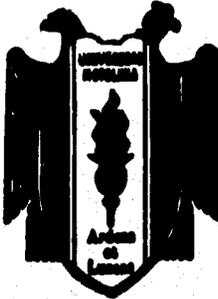


302827

33

24



UNIVERSIDAD MOTOLINIA A. C.

ESCUELA DE QUIMICA
CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA U.N.A.M.

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO
EN RATON ALBINO DE CUATRO CEPAS
DE *TRYPANOSOMA CRUZI* AISLADAS
EN EL ESTADO DE NAYARIT, MEXICO.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MONICA VALLE ZULBARAN

MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A DIOS

**Por darme la maravillosa oportunidad
de vivir.**

**Por hacer de cada día un logro
muy especial.**

**Pero sobre todo, por permitirme
hacer de un sueño
mi gran realidad.**

A MIS PADRES :

**Gracias por su gran amor, por la confianza que han depositado
en mí siempre, y por darme la oportunidad de realizar mi
sueño.**

A TI PAPA :

**Gracias por tu apoyo, pero sobre todo por enseñarme
que para lograr algo se tiene que luchar muy duro
para conseguirlo y no dejarse vencer ante
cualquier adversidad.**

A TI MAMA :

**Gracias por estar siempre a mi lado, por tu tenacidad,
sacrificio y valor aún en momentos difíciles.
Por tus consejos, cuidados, por esas noches
de desvelo que compartimos juntas,
por darme siempre lo mejor de tí.
Pero sobre todo, por ser
una mujer excepcional.**

Los Amo mucho.

A MIS ABUELITOS MARY Y MIGUEL:

No tengo palabras con que agradecer todo
lo que siempre me han dado,
su amor, consejo y por ser
esa base firme donde se
cimentan las grandes
construcciones...

los quiero mucho

A MI HERMANO:

Por ese sueño que compartimos juntos... y hoy es una realidad
Gracias por tu cariño, apoyo y por ser una parte
muy importante de mi vida.

A MI TIO MAY:

**Gracias por tratarme siempre como
a una hija más.**

**Por tu apoyo, por ser para mí un
ejemplo a seguir, pero sobre todo
por demostrarme hoy y siempre
tu gran cariño por mí.**

Te quiero mucho

A MI TIA GUILLE:

Por ser siempre mi gran amiga,
por consentirme, por su apoyo incondicional,
pero sobre todo, por demostrarme en cada momento
su amor por mí.

A MI TIO PEPE:

Gracias por todos los momentos
tan felices que hemos compartido juntos,
y por estar conmigo en este
momento tan especial.

A MIS TIOS ANDRES, CARMEN Y LUPITA:

Gracias por todo lo bueno que siempre
me han dado, por preocuparse por mí
y por darme su cariño.

A MIS PEQUEÑOS AMORES

Mariety, Jenny, Lupita, Maricarmen, Pamela y Caritos:
Porque con su sonrisa me dan la alegría de vivir,
esperando que la meta a la que he llegado hoy
sea alcanzada por ustedes.

A SERGIO:

**Por ser mi maravillosa realidad.
Por motivarme a ser mejor cada día.
Gracias por estar conmigo en este
momento tan especial.
Por compartir mis alegrías, tristezas,
apoyo y comprensión aún en los
momentos más difíciles, pero
sobre todo por tu
gran amor.**

Te amo mucho

A MIS PROFESORES CON RESPETO Y ADMIRACION:

Al Dr. Benjamín Noguera Torres:

Por su apoyo y sus invaluable consejos.

Al M. en C. Ricardo Alejandro Aguilar:

**Por darme su tiempo y dedicación.
Por brindarme su apoyo incondicional , pero sobre todo
por darme la magnífica oportunidad de haber
trabajado a su lado.**

**A todas las personas del Departamento de parasitología
que de alguna manera colaboraron para la realización
de este trabajo.**

A MIS GRANDES AMIGOS:

A LA Q.F.B. GISELA I. PAEZ S. :

Por ser una excelente amiga, por esos increíbles momentos que compartimos juntas, pero sobre todo por ese maravilloso regalo que es tu amistad.

