

Observaciones realizadas con cepas de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 conservadas sobre ratones blancos

Por R. L. DIOS y E. T. W. de SOMMERVILLE

El trabajo que origina esta comunicación fué iniciado el año 1924 y tiene por punto de partida el hallazgo realizado por la comisión presidida por el profesor Peter Mühlens y sus colaboradores: R. L. Dios, Juana Petrocchi y Juan A. Zuccarini, quienes encontraron por primera vez en nuestro país dos casos de *Typanosoma cruzi* en el hombre.

Con motivo de esa comprobación, emprendimos estudios sobre índices de infección de los Triatomas, en especial sobre la especie predominante de esos invertebrados en nuestro medio: *Triatoma infestans*. Ciertamente que los primeros trabajos sobre este importante asunto, habían sido iniciados con anterioridad por Rosenbusch y Maggio y luego por Kraus, Rosenbusch y Maggio.

Las conclusiones de estos autores en cuanto se refiere a la presencia de portadores humanos en las zonas con abundante parasitismo de triatomas por el microbio de Chagas, indicaban la poco probable contaminación humana por los tripanosomas de las «vinchucas», pero, no obstante esta aseveración, es indudable que sus trabajos marcan todo un honroso jalón en nuestra bibliografía nacional.

Las verificaciones de nuevos casos humanos, realizados por Dios, Zuccarini, Oyarzábal, Borzone y Coda y luego por S. Mazza, fueron aumentando paulatinamente el número de comprobaciones de portadores humanos del *T. cruzi* en nuestro país.

Desde el trascendental descubrimiento de C. Chagas en el Brasil el año 1909, este destacado investigador y sus colaboradores, buscaron afanosamente la especie animal más receptiva a las pruebas de contaminación experimental por el *T. cruzi*; es de todos conocido las pacientes vigilias de Chagas y O. Cruz en procura de los

vertebrados más sensibles para la realización de pruebas experimentales. Cierta especie de monos: *Appale penicillata*, se mostraron desde un principio como dotados de particular sensibilidad a los distintos ensayos de infección experimental. Posteriormente C. Chagas adoptó para sus estudios los cavia con resultados muy efectivos.

Es innegable la influencia determinada por la escuela brasileña sobre todos los otros ambientes científicos, en cuanto a la privilegiada condición de los cavia para la experimentación con el *T. cruzi*.

Los trabajos realizados por Mühlens y colaboradores, mostraron desde su iniciación, que los cavia — por lo menos los de nuestro país — no presentaban esa tan particular receptividad con respecto a nuestras cepas en los distintos ensayos de contaminación, expresando su criterio de la siguiente manera: « Los pasajes sucesivos realizados en lauchas ⁽¹⁾ dan siempre resultados muy satisfactorios. Los datos anteriormente expuestos, demuestran claramente, que los cobayos han opuesto una considerable resistencia a la reproducción del virus mantenido en lauchas. En síntesis podemos decir que en nuestros experimentos el *T. cruzi* se ha adaptado con regular constancia a vivir en lauchas ».

Los autores citados anteriormente no sólo realizaron sus ensayos de infestación en los ratones blancos con materiales de triatomas contaminados, sino también pruebas de inoculación de sangre de los primeros casos humanos hallados por ellos en la República Argentina. Tanto con los jugos digestivos de los invertebrados transmisores, cuanto con las muestras de sangre humana parasitada los resultados fueron óptimos.

Para afirmar más su decidida predilección en favor de los ratones blancos como medio de segura valía en el diagnóstico, Mühlens y colaboradores al estudiar las formas de localización en los órganos de los animales sensibles, nos dan nuevamente su opinión favorable, cuando dicen: « Esta ausencia de localización en los órganos internos de las cobayas inoculadas es un hecho más, que a nuestro entender aboga en favor de que la laucha es el animal de elección para el estudio de la parasitosis con el *T. cruzi*, por lo menos con el que ha sido encontrado por nosotros en la República Argentina ».

Algunos autores, entre ellos C. Pinto, se mostraron contrarios a

(1) Denominación vulgar, impropia, que se da en nuestro país a los ratones blancos.

las opiniones que acabamos de exponer. En 1924, César Pinto, publicó en « *Sciencia Medica* », Nº 10, pág. 546, un artículo titulado « *Doença de Chagas en la República Argentina* ». Este trabajo es un comentario a las investigaciones de Mühlens, Dios, Petrocchi y Zucarini, en que dicho autor dice: « que el animal escogido por estos investigadores es el menos indicado, porque es refractario al *T. cruzi* ». Como vemos, no puede ser más inconsistente la crítica hecha por este investigador brasileño, de las afirmaciones sostenidas por los autores citados ». (Índices de infestación del *T. infestans*. Dios, Somerville, Bonacci y Aldao. *Rev. I. B. del D. N. H.*, T. VIII, pág. 84, 1936).

