- APPELA, E. & MARKERT, C.L. - Dissociation of lactate dehydrogenase into subunits with guanidine hydrochloride. Biochem. Biophys. Res. Comm., New York, 6:171-6, 1961.
- 7- ARAGÃO, M.B. - Aspectos climáticos da doença de Chagas. II. Área de ocorrência do Panstrongylus megistus (Burmeister, 1935). Rev.Bras.Malar, 13:171-93, 1961.
- 8- ARAGÃO, M.B. - Distribution of Triatoma infestans. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 5: 183-91, 1971.
- 9- BARRETO, M.P. - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do Trypanosoma cruzi, XLV. Inquérito preliminar sobre triatomíneos silvestres no Sul do Estado do Mato Grosso, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). Rev.Bras. Biol., 31: 225-33, 1971. Rio de Janeiro.
- 10- BARRETO, M.P. - Ecologia de triatomíneos e transmissão do Trypanosoma cruzi, com especial referência ao Brasil.

Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 10:339-53, 1976.

- 11- BARRETO, M.P. - Epidemiologia. In: Brener, Z. et al. Trypanosoma cruzi e Doenças de Chagas. Rio de Janeiro, Ed. Guanabane Koogan, 1979. p. 89-151.
- 12- BURALLI, G.M. et al. - Alimentação de Triatoma infestans em laboratório. Rev. Bras. Malar. D. Trop., 32:42-52, 1980.
- 13- BURSELL, E. - Aspectos de ecologia fisiologica. In: Introducion a la fisiologia de los insctos. Madri, Ed. Alhambra, 1974, p. 294-329.
- 14- CANDIDO, L.M. et al - Intracellular localization of trehalase in thoracic Muscle of Triatoma vitticeps Arg. Biol. Tecnol. 24:333-41, 1981.
- 15- CASTETLON, C.W. et al - Levantamentos de triatomíneos domiciliares em Barreiras, Bahia. Rev. Goiana Med., 20:201-7, 1974.
- 16- CAZZULO, J.J. - La degradacion Aeróbica de la Glucosa por Trypanosoma cruzi. Medicina (Buenos Aires). 38(1): 53-9, 1978.
- 17- COELHO, L.T. - Determinação da atividade da deidrogenase láctica [LD] EC. 1.1.1.27 e suas isoenzimas em eritrócitos de indivíduos considerados normais e portadores de anemia hipocrômica. Rev. Bras. Anal. Clin., 10:23-8, 1978.
- 18- CHANDELIER, E.L. et al - Trealase activity of Panstrongylus megistus Haemolymph. Arg. Biol. Tecnol., 19: 91-4, 1976.
- 19- CORRÊA, R.R. - Informe sôbre a Doença de Chagas no Brasil e em especial no Estado de São Paulo. Rev. Bras. Malar., 20:39-81, 1968.
- 20- DI PRIMO, R.F. - Triatomíneos e seus índices de infecção no Rio Grande do Sul. An. Fac. Med. Porto Alegre, 32:9-13, 1972.

- 21- FELICIANGLI, M.D. et al - Resistencia al ayuno en Triatominos (Hemiptera, Reduviidae) Venezolanos, Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo, 22:53-61, 1980.
- 22- FICHERA, L.E. & BRENER, R. - Isolation and characterization of the haemolymph lipoproteins of Triatoma infestans. Comp.Biochem.Physiol., 728:71-5, 1982.
- 23- FERREIRA NETO, J.A. et al - New data on the geographical distribution of triatomine bugs in Santa Catarina, Brazil, Rev.Soc.Bras.Med.Trop., 5:175-81, 1971.
- 24- FORATTINI, O.P. - Entomologia Médica do Brasil. In:Lacaz, C. da S. et al - Introdução à geografia Médica do Brasil, São Paulo, Ed.Edgard Blucher Ltda., 1972 p.191-212.
- 25- FORATTINI, O.P. et al - Aspectos Ecológicos do Tripanosomíase Americana VIII - Domiciliação de Panstrongylus megistus e sua presença extra-domiciliar. Rev. Saúde Publ., São Paulo, 11:73-86, 1977.
- 26- FORATTINI, O.P. et al - Aspectos ecológicos da Tripanosomíase Americana IX Variação e mobilidade de Panstrongylus megistus em ecótopos artificiais. Rev. Saúde Publ., São Paulo, 11: 199-213, 1977.
- 27- FORATTINI, O.P. et al - Aspectos ecológicos da Tripanosomíase Americana XII - Variação regional da tendência de Panstrongylus megistus a domiciliação. Rev. Saúde Publ., São Paulo, 12: 209-33, 1978.
- 28- FORATTINI, O.P. - Hábitos alimentares, infecção natural e distribuição de triatomíneos domiciliados na região nordeste do Brasil. Rev.Saúde Publ., São Paulo, 15:113-64, 1981.
- 29- FORATTINI, O.P. et al - Nota sobre domiciliação de Panstrongylus megistus no litoral sul do Estado de São Paulo, Brasil. Rev.Saúde Publ., São Paulo, 16:127-31, 1982.
- 30- FORATTINI, O.P. - Biogeografia, origem e distribuição da

domiciliação de triatomíneos no Brasil. Rev. Saúde Publ., São Paulo, 14:265-99, 1980.