A LA Q.F.B. JACQUELINE ROJO P. :

Gracias por todos los momentos que compartimos juntas y por el apoyo que siempre me brindaste.

A MI GRAN AMIGO ANUAR REYNA:

Gracias por esas palabras de aliento, por tu amistad incondicional y por estar juntos una vez más.

A MI UNIVERSIDAD MOTOLINIA

**Con profundo agradecimiento
Por darme la base de mis conocimientos para mi desarrollo personal y profesional.
Muy especialmente a la Q.F.B. Graciela Soza por todo su apoyo.**

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Entomología del Departamento de Parasitología de la ENCS bajo la asesoría del M. en C. Ricardo Alejandro Aguilar. Como parte del proyecto "Caracterización de cepas y clones de *Trypanosoma cruzi* tratados con endonucleasas de restricción" con número de registro 943448, que forma parte del programa "Estudio de los transmisores y del agente etiológico de la Enfermedad de Chagas", financiado por DEPI - IPN.

INDICE

CAPITULO I

INTRODUCCION

- 1.1 Planteamiento del problema 1
- 1.2 Objetivos 2

CAPITULO II

ANTECEDENTES

- 2.1 Taxonomía de *Trypanosoma cruzi* 3
- 2.2 Ciclo biológico 3
- 2.3 Características clínicas de la infección 4
- 2.4 Caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi* 6
 - 2.4.1 Caracterización biológica 9
 - 2.4.2 Morfología de tripomastigotes sanguíneos y curvas de parasitemia 9
 - 2.4.3 Tipificación de cepas de *Trypanosoma cruzi* 17

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

- 3.1 Diagrama de flujo 19
- 3.2 Material de laboratorio reactivos y equipo 20
 - 3.2.1 Material biológico 20
 - 3.2.2 Material de laboratorio 20
 - 3.2.3 Reactivos 21
 - 3.2.4 Equipo 21

3.3 Metodología	21
3.3.1 Curva de parasitemia	21
3.3.2 Cuenta de parásitos	22
3.3.3 Organotropismo	23
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSION	
4.1 Resultados	24
4.2 Discusión	34
CAPITULO V	
CONCLUSIONES	43
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es *Trypanosoma cruzi*, protozoo flagelado perteneciente al orden de los cinetoplastidos, se transmite al hombre y otros mamíferos por insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Se han encontrado transmisores infectados desde el paralelo 42 norte en los Estados Unidos hasta el 43 sur en Argentina, se considera que el área de dispersión como problema humano, se inicia en el norte a nivel de México y llega por el sur hasta el río Negro en Argentina, es decir, entre el paralelo 25 en el norte hasta el 38 en el sur (Brener, 1977; OPS, 1984; Romaña, 1963).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, hechas a partir de estudios seroepidemiológicos, existen entre 22 y 24 millones de personas infectadas en Latinoamérica con *Trypanosoma cruzi*, y aproximadamente unos 90 millones de individuos están en riesgo de adquirir la infección (WHO, 1990).

En nuestro país desde 1940 en que Mazzotti comunicó la existencia de la enfermedad, se han descrito alrededor de 600 casos, cantidad que resulta insignificante pues se considera que en Latinoamérica existen 24 millones de personas infectadas (Tay, 1987; Velasco, 1986; Barrera, 1992).

La enfermedad de Chagas ha adquirido gran importancia debido a sus elevadas tasas de morbilidad y mortalidad. Desde el punto de vista epidemiológico es conveniente analizar la tríada de esta enfermedad, ya que la conjunción de las variables de los tres elementos que la componen hacen que el padecimiento se presente. Los tres elementos en cuestión son: el agente, el huésped y el ambiente (Schmidt & Roberts, 1986; Eledon, 1987).

1.2 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el comportamiento de cuatro cepas de *T. cruzi* utilizando como modelo experimental ratones albinos de la cepa NIH.

OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Conocer la duración de la parasitemia.
- b) Seguir el comportamiento de la parasitemia a través de su tiempo de duración.
- c) Determinar la morfología predominante durante el tiempo que dure la parasitemia.
- d) Determinar la afinidad de las cepas para diferentes órganos y tejidos.
- e) Determinar la virulencia de las cepas estudiadas.