Algunos autores nacionales, entre ellos F. Niño — por error que suponemos involuntario —, se han atribuido la prioridad en lo que respecta a la sensibilidad de los ratones blancos en las pruebas de infección experimental con el *T. cruzi*. Por razones elementales de justicia, hemos tratado en la exposición que acabamos de realizar, de reivindicar — sin ánimo de herir a nadie —, especialmente para nuestro ilustrado maestro el profesor P. Mühlens, la prioridad en nuestro país, de esta comprobación.

Es indispensable indicar que la prioridad que hemos señalado se refiere solamente a nuestros virus y animales, puesto que ya en el año 1912, Mayer, Da Rocha Lima y Neumann habían comprobado la sensibilidad de los ratones blancos a la inoculación experimental con el tripanosoma de Chagas, que posteriormente verificó Brumpt conjuntamente con su observación de que los caviares adultos y los destetados parecían refractarios (Laveran y Mesnil) (*).

El total de animales utilizados por nosotros en este trabajo, es de 2413 ratones blancos, de mediana edad, tal como es costumbre su entrega a las secciones de los animales de esta especie, procedentes de los criaderos del Instituto. En general, puede decirse, que los animales utilizados estaban en perfectas condiciones de salud, cuidados con el esmero que es norma corriente en nuestros viveros. Por otra parte, todos estos animales recibieron siempre especiales cuidados higiénicos por el personal de la sección.

La observación de la sangre de los ratones blancos, se realizaba con intervalos variables de tiempo, pero salvo casos especiales, podemos decir que cada animal se revisaba por lo menos una vez por

(*) Los cuatro autores citados realizaron sus estudios con virus originarios del Brasil.

semana, practicando exámenes en gotas gruesas coloreadas con la solución de Giemsa. Tanto los animales negativos como los positivos fueron sometidos a idénticas pruebas durante todo el tiempo de su vida. En esta forma no resultaría exagerado sostener que la realización del trabajo que duró unos 18 años nos obligó a realizar alrededor de 30.000 a 35.000 exámenes de sangre.

El número total de cepas estudiadas es de 29, de las cuales 20 corresponden a lotes de animales inoculados con virus procedente de triatomas contaminados y 9 a cepas origen de sangre parasitada de casos humanos de diversa procedencia.

Los triatomas utilizados como fuente de infestación para los ratones habían sido coleccionados por nosotros o remitidos desde distintos puntos del país por diversos colaboradores; igual circunstancia debemos mencionar con respecto a algunas de las cepas humanas que hemos empleado en estas experiencias.

Todos los ratones blancos fueron inoculados por vía peritoneal con cantidades más o menos constantes de material infeccioso. Es posible imaginar que el empleo de otras vías para la introducción experimental de los virus, sea capaz de originar acentuadas variaciones con respecto a la virulencia de las cepas, así como para influir en los porcentajes positivos de animales a las inoculaciones.

Es de todos conocido las investigaciones de E. Chagas y E. Dias sobre los activos procesos de multiplicación de los tripanosomas que se cumplen en la piel en vecindad del punto de inoculación y que con anterioridad a las comprobaciones de estos autores, fueron realizados por H. Bonacci en ensayos positivos de inoculación de cultivos del *T. cruzi* en P. G. P., utilizando su óptima fórmula nutritiva.

Chagas atribuyó, desde sus primeros estudios, un gran valor a la inoculación por la vía peritoneal en la infección experimental del tripanosoma: «Las inoculaciones intraperitoneales son las que provocan las infecciones más intensas y más rápidamente mortales» (Laveran y Mesnil, tomado de C. Chagas).

El porcentaje de animales positivos fué de 71 % y los negativos 28,8 % con las distintas cepas empleadas, este último porciendo debe considerarse elevado si se tiene en cuenta la riqueza de parásitos de los materiales infecciosos, especialmente aquellos que procedían de contenido intestinal de triatomas y que no obstante esta circunstancia en apariencia tan favorable llegaron a un 72,8 %, cifra global indudablemente alta, pero, que sufre declinaciones muy evidentes al compararla con los resultados negativos parciales de muchas

cepas de origen triatomas de la naturaleza infectados con la variada gama de formas evolutivas del tripanosoma en estos invertebrados. Así las cepas denominadas: Santiago del Estero (31,6 %); San José de Flores (29,4 %); Cepa del cobayo 5 (36,3 %); Cepa Catamarca (33,6 %); Cepa Aldaretes (32,3 %); Cepa Triatomas San Fernando (38,5 %); Cepa Pomán Colpes (34,5 %); Cepa Gomes de Faria, Brasil (31 %); Cepa Tartagal (33,3 %); Cepa Misiones, Dr. Moscón (35,5 %), nos proporcionan resultados negativos bastante elevados.

Conviene indicar, que todas estas cepas de triatomas no procedían de un solo ejemplar, sino de lotes numerosos, de los cuales se elegían varios artrópodos con las mayores infecciones, portadores una gran parte de formas tripanosómicas claramente identificadas por medio de coloraciones con el método de May-Grünwald.

