

TRYPANOSOMIASIS AMERICANA EN EL PERU

VII. Cepas del *Trypanosoma cruzi* de escasa virulencia.

ARÍSTIDES HERRER

Departamento de Parasitología del Instituto
Nacional de Higiene y S. P.

JORGE DÍAZ

Departamento de Diagnóstico del Instituto
Nacional de Higiene y S. P.

Introducción. Son frecuentes las referencias al variable grado de virulencia que ciertas cepas del *Trypanosoma cruzi* suelen mostrar en los animales de laboratorio experimentalmente infectados (VILLELA, 1925; CLARK y DUNN, 1932; DÍAZ, 1936; etc.). Aunque la causa de esto no se conoce, en algunas ocasiones parece existir cierta relación con las especies de triatominos que actúan como vectores (MAZZOTI, 1940). Se supone, igualmente, que podría existir relación entre la virulencia de las cepas del parásito y el huésped vertebrado que sirve de reservorio en la naturaleza. Por otro lado, la frecuencia con que se lleva a cabo el pasaje del trypanosoma entre el reservorio y el huésped vector también condicionaría el grado de virulencia.

Desde noviembre, 1952, estamos obteniendo cepas del *T. cruzi* de diversas localidades de la cuenca del Marañón (región selvática del Perú próxima al Amazonas), las que son de escasa virulencia para la rata blanca. Estas cepas proceden tanto del *Panstrongylus herreri* con infección natural capturado en habitaciones humanas, como también de xenodiagnósticos efectuados en la población de varias localidades de la referida cuenca del Marañón. En el mes de marzo del presente año (1955), capturamos también en la provincia de Moyobamba especímenes del *P. herreri* infectados al parecer con la misma cepa poco virulenta del *T. cruzi*. Como se sabe la provincia de Moyobamba se encuentra en la región selvática del Huallaga, vecina a la del Marañón.

En las primeras inoculaciones hechas con el contenido intestinal del *P. herreri* procedente de la cuenca del Marañón no pudimos infectar ratas blancas de mediana edad, lo que es raro con otras cepas peruanas del *T. cruzi*. Conocida como es la resistencia que este roedor desarrolla con la edad al *T. cruzi* (KOLODNY, 1939), ensayamos algunas series de inoculaciones empleando ratas blancas muy tiernas, de 1 a 2 semanas de edad, obteniendo entonces buenos resultados. En esta forma llegamos también a conocer que, a parte de la peculiaridad de infectar únicamente ratas muy tiernas, las cepas del *T. cruzi* procedentes del Marañón dan lugar a infecciones con un parasitismo hemático notablemente bajo y de corta duración. Estas particularidades son tan acentuadas que, no obstante mostrar los trypanosomas observados en la sangre de las ratitas infectadas, la morfología propia del *T. cruzi* (Figs. 1 y 2), al principio nos hizo suponer podría tratarse de alguna otra especie; pero, al verificar la multiplicación intracelular y al estado de leishmania (Figs. 3 y 4), no había duda que realmente se trataba del agente etiológico de la enfermedad de Chagas.

Desde que determináramos la capacidad de las cepas de la cuenca del Marañón de infectar tan sólo ratas muy tiernas, hemos inoculado hasta ahora (abril 1955) cerca de 80 ratitas, que fluctúan entre 6 y 32 días de edad, logrando infectar a la mayoría de ellas. Sin embargo, por lo regular en los animales mayores de 15 días (peso por encima de 15 gramos) la infección se consiguió con cierta dificultad, y la parasitemia era extremadamente baja; en las ratitas muy tiernas, por el contrario, la infección se obtuvo en todos los casos ensayados, y con frecuencia dieron lugar a un parasitismo de considerable intensidad pero, en todo caso, de corta duración. Por otro lado, las ratas muy tiernas frecuentemente presentaron manifiestos trastornos nerviosos y algunas de ellas murieron según parece a consecuencia de la infección. En esta ocasión ofrecemos los resultados de una pequeña serie de las anteriores inoculaciones, con el objeto de mostrar las peculiaridades de las cepas del *T. cruzi* procedentes de la cuenca del Marañón, especialmente en lo que concierne con la baja intensidad y corta duración de la parasitemia.