CAPITULO II

ANTECEDENTES

2.1 TAXONOMIA DE *T. cruzi*

La posición taxonómica de *T. cruzi* es la siguiente: es un protozoo flagelado perteneciente al Phylum Protozoa, Subphylum Sarcostigophora, Superclase Mastigophora, Clase Zoomastigophora, Orden Kinetoplastida, Suborden Trypanosomatina, Familia Trypanosomatidae, Subfamilia Trypanosomatinae, Género Trypanosoma, Subgénero Schizotrypanum y Especie cruzi (Kreifer, 1977; Schmidt & Roberts, 1989; Zeledon, 1987).

2.2 CICLO BIOLÓGICO

De acuerdo a la clasificación propuesta por Hoare (1968), en su ciclo biológico presenta cuatro fases:

ANASTIGOTE: es intracelular, de forma redonda u oval, mide de 1.5 a 4 μ de diámetro, presenta un núcleo y un cinetoplasto, el flagelo está reducido y se encuentra en el citoplasma, por lo tanto no tiene flagelo libre y se reproduce por fisión binaria formando acúmulos que son conocidos como nidos de anastigotes.

TRYPANOSTIGOTE: esta fase se encuentra en el huésped invertebrado, es fusiforme, con un núcleo grande, el cinetoplasto se encuentra en posición anterior y distal con respecto al núcleo, el flagelo no tiene membrana ondulante y mide aproximadamente 20 μ m de largo.

EPINASTIGOTE: el cual es fusiforme, el núcleo se encuentra en la porción media, el cinetoplasto está colocado en posición anterior muy cerca del núcleo, cerca de él sale el flagelo dando lugar a una membrana ondulante pequeña. Mide aproximadamente 20 μm , pero puede alcanzar hasta 25 o 30 μm . Esta es una fase de reproducción, se produce por fisión binaria y la encontramos en el transmisor y en los medios de cultivo.

TRIPONASTIGOTE: ésta es la fase infectante para cualquier huésped, el núcleo se encuentra en la región media, el cinetoplasto está en la región posterior y distal con respecto al núcleo, cerca de él se origina el flagelo que recorre todo el cuerpo y forma una membrana ondulante que sale libre por la región anterior, mide aproximadamente 20 μm de longitud. De acuerdo al huésped en que se localicen se distinguen dos tipos, el tripomastigote sanguíneo en el vertebrado y el tripomastigote metacíclico en el invertebrado (Kreifer, 1977; Schmidt & Roberts, 1989; Seledon, 1987).

2.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN

De acuerdo a la cantidad del inóculo, la virulencia de la cepa, la edad, el estado nutricional así como la respuesta inmunológica del huésped van a variar las manifestaciones clínicas de la infección por *Trypanosoma cruzi* (Dias, 1990; Romaña, 1963).

El período de incubación en el hombre es de cuatro a doce días y después aparecen los signos y síntomas clínicos, sin embargo la mayoría de las infecciones humanas son asintomáticas. En la enfermedad de Chagas podemos distinguir tres fases:

FASE AGUDA: frecuentemente pasa inadvertida, siendo más común observarla en la primera década de la vida, en esta etapa se han descrito signos locales o de puerta de entrada de la infección y alteraciones sistémicas. En el 50 % de los casos la infección se inicia en el ojo, el cual se conoce como signo de Romana, encontrándose edema palpebral indoloro, violáceo, que puede extenderse a la mitad de la cara; ocasionalmente se acompaña de secreción conjuntival, habiendo también congestión e hiperemia conjuntival, acompañándose de adenopatía satélite, principalmente preauricular. El chagoma de inoculación cutáneo que se ha descrito en el 25 % de los pacientes; es una lesión circunscrita, con edema duro, indoloro y que a veces se ulcera, habitualmente se le encuentra en superficies descubiertas del cuerpo, con una evolución de uno a dos meses y que desaparece espontáneamente dejando una pigmentación apenas perceptible (Dias, 1990; Perlaavogora-Szumlewiec & Muller, 1987; Schmidt & Roberts, 1989).

Es muy probable que además de la infección local, el chagoma sea originado por una reacción alérgica contra la saliva del insecto (Costa et al., 1981; Coura et al., 1989; Cuba et al., 1978; Dias, 1982; Mott et al., 1980).