El por ciento de animales negativos con cepas de origen humano: 37,7 %, comparado con el de triatomas: 27,2 %, no demuestra una diferencia no muy marcada, pero que, en este caso pareciera adquirir mayor valor, si nos detenemos a pensar que en las cepas de casos humanos utilizados por nosotros — y como es corriente —, el número de tripanosomas en la sangre es siempre muy escaso, de ahí entonces que llame la atención, el cotejo comparativo de ambos resultados — dentro naturalmente de los términos de la relatividad —, que el buen criterio exige para apreciar resultados de esta naturaleza.

No escapa a nuestra observación la posible influencia que puede haber tenido en nuestros resultados, la persistencia de los pasajes en la misma especie animal, sostenida por algunos autores, entre ellos C. Chagas: « La virulencia disminuye con los pasajes en una misma especie animal, ej.: en los cavia y para volver a su virulencia inicial debe pasarse por otra especie animal, ej.: « *oustiti* » (L y M, tomado de C. Chagas).

Si nos detenemos a examinar las cifras que se refieren a intensidad de infección apreciada por nosotros en cruces y en la siguiente graduación: +—; +; ++; +++ y más, veremos claramente el marcado predominio de las infecciones moderadas: 36,3 % (+—) y 43,3 % (+); en cambio las de mayor intensidad están representadas por 14,6 % (++) y 5,5 % (+++ y más). La diferencia es muy evidente y en apariencia parece confirmar las ideas de Chagas, faltándonos a nosotros para obtener una confirmación definitiva el pasaje por la especie de mono a quien atribuye este autor la condición de elevar la virulencia de las cepas. Sin ánimo de

poner en duda las afirmaciones del ilustrado investigador de Manginhos, creemos que la causa de esa exaltación de virulencia está condicionada no sólo por la especie animal (mamífero), sino por la edad del sujeto de experimentación. Las experiencias realizadas por Regendanz y luego por Zuccarini en animales de pocos días de edad con el *T. cruzi* y las de otros autores, entre ellos Sívori y Lecler (con *T. equinum*), así como nuestro conocimiento sobre este tema de considerable importancia en la biología de los tripanosomas, afianza cada vez más la importancia y gravitación de estas investigaciones.

Brumpt, en 1927, en sus ensayos de infección experimental con *T. cruzi*, utilizó ratones y ratas jóvenes: «Las ratas jóvenes sucumben a las 2-3 semanas... En general los ratones curaban. En las ratas y ratones adultos la infección es benigna» (L y M).

Mayer y Da Rocha Lima, en el año 1912, publican sus observaciones: «Consiguieron infestar ratones y observaron la curación espontánea; después de pasajes sobre ratones, el virus mata una parte de éstos en 2 a 3 semanas» (Loc. cit.).

En nuestras dos líneas de experimentación: virus origen triatomas y virus origen humano, se han estudiado como dijimos, 29 cepas diferentes, de las cuales 20 corresponden a las primeras y 9 a las segundas. La diferencia de más del doble en número de cepas y la cantidad tan variable de animales utilizados en ambas, 1148 y 568 respectivamente, pueden restarle a nuestros resultados la condición de equilibrio necesario para establecer conclusiones más convincentes, pero que no invalidan determinadas comparaciones, como las sugeridas por la poca frecuencia de infecciones intensas, tomadas en forma global: 16,2 % y 12 % para materiales procedentes de triatomas y los de casos humanos.

La poca tendencia de los virus ha determinar fuertes parasitismos, podría explicar la sobrevivencia de los ratones blancos, por la ausencia de lesiones orgánicas capaces de producir la muerte de los animales y pasado el período de discreta invasión parasitaria — contrarrestada por los mecanismos de defensa —, la infestación disminuiría paulatinamente hasta desaparecer. Este hecho tan interesante, que como ya dijimos anteriormente ha sido observado también por otros autores, hemos tenido muchas oportunidades de corroborarlo en el curso de nuestras investigaciones.

Las cepas tanto de uno como de otro origen, comienzan por originar generalmente, infestaciones con muy poca cantidad de parásitos y luego, en ciertos casos, y previo varios pasajes, aparecen bruscas

exaltaciones no de la virulencia sino de la cantidad de tripano somas; este aumento se sostiene durante dos o tres pasajes sucesivos y nuevamente vuelve a descender a la cifra inicial. Generalmente estas oscilaciones se repiten una o dos veces con intervalos variables de tiempo, pero, luego desaparecen completamente, debilitándose paulatinamente la cepa hasta su completa pérdida en muchos casos. Estos cambios repentinos, aunque de carácter fugaz, nos parecen en buena parte condicionados por el estado de salud de los ratones blancos, pues hemos observado en muchas ocasiones, esas « pousses » de tripanosomas en lotes de animales aparentemente en malas condiciones (delgados, tristes, pelo erizado, etc.).