MATERIAL Y METODOS

Cepas del TRYPANOSOMA CRUZI. Usamos cepas del *T. cruzi* de 2 procedencias diferentes, designadas por nosotros como cepas "M" (cepas del Marañón) y cepas "C" (cepas de la costa), respectiva-

mente. Las primeras proceden de la cuenca del Marañón y fueron obtenidas a través del *Panstrongylus herreri* capturado en habitaciones humanas; y las cepas "C", de la región sudoccidental del Perú, donde también es endémica la enfermedad de Chagas. En este caso se obtuvo las cepas por intermedio del *Triatoma infestans*, capturado del mismo modo en las habitaciones humanas, en una localidad de la zona conocida como Costa.

Inóculo. Tratando de uniformar en lo posible el material que se inoculaba, en todos los casos empleamos la mezcla de heces y contenido intestinal de un espécimen adulto de los mencionados triatomíneos. Para esto el insecto se disectó sobre una gota de solución salina (NaCl) al 8.5 gramos por mil, y luego la mezcla de heces y contenido intestinal se inoculó a las ratitas por vía intraperitoneal.

Animales inoculados. Empleamos en esta serie 5 ratitas que procedían de una misma cría, tenían 15 días de edad y un peso variable entre 9.0 y 11.0 gramos. Tres de ellas, números 59, 60 y 61, fueron inoculadas con material infectante del *P. herreri*, infectado en la naturaleza con la cepa "M" del *T. cruzi*, cepa de escasa virulencia; y las 2 restantes, números 62 y 63, fueron inoculadas con la cepa "C", de virulencia normal. En esta forma se ha observado comparativamente el comportamiento de ambas cepas. A partir del cuarto día de la inoculación la sangre de los animales se observó por espacio de 2 meses, por lo regular cada 48 horas y siguiendo la técnica que se expone en el párrafo siguiente. Al término del período de observación se llevó a cabo xenodiagnósticos en las 3 ratitas inoculadas con la cepa "M", y luego todos los animales fueron descartados.

Determinación de la intensidad del parasitismo. La intensidad de la parasitemia se determinó expresando el número de trypanosomas por milímetro cúbico de sangre, en la siguiente forma: Con una muestra suficientemente limpia de mercurio se determinó la capacidad del tubo capilar de las pipetas hematológicas usadas en la cuenta de los eritrocitos. Empleamos pipetas de 4 marcas comerciales diferentes, en las que la parte graduada de los respectivos tubos capilares tenían una capacidad que varió entre 8.4 y 9.4 milímetros cúbicos. Como el tubo capilar de estas pipetas está dividido en 10 partes iguales, en nuestros estudios usamos corrientemente la sangre contenida tan sólo en 2 ó 3 divisiones, la que una vez medida era colocada sobre un porta-objetos

y luego cubierta por una laminilla de 18 x 18 mm. En seguida, con un aumento microscópico de 300 diámetros se contó los parásitos en toda la preparación, refiriéndolos finalmente al milímetro cúbico.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la serie de inoculaciones de que damos cuenta se encuentran en el cuadro, donde se puede apreciar que se logró infectar a todas las ratitas inoculadas. Los 5 animales de esta serie sobrevivieron los 2 meses de observación, por lo cual fueron sacrificados al final. Ninguno de ellos mostró trastornos nerviosos, cosa que había sido observada en algunas ratas de igual edad y peso que fueron inoculadas con la cepa "M" en ensayos preliminares. De los xenodiagnósticos llevados a cabo en las ratitas N° 59, 60 y 61, a los 60 días de haber sido inoculadas con la cepa "M", tan sólo uno (N° 61) fué positivo. En este xenodiagnóstico se habían empleado 10 ninfas del *Triatoma infestans*, al disectar las cuales sólo una mostró escasísimos trypanosomas en el contenido intestinal.