Además de las manifestaciones locales, podemos encontrar fiebre, continua, remitente o intermitente, de predominio vespertino, acompañada de malestar general, cefalea, astenia e hiporexia. En la segunda semana se puede observar edema generalizado o en cara y extremidades inferiores, blando, siendo más común en niños. Se presenta linfadenomegalia generalizada, los ganglios son móviles, indoloros y puede perdurar por varios meses; afecta principalmente los cervicales, axilares e inguinales. La hepatoesplenomegalia, es moderada y dolorosa. En esta etapa también podemos encontrar miocarditis aguda y es posible observar las alteraciones con estudios radiológicos y electrocardiográficos, esto es más factible observarlo en infantes (Dias, 1990).

FASE CRÓNICA: en esta fase se establece un equilibrio dinámico entre los parásitos y las defensas del huésped. Se caracteriza por parasitemia baja y no detectable y un nivel elevado y persistente de anticuerpos. Las lesiones inflamatorias son mínimas en esta fase, surgiendo a largo plazo mayores o menores grados de fibrosis y sustitución de tejidos destruidos por los tripanosomas. Las manifestaciones clínicas dependerán del lugar y de la extensión de las lesiones producidas durante el curso de la infección, a través de una serie de mecanismos fisiopatogénicos (Dias, 1990).

Factores ligados a los parásitos (cepa, virulencia y antigenicidad) y al huésped (edad, sexo, estado nutricional, actividad y reinfecciones) son capaces de influir en el curso de la

enfermedad y redundar en diferencias individuales o regionales del padecimiento (Dias, 1990).

Pasada la fase aguda, la gran mayoría de los pacientes pasará a un período clínicamente silencioso y sin manifestaciones detectables: la fase indeterminada.

FASE INDETERMINADA: ésta podrá persistir indefinidamente en un número considerable de pacientes (30 a 40 %) o evolucionar a una forma clínica definida, en un tiempo más o menos largo (10 a 20 años).

La fase crónica es la que más frecuentemente se encuentra en la práctica médica y las alteraciones más frecuentes que encontramos en ella son: la cardiopatía chagásica crónica, la esofagopatía o megacófago, la colopatía o megacólon; aunque también podemos encontrar alteraciones en duodeno, estómago, intestino delgado, hígado, vías biliares, páncreas, bronquios, pulmones y sistema urinario (Carrasco et al., 1983; Dias, 1987; Dias, 1990; Romaña, 1963).

En la enfermedad de Chagas se puede hablar de un ciclo silvestre y un ciclo doméstico, aunque se trata en realidad, de una variedad de ciclos integrados e interdependientes de *T. cruzi*, que son el resultado de procesos y mecanismos ecológicos y sociales

bien definidos, de los cuales resulta la enfermedad humana. La participación del hombre en la cadena epidemiológica de la enfermedad, se inicia cuando este invade y modifica el ambiente silvestre (Dias, 1990).

Debido a la gama de signos y síntomas que se presentan en la enfermedad de Chagas en humanos, se ha pensado que cada aislamiento es en realidad una mezcla heterogénea de poblaciones de *T. cruzi* y que las diferencias en la virulencia en distintas regiones se deben a esta heterogeneidad y la caracterización biológica y bioquímica es importante para explicar algunos aspectos de la epidemiología de la enfermedad (Andrade, 1985; Brener, 1985; Gonçalves, 1985; Gonsals, 1995).

3.4 CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *T. cruzi*

La caracterización de cepas de *T. cruzi* está basada en el comportamiento que presentan en ratones inoculados y en el desarrollo en medios de cultivo (caracterización biológica), pero también se basa en las isoenzimas y análisis de simodemos o en los perfiles de DNA de cinetoplasto (kDNA) por endonucleasas de restricción y el análisis de esquisodemos (caracterización bioquímica) (Morel et al., 1980; Carrsno et al., 1987; Avila et al., 1990; Mizori et al., 1992).