Debe tenerse muy en cuenta el régimen de alimentación, los cuidados higiénicos y la procedencia de los animales, como factores de indudable importancia en la exaltación espontánea de la virulencia de las cepas, así como lo hemos comprobado en los ratones blancos de los criaderos del Instituto. Hace ya unos años apareció una epidemia producida por pasteurellas que produjo gran mortandad de animales de cría y muchos de los sobrevivientes a esta peligrosa contaminación quedaban en deficientes condiciones de resistencia y una vez inoculados con nuestras cepas, generalmente atenuadas, adquirirían infecciones muy fuertes con altos porcentajes de muerte prematura. Este hecho se repitió en otras secciones del Instituto en las pruebas de inoculación con materiales de origen bacteriano a tal punto que nuestro Director, Dr. Sordelli, para subsanar tan grave inconveniente, solicitó y obtuvo el envío de lotes de ratones blancos de cría de procedencia norteamericana, con indicaciones sobre regímenes especiales de alimentación. A este cambio de animales y de alimentación atribuimos buena parte de la atenuación que hemos comprobado posteriormente en nuestras distintas cepas de *Trypanosoma cruzi*.

Ahora bien y sin tomar en cuenta la circunstancia anteriormente mencionada, creemos como ya manifestáramos en un trabajo anterior, que es innegable la marcada resistencia de los ratones blancos de mediana edad al posterior incremento numérico y virulencia del tripanosoma de Chagas, particularmente cuando los materiales infecciosos proceden de triatomas contaminados de la naturaleza.

Estamos convencidos que la edad de los animales utilizados por nosotros, no es por cierto la óptima para conseguir los mayores porcentajes de infección y los más elevados grados de parasitismo

en los ratones blancos, confirmando los resultados obtenidos por otros autores extranjeros y especialmente, en nuestro país, por Zuccarini y posteriormente por Marcotegui, quienes comprobaron infecciones muy virulentas con cantidades verdaderamente extraordinarias de tripanosomas en sangre circulante, que determinaban fatalmente la muerte de los ratones blancos de pocos días de edad en muy breve espacio de tiempo.

Nos creemos obligados a indicar que el interesante fenómeno de la mayor sensibilidad de los animales jóvenes a las pruebas de inoculación experimental con tripanosomas patógenos de los vertebrados fué estudiado y ampliamente comentado por dos distinguidos investigadores argentinos, los doctores Sivori y Lecler, en su documentada y brillante publicación del año 1902, titulada: « Le Surra Américain ou Mal de Caderas ». En sus interesantes experiencias de inoculación del *Trypanosoma equinum* (Voges, 1901), nos hacen conocer su opinión sobre este asunto de la siguiente manera: « Dans les chats, l'apparition des trypanosomes et la durée de la maladie est donc en relation avec l'âge du sujet et la richesse en parasites du sang injecté ». « Deux petits chats qui têtent encore sont infectés avec 1 cc de sang à 6-8 parasites par champ. Vingt-quatre heures après, l'un d'eux avait des trypanosomes dans le sang... Ils meurent l'un et l'autre au bout de 8 jours avec 2 à 3 trypanosomes par champ ». « Un chat adulte est infecté (3 Mars) avec 10 cc de sang de cheval à 6-8 trypanosomes par champ. On les découvre le 4^{me} jour dans le sang. On note des intermittences dans l'apparition et le nombre des parasites. 37 jours après (7 Avril) le chat vit encore. Il n'a jamais présenté plus d'un trypanosome par champ ». « C'est du reste un fait général qui s'applique à tous les espèces qui ont servi aux expériences » (Pág. 52).

Los autores argentinos usaron en sus estudios de inoculación experimental del *T. equinum*, las siguientes especies animales: cavia, ratas (*Mus decumanus* y ratas blancas), ratones (*Mus musculus* y ratones blancos), gatos, perros, ovinos, etc.

Hemos estimado que la publicación de nuestro trabajo — por la gran cantidad de animales utilizados y la variedad de cepas empleadas, especialmente de origen triatomas —, puede prestar una relativa utilidad, porque no conocemos otra investigación por lo menos en lo que se refiere a cantidad de animales — no por cierto a trascendencia —, sobre el tema motivo de esta investigación.

A continuación se detallan los diferentes resultados obtenidos con las diversas cepas utilizadas y reservamos para el capítulo de

las conclusiones los datos comparativos que a nuestro modo de ver tienen mayor importancia.

Cepa Santiago del Estero (Cont. intest. Triatomas infect.):

Número de animales	202	Duración de la cepa	9 años
Positivos	138	68,3 %	
Negativos	64	31,6 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	419 días	
T. mínimo	9 »	Término medio 76 días.

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida			
			T. máximo	T. mínimo		
Con infección de	+ -	60 ani.	43,2	166 días	11 días	
»	»	» +	58 »	42,0	292 »	11 »
»	»	» + +	10 »	7,4	419 »	16 »
»	»	» + + + y más	10 »	7,4	222 »	38 »
		138 ani.				

Período de incubación: de 6 a 66 días.

Cepa San José de Flores (contenido intestinal Triat.):

Número de animales	173	Duración de la cepa	18 años
Positivos	122	70,5 %	
Negativos	51	29,4 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	439 días	
T. mínimo	12 »	Término medio 105 días

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida			
			T. máximo	T. mínimo		
Con infección de	+ -	60 ani.	49,1	174 días	12 días	
»	»	» +	52 »	42,6	439 »	20 »
»	»	» + +	10 »	8,1	271 »	56 »
»	»	» + + + y más	—	—	—	—
		122 »				

Período de incubación: de 5 a 99 días.