DISCUSION

Al observar los cifras que contiene el cuadro, del mismo modo que la gráfica adjunta, se aprecia con facilidad que entre las cepas "M" y "C" existen diferencias en cuanto a: 1) la intensidad de la parasitemia; 2) duración de la misma; y 3) el período de incubación. Consideradas en conjunto estas características, así como la propiedad de la cepa "M" de infectar únicamente ratas bastante tiernas, resulta manifiesto que hay marcada diferencia entre tal cepa y la cepa "C".

La cepa "M", tanto por el corto período de incubación así como por la duración de la parasitemia, difiere también de aquellas cepas del *T. cruzi* con baja virulencia que señala la literatura. En efecto, el rasgo más apreciable en las cepas de poca virulencia que se ha observado en otros lugares lo constituye fundamentalmente la baja parasitemia; el tiempo que ésta dura, en cambio, no presenta mayores particularidades. Por otro lado, se acepta que las cepas de baja virulencia tengan un período de incubación más largo, de manera semejante a lo que sucede en las infecciones de baja intensidad obtenidas experimentalmente al inocular pequeñas cantidades de trypanosomas (ROMAÑA y TERRACINI, 1945). En este sentido, la duración de la parasitemia observada en las ratitas inoculadas con la cepa "M" es tan breve que no necesita mayores comentarios (ver la gráfica); y, en lo que

respecta al período de incubación ligeramente más corto, sin duda adquiere mayor significación si se le relaciona con la escasa virulencia que presenta la referida cepa. Además, las características mencionadas se han observado hasta ahora de manera constante en todas las inoculaciones que tenemos llevadas a cabo con la referida cepa "M".

Por el momento es imposible explicar por qué las cepas del *T. cruzi* que proceden de la cuenca del Marañón y la región de Moyobamba difieren tanto de aquellas cepas que en el Perú son transmitidas por el *Triatoma infestans* en la vertiente occidental de los Andes. Sin embargo, conviene tener en cuenta que las cepas "M" y las cepas "C" proceden de regiones geográficas bastante alejadas y diferentes en cuanto al clima, además de ser transmitidas por distintas especies de triatominos. Es posible, pues, que la acción del clima, el pasaje sucesivo entre el insecto vector y algunos reservorios que aún se desconocen, en una región donde no ha habido ocasión de mezclarse con cepas de otras procedencias, hayan generado con el tiempo las particularidades que en la actualidad muestra la cepa "M". Tal vez si estas mismas razones explicarían también las diferencias existentes entre tales cepas "M" y las otras cepas de baja virulencia que han sido observadas en diversos países.

SUMARIO

Se da a conocer los resultados de una serie de inoculaciones en la rata blanca con dos cepas peruanas del *Trypanosoma cruzi* que proceden de regiones geográficas distintas y son transmitidas en la naturaleza por especies también distintas de triatominos. Una de ellas tiene como vector natural al *Triatoma infestans* y procede de la región sudoccidental del Perú; la otra, es transmitida en la naturaleza por el *Panstrongylus herreri* en la cuenca del Marañón. Los resultados principales que se han obtenido en tales inoculaciones son los siguientes:

1. Existe manifiesta diferencia entre las citadas cepas del *T. cruzi*, cuando menos en lo que concierne con la virulencia, duración de la parasitemia y la capacidad de infectar a la rata blanca.
2. Las cepas que proceden de la región sudoccidental no presentan particularidad alguna en cuanto a los caracteres mencionados, pudiendo por tanto considerárseles como cepas ordinarias del *T. cruzi*.
3. Las cepas que proceden de la cuenca del Marañón y la provincia de Moyobamba, en cambio, infectan tan sólo a ratas blancas bastante tiernas, son de poca virulencia y la parasitemia a que dan lugar es bastante corta.