2.4.1 CARACTERIZACION BIOLÓGICA

Existen diferentes estrategias que pueden ser utilizadas para el estudio de la caracterización biológica de cepas de *Trypanosoma cruzi* en condiciones experimentales. Uno de ellos es la amplificación de la cepa aislada del parásito por medio de pases sanguíneos seriados en vertebrados (Brener, 1985).

Esta caracterización comprende los siguientes estudios:

- A) Morfología de los tripomastigotas sanguíneos
- B) Curvas de parasitemia en ratón albino
- C) Células infectadas de las formas sanguíneas
- D) Características de la infección *in vivo*
- E) Susceptibilidad de formas sanguíneas a suero inmune
- F) Virulencia y morbilidad
- G) Sensibilidad a fármacos

2.4.2 MORFOLOGIA DE LOS TRIPOMASTIGOTES SANGUÍNEOS Y CURVAS DE PARASITEMIA

Brener describió diversos patrones morfológicos de las formas sanguíneas de *Trypanosoma cruzi* los cuales están relacionadas con las curvas de parasitemia observados en huéspedes infectados. El pico de parasitemia se presentó a los 7, 12 y 14 días de infección (Brener, 1985).

FORMAS SANGUINEAS

Las formas delgadas (tripomastigotes) provocan una mayor infección en las células del músculo que las formas gruesas (Brener, 1985).

CARACTERISTICAS DE LA INFECCION IN VIVO

Las formas sanguíneas delgadas presentan una mayor cantidad de multiplicación y presentan parasitismo en hígado y bazo (reticulotropismo); mientras que las formas sanguíneas gruesas presentan un incremento lento en cuanto a parasitemia con intenso miocardiotropismo. Las cepas pueden ser clasificadas como macrofagotropismo y no macrofagotropismo, en lugar de reticulotropismo y miocardiotropismo respectivamente (Brener, 1985).

SENSIBILIDAD A FARMACOS

Diversos autores han empleado clínicamente fármacos como Nifurtimox y benzimidazol. Los parásitos fueron inoculados en ratones y estos animales fueron tratados durante 20 días con dichos fármacos (100 mg/kg) por vía oral. Se realizaron exámenes de sangre fresca y pruebas de inmunofluorescencia. El rango de sensibilidad de estos fármacos fue detectado en la mayoría de las cepas, siendo altamente susceptible para ambos fármacos (Brener, 1985).

Otros estudios que pueden realizarse son: infectividad para vectores, crecimiento y diferenciación en medios de cultivos celulares y acelulares , aglutinación y lisis de tripomastigotes sanguíneos en presencia de suero inmune (Brener, 1985).

Generalmente tienen que ser demostradas las posibles asociaciones entre las cepas de *Trypanosoma cruzi* , infección, características epidemiológicas y manifestaciones clínicas de la enfermedad (Carneiro et al., 1991).

La caracterización morfológica de varios tipos de cepas puede producir interesantes resultados que pueden ser sumados a los siguientes:

- 1) Un tipo particular de cepa puede predominar en un área geográfica.
- 2) Las cepas de diferentes tipos pueden mostrar composición antigénica diferente.
- 3) La susceptibilidad y resistencia a fármacos exhiben correlación con cepas de varios tipos.
- 4) Las cepas que son del mismo tipo , tienen patrones enzimáticos similares.
- 5) Los tipos de cepas de *Trypanosoma cruzi* aparecen de manera más importante en la determinación del curso de la infección que en el aspecto genético del huésped (Andrade, 1985).

El estudio de las diferencias entre las cepas de *Trypanosoma cruzi* está basado en las características tales como: virulencia y patogenicidad, tropismo tisular y morfología del parásito en sangre periférica (Andrade, 1985).

Estudios experimentales han mostrado que diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* determinaron lesiones peculiares en tejido durante la fase aguda e consecuencia de un tropismo específico y predominante para diferentes tipos de células de mamíferos (macrófagos, músculo esquelético, cardíaco y neuronas). Diferentes tipos de reacciones celulares y respuestas inmunológicas pueden ser originadas debido a los antecedentes genéticos del animal de experimentación utilizado (Andrade, 1985).