Cepa Bocal 5 (Origen picadura de *Triatomas infect.*):

Número de animales	18	Duración de la cepa	1 año
Positivos	14	77 %	
Negativos	4	22 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	169 días	Término medio	52 días
T. mínimo	11 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida				
			T. máximo	T. mínimo			
Con infección de	+ —	2 ani.	14,2	34 días	—		
»	»	»	+	4 »	28,4	84 »	11 días
»	»	»	++	3 »	21,4	169 »	17 »
»	»	»	+++ y más	5 »	35,7	98 »	26 »
				14 ani.			

Período de incubación: de 8 a 33 días.

Cepa Paráliticas (Raquena). (Origen cont. int. Triatomas infect.):

Número de animales	16	Duración de la cepa	4 meses
Positivos	8 50 %		
Negativos	8 50 »		

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de la inoculación:

T. máximo	127 días	Término medio	78 días.
T. mínimo	31 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida				
			T. máximo	T. mínimo			
Con infección de	+ —	—	—	127 días	31 días		
»	»	»	+	4 ani.	50	127 días	31 días
»	»	»	++	4 »	50	100 »	75 »
»	»	»	+++ y más	—	—		
				8 ani.			

Período de incubación: de 9 a 29 días.

Cepa Montevideo. (Origen cont. int. Triatomas infect. (T. rubrovaria)

Número de animales	46	Duración de la cepa	1 año y 8 meses
Positivos	38 82 %		
Negativos	8 17,3 »		

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	186 días	Término medio	48 días
T. mínimo	13 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida				
			T. máximo	T. mínimo			
Con infección de	+ —	4 ani.	10,5	46 días	13 días		
»	»	»	+	12 »	31,5	105 »	16 »
»	»	»	++	18 »	47,8	186 »	9 »
»	»	»	+++ y más	4 »	10,5	27 »	20 »
				38 ani.			

Período de incubación: de 4 a 19 días.

Cepa del Cobayo 5 (directamente original picadura triatomas: « Casa Gómez »).

Número de animales	33	Duración de la cepa ..	1 año y 8 meses
Positivos	21	63 %	
Negativos	12	36,3 »	

Tiempo de vida de los animales:

T. máximo	194 días	Término medio	70 días
T. mínimo	9 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + -	— —		—	—
» » » +	15 ani.	71	194 días	9 días
» » » + +	3 »	13	184 »	91 »
» » » + + + y más	3 »	14	174 »	41 »
	<u>21 ani.</u>			

Período de incubación: de 4 a 40 días.

Cepa Paralíticas (Zuccarini, origen primer caso humano en la R. A.).

Número de animales	248	Duración de la cepa	7 años
Positivos	176	71 %	
Negativos	72	28 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	405 días	Término medio	49 días
T. mínimo	5 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + -	60 ani.	34,0	206 días	10 días
» » » +	75 »	42,6	310 »	5 »
» » » + +	29 »	16,4	405 »	9 »
» » » + + + y más ...	12 »	6,8	118 »	12 »
	<u>176 ani.</u>			

Período de incubación: 3 a 44 días.

Cepa Catamarca (Triatomas infes. Catamarca).

Número de animales	122	Duración de la cepa ..	8 años y 8 meses
Positivos	81	66,3 %	
Negativos	41	33,6 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	318 días	Término medio	81 días
T. mínimo	16 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	15 ani.	18,5	381 días	16 días
» » » +	49 »	60,4	318 »	19 »
» » » + +	13 »	16,0	195 »	33 »
» » » + + + y más	4 »	4,9	60 »	43 »
81 ani.				

Período de incubación: de 3 a 43 días.

Cepa Alderetes. (Tucumán. Contenido de Triatomas infectados).

Número de animales	167	Duración de la cepa	5 años y 5 meses
Positivos	113	67,6 %	
Negativos	54	32,3 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	235 días		
T. mínimo	9 »	Término medio	56 días

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	59 ani.	52,2	166 días	9 días
» » » +	35 »	30,9	235 días	10 días
» » » + +	18 »	15,8	133 »	11 »
» » » + + + y más	1 »	0,8	12 »	—
113 ani.				

Período de incubación: de 3 a 110 días.

Cepa Triatomas Casa Santillán. (Contenido intestinal de T. infectados).

Número de animales	114	Duración de la cepa	3 años y 3 meses
Positivos	88	77,1 %	
Negativos	26	22,8 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	218 días	Término medio	36 días
T. mínimo	11 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	18 ani.	20,4	42 días	13 días
» » » +	26 »	29,5	218 »	11 »
» » » + +	34 »	38,6	151 »	11 »
» » » + + + y más	10 »	11,3	39 »	29 »
88				

Período de incubación de: 4 a 24 días.

Cepa Triatomas Trancas, Tucumán. (Contenido intes. de triatomas infectados).