Cuadro I. Cantidad de *trypanosomas* por milímetro cúbico de sangre en ratas inoculadas con dos cepas diferentes de *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Días de observación después de la inoculación	Número de trypanosomas por milímetro cúbico de sangre						
	Ratas inoculadas con la "cepa M"				Ratas inoculadas con la "cepa C"		
	59	60	61	Promedio	62	63	Promedio
4	1	0	0	0	0	0	0
6	9	1	1	4	0	1	0
8	19	4	1	8	19	10	15
10	9	2	1	4	16	25	20
12	1	4	0	2	360	52	206
14	1	0	0	0	960	85	523
16	0	0	0	0	1000	616	808
18	0	0	0	0	3020	1990	2505
20	0	0	0	0	4356	2300	3328
23	0	0	0	0	2121	1472	1796
25	0	0	0	0	1774	1408	1591
27	0	0	0	0	3160	987	2073
29	0	0	0	0	1995	715	1355
31	0	0	0	0	480	164	322
34	0	0	0	0	4	75	40
36	0	0	0	0	2	1	2
38	0	0	0	0	1	2	2
41	0	0	0	0	0	1	1
43	0	0	0	0	1	1	1
45	0	0	0	0	4	0	2
48	0	0	0	0	2	2	2
50	0	0	0	0	1	1	1
52	0	0	0	0	1	5	3
55	0	0	0	0	1	1	1
57	0	0	0	0	1	0	1
59	0	0	0	0	0	0	0

SUMMARY

There are reported the results of a series of inoculations in white rats with two Peruvian strains of *Trypanosoma cruzi* which come from different geographic areas and are transmitted in nature by different species of triatomas. One strain has as its natural vector *Triatoma*

infestans and comes from the southwestern area of Peru; the other, transmitted in nature by *Panstrongylus herreri*, comes from the basin of the Marañon River. The principal results obtained from these inoculations are as follows:

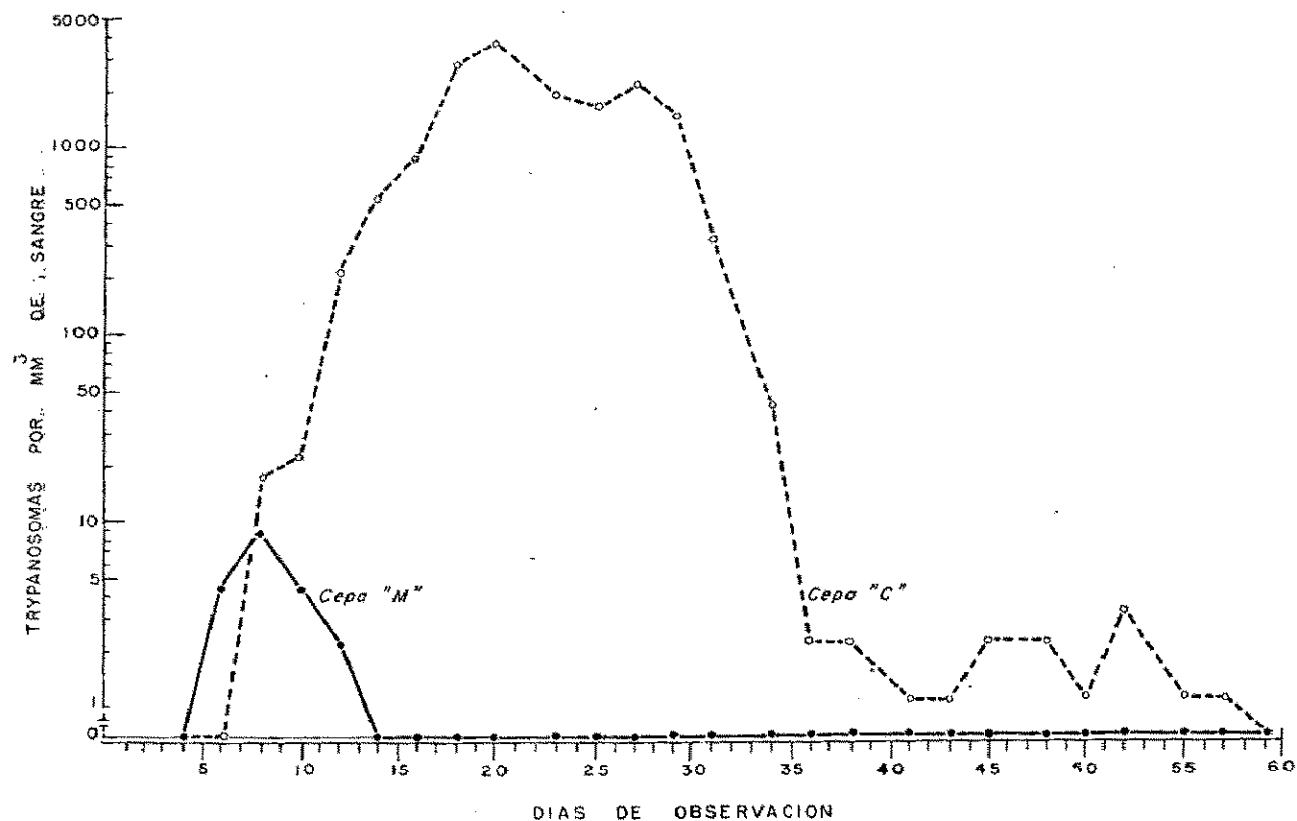
1. There are differences between the two strains of *T. cruzi* in respect to virulence, duration of parasitemia, and ability to infect white rats.