Parámetros estudiados incluyen el período prepatente, patrones de infectividad de la cepa, virulencia en animales infectados, evaluación histopatológica de animales sobrevivientes a la infección aguda (para determinar que un organismo es capaz de producir enfermedad crónica), la susceptibilidad de varias especies de cepas de triatomíneos y las características del organismo en medio de agar sangre y cultivo tisular (Deneris & Marshall, 1982).

La virulencia y patogenicidad pueden ser definidas con respecto al comportamiento de *Trypanosoma cruzi*.

La virulencia es la capacidad del parásito para multiplicarse dentro del huésped de experimentación el cual puede ser influenciado por diversos factores. La patogenicidad es un carácter intrínseco y es relacionado con la habilidad para producir lesiones tisulares y mortalidad (Andrade, 1985).

El curso de la infección en el huésped vertebrado puede ser evaluada por un período prepatente, curva de parasitemia y mortalidad que puede proporcionar evidencia sobre la virulencia del parásito (Brenner, 1985).

De acuerdo a su virulencia las cepas pueden agruparse en:

A) ALTA VIRULENCIA: Causando 100% de mortalidad, y presenta como característica la predominancia de tripomastigotes con formas muy anchas en frotis sanguíneos. Presenta un período prepatente muy corto de 6-12 días, la mayoría de los animales mueren entre los 20-30 días, existe una alta parasitemia de $2-3 \times 10^6$ /ml (Carneiro et al., 1991; Brenner, 1985).

B) VIRULENCIA MEDIA : No causa mortalidad y predominan los tripomastigotes de formas anchas. El período prepatente es de 8 - 10 días, se presenta parasitemia alta (6×10^6 / ml) fue detectada a los 23 -29 días de infección con animales que sobrevivieron la fase aguda (Carneiro et al., 1991; Brenner, 1985).

C) **BAJA VIRULENCIA:** No causan mortalidad, las formas sanguíneas no son descritas debido a que es muy baja la parasitemia (10^6 parásitos/ml). Induce infecciones con un largo período prepatente (11 a 30 días) la parasitemia se presenta entre 21 y 40 días de infección (Carneiro et al., 1991; Brenar, 1985).

Existe una relación entre la virulencia de la cepa de *Trypanosoma cruzi* en la infección aguda y la morbilidad en la fase crónica. La presencia de parásitos tisulares en la fase crónica se encuentra relacionada directamente con la virulencia (Brenar, 1985).

En ratones inoculados con parásitos de cultivos difásicos, la virulencia de la cepa varía según el tiempo de cultivo.

Los cambios en la virulencia mostraron diferencias marcadas entre períodos de alta y baja virulencia (Deneris & Marshall, 1982).

El tejido cardíaco destruido de animales un mes después de la infección mostró miocarditis supurativa aguda con numerosos histiocitos y muchos amastigotes identificables, ambas características de una infección temprana. El tejido intestinal de estos animales mostraron solamente hiperplasia linfóide (Deneris & Marshall, 1982).

El tejido cardiaco destruido, dos meses después de la infección fué típico de una infección aguda, mostrando desorden miofibrilar difundido asociado con depósitos de células inflamadas (Deneris & Marshall, 1982).

Los patrones de infectividad, patogenicidad y virulencia pueden variar considerablemente entre cepas de *Trypanosoma cruzi* aisladas de animales y del hombre, estas diferencias pueden ser explicadas como la adaptación de una cepa particular para estos huéspedes. Estos patrones determinan la habilidad de la cepa para ser transmitida y por eso es importante para el conocimiento de la epidemiología de la tripanosomiasis americana en una área particular (Deneris & Marshall, 1982).

Estos estudios incluyen experimentos designados para determinar la infectividad y virulencia de una nueva cepa, el número de tripomastigotes metacíclicos en el cultivo es muy importante (Deneris & Marshall, 1982).

TROPISMO : El tropismo tisular es uno de los aspectos más importantes para la distinción de varias cepas de *Trypanosoma cruzi* (Andrade, 1985).

Se revisan cortes histológicos de varios órganos : cerebro, corazón, bazo, hígado y músculo esquelético. El nivel de

infiltración inflamatoria y localización preferencial de amastigotes en dichos órganos determina el organotropismo (Carneiro et al., 1991).

El parasitismo neuronal (neurotropismo) en ganglios nerviosos periféricos es otro aspecto peculiar de algunas cepas (Andrade, 1985).