Número de animales	87	Duración de la cepa	6 años y 3 meses
Positivos	65	74,7 %	
Negativos	22	25,2 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	245 días		
T. mínimo	14 »	Término medio	105 días

Intensidad de infección:

	ani.	%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	27	41,5	235 días	14 días
» » » +	34	52,3	245 »	20 »
» » » + +	4	6,1	170 »	63 »
» » » + + + y más	—	—	—	—
	<u>65 ani.</u>			

Período de incubación: de 4 a 78 días.

Cepa Salazar. (Origen caso humano Salazar).

Número de animales	74	Duración de la cepa	3 años
Positivos	56	75,6 %	
Negativos	18	24,3 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	321 días	Término medio	73 días
T. mínimo	10 »		

Intensidad de infección:

	ani.	%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	25	44,6	315 días	10 días
» » » +	23	40,0	321 »	18 »
» » » + +	7	12,5	136 »	22 »
» » » + + + y más	1	1,7	28 »	—
	<u>56 ani.</u>			

Período de incubación: de 7 a 41 días.

Cepa origen mono (mono origen caso humano).

Número de animales	80	Durac. de la cepa	2 años y 10 meses
Positivos	56	69,2 %	
Negativos	24	30,0 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	392 días	Término medio	44 días
T. mínimo	9 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de	+ —	—	—	—
»	» » +	20 » 35,7	140 días	9 días
»	» » ++	19 » 33,9	168 »	18 »
»	» » +++ y más	17 » 30,3	392 »	18 »
		<u>56 ani.</u>		

Período de incubación: de 3 a 22 días.

Cepa Triatomas San Fernando (contenido intest. de T. infectados).

Número de animales	148	Duración de la cepa	8 años
Positivos	91 61,4 %		
Negativos	57 38,5 »		

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	415 días	Término medio	67 días
T. mínimo	13 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de	+ —	45 ani. 49,4	271 días	13 días
»	» » +	41 » 45,0	415 »	18 »
»	» » ++	4 » 4,3	194 »	92 »
»	» » +++ y más	1 » 1,0	69 »	—
		<u>91 ani.</u>		

Período de incubación: de 4 a 165 días.

Cepa Pomán Colpes, Catamarca (contenido intest. de Triatomas infectados).

Número de animales	162	Duración de la cepa	8 años
Positivos	106 65,4 %		
Negativos	56 34,5 »		

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	263 días	Término medio	90 días
T. mínimo	11 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de	+ —	41 ani. 38,6	166 días	11 días
»	» » +	53 » 50,0	263 »	18 »
»	» » ++	10 » 9,3	225 »	22 »
»	» » +++ y más	2 » 1,8	56 »	—

106

Período de incubación: de 5 a 59 días.

Cepa Gomes de Faria (Triatomas: P. megistus, Brasil, cont. intest. Triatomas alimen. cobayos infectados).

Número de animales	41	Duración de la cepa .	1 año y 8 meses
Positivos	28	68,2 %	
Negativos	13	31,7 %	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	209 días	Término medio	70 días
T. mínimo	6 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	16 ani.	57,0	209 días	16 días
» » » +	11 »	39,3	151 »	6 »
» » » + +	1 »	3,5	28 »	—
» » » + + + y más	—	—	—	—
	28			

Período de incubación: de 2 a 23 días.

Cepa familia Martín. (Trancas, Tucumán. Contenido intest. Triatomas infectados).

Número de animales	61	Duración de la cepa	2 años
Positivos	48	78,6 %	
Negativos	13	21,3 %	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	290 días	Término medio	63 días
T. mínimo	12 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	11 ani.	22,9	87 días	12 días
» » » +	23 »	47,9	245 »	21 »
» » » + +	13 »	27,0	290 »	21 »
» » » + + + y más	1 »	2,0	65 »	—
	48			

Período de incubación: de 2 a 33 días.

Cepa cobayo (picadura, pasaje).

Número de animales	26	Duración de la cepa	10 meses
Positivos	18	69,2 %	
Negativos	8	30,7 %	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	181 días	Término medio	94 días
T. mínimo	8 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	—	—	—	—
» » » +	14 ani.	77,7	134 días	5 días
» » » + +	1 »	5,5	123 »	—
» » » + + + y más	3 »	16,6	181 »	65 »
	<u>18</u>			

Período de incubación: de 3 a 25 días.

Cepa Paralíticas (Zuccarini, primera, origen caso humano).

Número de animales	139	Duración de la cepa	4 años
Positivos	102	73,3 %	
Negativos	37	26,6 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	347 días	Término medio	70 días
T. mínimo	10 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	16 ani.	15,6	147 días	15 días
» » » +	47 »	46,0	347 días	12 días
» » » + +	28 »	27,4	251 »	15 »
» » » + + + y más	11 »	10,7	23 »	12 »
	<u>102</u>			

Período de incubación: de 2 a 45 días.

Cepa Paralíticas (Zuccarini segunda, origen caso humano).

Número de animales	65	Duración de la cepa	2 años y 3 meses
Positivos	45	69,2 %	
Negativos	20	30,7 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	267 días	Término medio	78 días
T. mínimo	5 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	2 ani.	4,4	37 días	12 días
» » » +	29 »	64,4	267 »	5 »
» » » + +	9 »	20,0	267 »	54 »
» » » + + + y más	5 »	11,1	142 »	51 »
	<u>45</u>			

Período de incubación: de 3 a 26 días.