2. The strains which come from the southwestern area do not have any differences from the characteristics listed that would make them different from ordinary strains of *T. cruzi*.

3. The strains from the Marañon basin and the province of Moyobamba, on the other hand, infect only very young white rats, are of low virulence, and the period of parasitemia which occurs is rather short.

REFERENCIAS

- CLARK, H. C. y DUNN, L. H.
1932 Experimental studies on Chagas' disease in Panamá. *Amer. J. Trop. Med.*, 12: 49-77.
- DIAS, E.
1936 Revisao geral do hemoflagelados de Chirópteros. Estudio experimental do *Schizotrypanum* de *Phyllostomus hastatus*: Identidade com *Schizotrypanum cruzi*. O grupo *Vespertilionis*. 9a. Reunión Soc. Argent. Pat. Regional (1-4 octubre) 1935, pp. 10-88.
- KOLODNY, M. H.
1939 Studies on age resistance against trypanosome infections. I. The resistance of rats of different ages to infection with *Trypanosoma cruzi*. *Amer. J. Hyg.*, 29: 13-24.
- MAZZOTTI, L.
1940 Variation in virulence for mice and guinea pigs in strains of *Trypanosoma cruzi* Chagas from different species of bugs (Triatominae) from different localities in Mexico. *Amer. J. Hyg.*, 31: 67-85.
- ROMAÑA, C. y TERRACINI, E.
1945 Comportamiento de las infecciones de lauchas por *S. cruzi*, según la concentración de parásitos inoculados (infecciones crónicas iniciales). *An. Inst. Med. Reg.*, Tucumán, 1: 141-164.
- VILLELA, E.
1925 Verificação do poder pathogenico do *Trypanosoma cruzi* (raça neurotropica). *Ciencia Méd.*, 3: 147-148.



Representación gráfica de la parasitemia de las cepas "Costa" y "Marañón" del *TRYPANOSOMA CRUZI* en la serie de inoculaciones de que se informa en el presente artículo..

EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Figs. 1 y 2.—Frotis de sangre de una ratita infectada con la cepa "Marañón" del *Trypanosoma cruzi*, en el que se puede observar la morfología propia de este parásito (Coloración Giemsa; 1,200x).

Figs. 3 y 4.—Frotis del cerebro y de la médula de la misma ratita, pudiéndose apreciar la multiplicación del trypanosoma al estado de leishmania (Coloración Giemsa; 1,200x).