- 31- GUTLER, G. - Lactate dehydrogenase isoenzyme activity associated with cytomembranes. Prot. Biol. Fluids. Proc. Collog., Amsterdam, 15:167-93, 1967.
- 32- GRUBER, W. - CK Nac Ativado - Clin.Chem., 24: 177, 1978.
- 33- HOWARDS, R.W. - Chemical ecology and Biochemistry of insect hydrocarbons. Ann.Rev.Entomol., 27: 149-72, 1982.
- 34- JUAREZ, E. - Comportamento do Triatoma infestans sob várias condições de laboratório. Rev. Saúde Publ., São Paulo, 4:147-66, 1970.
- 35- JUAREZ, P. et al - Bioquímica del ciclo Evolutivo del Triatoma infestans (Vinchuca) V. Emission de Ácidos Grasos Volatiles. Acta.Physiol. Lat.Ame., 31:114-7, 1981.
- 36- LENT, H.- Estado atual dos estudos sobre os transmissores da doença de Chagas. In: Congresso Internacional de Doença de Chagas, São Paulo, 1962. Anais. São Paulo, 1962. v.3 p.739-70.
- 37- LOWRY, H. - Protein. J.Biol.Chem., 193: 265, 1951.
- 38- LUCENA, D.T. - Estudos sobre a Doença de Chagas no nordeste do Brasil. Rev.Bras.Malar., 22: 3-173, 1970.
- 39- LUCENA, D.T. - Infecção natural de Panstrongylus megistus (Burmeister, 1835) por Trypanossoma Rangeli (Tejera, 1920), no interior do Estado de Alagoas. Rev.Inst.Med. Trop., São Paulo, 15: 171-8, 1973.
- 40- LUCENA, D.T. - Panstrongylus megistus Leucofasciatus em Pernambuco, Brasil, Rev.Inst.Med.Trop., São Paulo 19:332-4, 1977.
- 41- MARKET, C.L. - Dissociation and recombination of subunits.

Science, 140:1329-30, 1963.

- 42- MARKET, C.L. et al - Multiple forms of enzymes: tissue ontogenetic and specific-patterns. Proc. Nat. Acad. Sci., Washington, 45: 753-63, 1969.
- 43- MASSOD, M.F. - Glicose. Amer.J.Med.Technol., 43:243. 1976.
- 44- MELLO, N.M.F. et al - Carboidratos na Hemolinfa de Panstrongylus megistus. Arq.Biol.Tecnol., 19:5-16, 1976.
- 45- MILES, M.A. et al - O ecótopo de Panstrongylus megistus (Hemiptera reduviidae) na Floresta do Horto (Rio de Janeiro) Rev.Bras.Biol., 42:31-2, 1982.
- 46- MINTER, D.M. et al - The lost selection patterns and infection rates of Panstrongylus megistus in an area of Eastern Brazil. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67:291, 1973.
- 47- MORETTI, I.G. et al - Estudo preliminar do perfil eletroforético das proteínas da saliva de Rhodnius prolixus e Triatoma brasiliensis. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 37: 61-4, 1977.
- 48- MOURA, A. et al - Cardiopatia chagásica de origem silvestre no litoral Paranaense. Estudo epidemiológico da área. Rev.Inst.Med.Trop., S.Paulo, 11:408-24, 1969.
- 49- NEILANDS, J.B. - The purity of crystalline lactic dehydrogenase. Science, Washington, 111:143-4, 1952.
- 50- NEIVA, A. - Notas e comentários sobre triatomíneos. Listas de espécies e sua distribuição geográfica. R. entomol, 6:153-90, 1936.
- 51- NEMENYI, P. - Distribution-free multiple comparisons New-York, State University of New-York, Downstate Medical Centre, 1963.
- 52- RIBEIRO, R.D. - Estudos sobre reservatórios e vetores sil

- vestres do Trypanosoma cruzi. LXVI. Ciclo evolutivo do Trypanosoma cruzi na cavidade celômica do Panstrongylus megistus. Rev.Bras.Biol., 37:907-12, 1977.
- 53- SHERLOCK, I. et al - Fauna triatominae do Estado da Bahia, Brasil. I. - As espécies e distribuição geográfica. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 5:267-75, 1972.
- 54- SHERLOCK, I. - Vetores. In: Brener Z et al - Trypanosoma cruzi e Doenças de Chagas: Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1979, p.42-88.
- 55- STOKA, A. - Interacciones de hormona juvenil.I com proteínas de hemolinfa de insectos. Rev. Soc. Ent., Argentina, 40: 41-7, 1981.
- 56- SZUMLEWICZ, A.P. - Estudo sobre a biologia do Triatoma infestans, o principal vetor da Doença de Chagas no Brasil. Rev.Bras. Malar., 41:118-59, 1969.
- 57- TIBAYRENC, M. - Comparaison isoenzymatique de deux populations boliviennes (altitude et plaine) de Triatoma infestans (Hemiptera, Reduviidae) Cah.O.R.S.T.O.M., Ent. Med. et Parasitol XIX: 125-7, 1981.
- 58- TOLEDO FILHO, S.A. et al - Variação da hemolinfa de Triatoma infestans. Rev.Saúde Publ. S.Paulo, 3:231-32, 1969.
- 59- VEIGA, L.A. et al - Aspectos especiais da bioquímica de carboidratos em insetos. Arq.Biol.Technol. 16: 101-10, 1973.
- 60- WIEME, R.J. - Application diagnostique de L'enzymo electrophorese des deshydrogenases de l'acide lactique. Clin. Chem. Acta., Amsterdam, 4:46-50, 1959.
- 61- WIGGLESWORTH, V.B. - The principles of insect physiology, Ed. Chapman and Hall, 1974.