Cepa Tartagal (contenido intes. de Triatomas infec.).

Número de animales	21	Duración de la cepa	6 meses
Positivos	14	66,6 %	
Negativos	7	33,3 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	127 días		
T. mínimo	26 »	Término medio	65 días

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	10 ani.	71,4	127 días	32 días
» » » +	4 »	28,5	53 »	26 »
» » » + +	—	—	—	—
» » » + + + y más.....	—	—	—	—
	14			

Período de incubación: de 9 a 26 días.

Cepa Fitte. (Caso humano. La Rioja).

Número de animales	80	Duración de la cepa	7 años y 8 meses
Positivos	61	76,2 %	
Negativos	19	23,7 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	820 días	Término medio	156 días
T. mínimo	15 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	27 ani.	44,2	820 días	30 días
» » » +	30 »	49,2	639 »	19 »
» » » + +	4 »	6,5	330 »	15 »
	61			

Período de incubación: de 3 a 60 días.

Cepa Misiones. Moscón. (Contenido intes. Triatomas infec.).

Número de animales	59	Duración de la cepa	2 años y 8 meses
Positivos	38	64,4 %	
Negativos	21	35,5 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	255 días	Término medio	83 días
T. mínimo	10 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	2 ani.	5,2	112 días	63 días
» » » +	25 »	65,7	255 »	10 »
» » » + +	5 »	13,1	187 »	25 »
» » » + + + y más	6 »	15,7	253 »	10 »
		38		

Período de incubación: de 5 a 36 días.

Lote 1. (Contenido intes. de Triatomas infectados).

Número de animales	44	Duración de la cepa	4 años y 7 meses
Positivos	37	84,0 %	
Negativos	7	15,9 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	449 días	Término medio	139 días
T. mínimo	24 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	22 ani.	59,4	449 días	30 días
» » » +	15 »	40,5	228 »	24 »
		37		

Período de incubación: de 8 a 142 días.

Lote A. B. (Contenido intestinal de Triatomas infectados).

Número de animales	36	Duración de la cepa	4 años y 7 meses
Positivos	30	83,3 %	
Negativos	6	16,6 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	481 días	Término medio	169 días.
T. mínimo	37 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	17 ani.	56,6	473 días	37 días
» » » +	13 »	43,3	481 »	65 »
	30 ani.			

Período de incubación: de 7 a 61 días.

Lote P. (Contenido intestinal Triatomas infectados. La Rioja).

Número de animales	41	Duración de la cepa	4 años y 7 meses
Positivos	36	87,8 %	
Negativos	5	12,1 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	412 días	Término medio	125 días
T. mínimo	44 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	27 ani.	75,0	412 días	28 días
» » » +	8 »	22,2	254 »	54 »
» » » + +	1 »	2,7	86 »	—
	<u>36 ani.</u>			

Período de incubación: de 12 a 102 días.

Cepa Nogueira. (Caso humano. Catamarca).

Número de animales	55	Duración de la cepa	3 años
Positivos	45	81,8 %	
Negativos	10	18,1 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	567 días	Término medio	185 días
T. mínimo	9 »		

Intensidad de infección:

		%	Duración de la vida	
			T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	26 ani.	57,7	417 días	9 días
» » » +	16 »	35,5	523 »	20 »
» » » + +	3 »	6,6	567 »	83 »
	<u>45 ani.</u>			

Período de incubación: 5 a 73 días.

Lote M. (Contenido intest. de Triatomas infectados).

Número de animales	29	Duración de la cepa	4 años y 7 meses
Positivos	22	75,8 %	
Negativos	7	24,1 »	

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	409 días	Término medio	178 días
T. mínimo	44 »		

Intensidad de infección:

	%	Duración de la vida	
		T. máximo	T. mínimo
Con infección de + —	17 ani. 77,2	342 días	44 días
» » » +	5 » 22,7	409 »	80 »
	<u>22 ani.</u>		

Período de incubación: de 3 a 365 días.

Lote 29. Gerlero. (Caso humano. Córdoba).

Número de animales	23	Duración de la cepa	1 año
Positivos	16 69,5 %		
Negativos	7 30,4 »		

Tiempo de vida de los animales desde la fecha de inoculación:

T. máximo	290 días	Término medio	151 días
T. mínimo	13 »		

Intensidad de infección:

	%	Duración de la vida	
		T. máximo	T. mínimo
Con infección + —	12 ani. 75,0	290 días	36 días
» » » +	3 » 18,7	66 »	15 »
» » » + +	1 » 6,0	13 »	13 »
	<u>16 ani.</u>		

Período de incubación: de 11 a 270 días.

RESUMEN

Número total de animales inoculados	2.413	
» » » » positivos	1.716	
Porcentajes positivos		71,1 %
Número de animales negativos	697	
Porcentaje de negativos		28,3 »
Intensidad total de infección:		
Animales con infección de: + —	624	36,3 »
» » » » : +	744	43,3 »
» » » » : + +	252	14,6 »
» » » » : + + + y más	96	5,5 »
Número total de cepas estudiadas	29	
» » » » de origen triatomas	20	
» » » » » casos humanos	9	
Animales positivos con cepas origen triatomas	1.148	
» » » » » casos humanos	568	
Porcentaje animales positivos con cepas origen triatomas		72,8 »
» » » » » c. humanos ...		62,3 »
Intensidad global de infección (+ + y + + +) con cepas origen triatomas		16,2 »
Intensidad global de infección (+ + y + + +) con cepas origen casos humanos		12,9 »

CONCLUSIONES

1º — Nuestras observaciones están basadas en el estudio de 2413 ratones blancos de mediana edad inoculados por vía peritoneal con cantidades más o menos constantes de materiales infecciosos (sangre de casos origen humano y deyecciones de triatomas contaminados).

2º — Llama la atención el alto porcentaje de animales negativos (28,8 %), si consideramos la relativa abundancia de tripanosomas en los distintos materiales utilizados para los pasajes (1).

3º — Un alto porcentaje de animales positivos, sobrevivió a los efectos de la infestación tripanosómica de variable intensidad, hasta un máximo de 636 días (origen caso humano) y 481 días en cepa origen triatomas infectados.

4º — Es evidente el predominio de infestaciones moderadas: 36,3 % y 43,3 % para + — y +.

5º — No existe en general una diferencia muy acentuada entre los porcentajes de positivos de animales inoculados con cepas de origen triatomas y las de procedencia humana: 72 % y 62 % respectivamente, no obstante que los materiales procedentes de los artrópodos presentaban gran cantidad de formas infecciosas y especialmente tripanosomas metacíclicos y en cambio los de origen humano contenían muy pocos tripanosomas.

6º — Tanto para las cepas de uno u otro origen si se toman en consideración las de mayor intensidad de infestación (+ + y + + +), los resultados son muy aproximados: 16,2 % para las cepas de origen triatomas y 12,9 % para las otras.

7º — Existen marcadas diferencias en cuanto se refiere al término medio de vida de los ratones blancos considerando — los tiempos máximo y mínimo — (a partir de la fecha de inoculación), para cada una de las cepas y también cotejándolas comparativamente.

8º — La cepa de más prolongada observación fué la denominada «San José de Flores», Monteros, Tucumán, de origen contenido intestinal de triatomas que actualmente seguimos conservando después de haber transcurrido más de 18 años y luego la cepa denominada «Fitte» (procedente de un caso humano comprobado en

(1) Se utilizaba en todas las cepas como virus para realizar los pasajes, la sangre de los animales con mayor abundancia de parásitos.

La Rioja por el Dr. Fitte) cuya observación llegó a siete años y 8 meses.

9° — Muchas cepas de uno u otro origen han tenido un corto período de duración, debilitándose paulatinamente hasta perderse.

10° — Se observa una diferencia muy marcada en todas las cepas en cuanto a la variable duración del período de incubación, desde un mínimo de 2 días hasta un máximo de 365, pero exceptuando las cifras extremas, podemos decir que oscila entre 3 y 66 días. No es posible en este asunto establecer diferencias claras entre cepas origen humano y cepas origen triatomas.

11° — Las infestaciones muy intensas de +++ y más cruces fueron muy poco frecuentes.

SUMMARY

1° — Our observations are based on the study of 2413 white mice of a medium age inoculated in the peritoneum with a more or less constant amount of infectious material. Blood from human cases and also feces of contaminated triatomas.

2° — The high percentage of negative animals is surprising (28.8 %) when we consider the relative abundance of tripanosomas in the materials used for the inoculations.

3° — A high percentage of positive animals survived the effects of the infection with tripanosoma (which varied in intensity) with a maximum of 636 days (a strain of human origen) and 481 days in a strain of insect origen.

4° — The moderate infections predominate 36.3 % and 43.3 % for + — and +.

5) In general there is no great difference between the percentages of positive animals inoculated with material from triatomas or from human cases 72 % and 62 % respectively; even though the material from insects contained a large number of infectious forms especially metacyclic tripanosomas while the material from human cases only presented very few tripanosomas.

6° — If we take into consideration the intensity of the infections ++ and +++ in the strains of both origins the results are very close 16.2 % for those of insect origen and 12.9 % for the others.

7° — There is a large difference in the medium life duration of the white mice if we consider the maximum and the minimum

(after the date of the inoculation) for each strain separately and also comparatively.

8° — The strain called San Jose de Flores, Monteros, Tucuman which originated from triatomas is the one we have had longest under observation. It is still in the Laboratory after 18 years. The strain called Fitte (which originated from a human case belonging to Dr. Fitte in La Rioja) was under observation for 7 years and 8 months.

9° — Many of the strains of both origins only lasted a short time gradually growing weaker until they dissapeared.

10. — The incubation period in all the strains varies widely from a minimun of 2 days to a maximum of 365 days. If we do not take into account these extremes we can say it varies from 3 to 66 days. It is not possible to establish a clear difference between the strains of human and insect origin.

11. — The very intense infections of + + + and upwards were not very frequent.