MORFOLOGIA: la evaluación del porcentaje de formas sanguíneas anchas y delgadas de tripomastigotes en sangre periférica de ratones infectados pudo mostrar la diferencia de cepas que pueden ser caracterizadas por esta morfología (Andrade, 1985).

Las formas delgadas predominan en una virulencia alta y en cepas macrofagotrópicas y las formas anchas predominan en baja virulencia y en cepas miotrópicas (Andrade, 1985).

Las formas delgadas son más susceptibles a las defensas inmunológicas cuando se inyectan intravenosamente a ratones inmunes, e in vitro, las formas delgadas son susceptibles a lisis por sueros inmunes homólogos y heterólogos (Andrade, 1985).

Esto es un ejemplo, de una posible correlación entre una multiplicación temprana y rápida, con el predominio de formas delgadas y macrofagotropismo. Al contrario, la multiplicación baja

y progresiva observada en las mismas cepas coincide con el predominio de formas anchas y mitotropismo (Andrade, 1985).

2.4.3 TIPIFICACION DE CEPAS DE *Trypanosoma cruzi*

Los parámetros tomados en cuenta para estos estudios son: la evolución de la infección, el período prepatente, las curvas de parasitemia, la morfología del parásito en sangre periférica, el tropismo tisular, las lesiones histopatológicas y los rangos de mortalidad en relación con la infección del ratón (Andrade, 1985).

Las cepas de *Trypanosoma cruzi* pueden ser divididas en tres tipos de acuerdo a una descripción estandar basada en la morfología del parásito en sangre periférica, en la virulencia y patogenicidad, reflejando los intervalos de mortalidad y lesiones tisulares (Andrade, 1985).

Los tres tipos pueden ser establecidos de la siguiente forma:

TIPO I: Cepas con un rango de multiplicación rápido con una parasitemia máxima y mortalidad de 7 a 12 días de infección, predominando las formas delgadas y el macrofagotropismo en la fase temprana de la infección (Andrade, 1985).

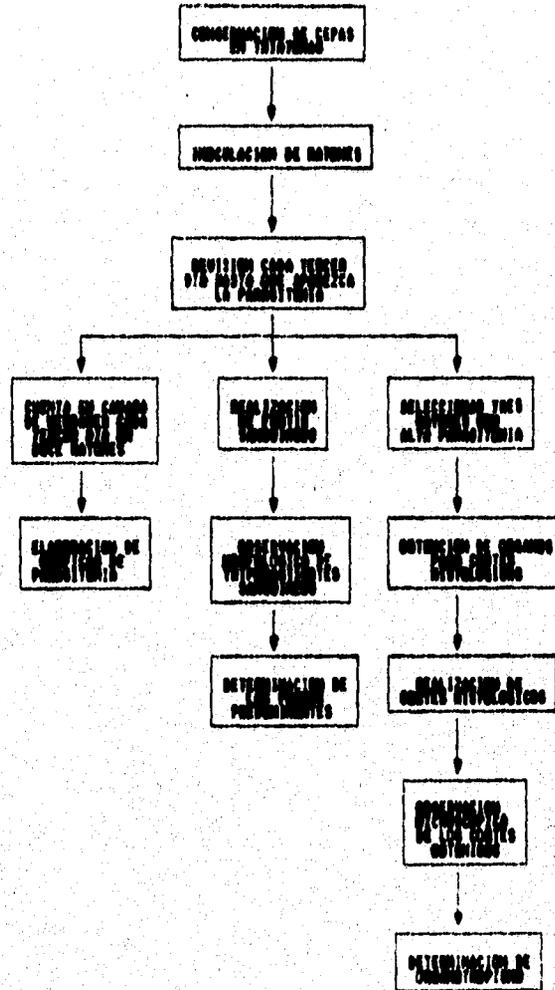
TIPO II: Cepas con una multiplicación relativamente baja con picos de parasitemia irregular de 12 - 20 días de infección con intervalos de mortalidad máximos, predominio de formas anchas con un bajo porcentaje de formas delgadas en la fase inicial de la infección, mitotropismo con desarrollo predominante de miocardio (Andrade, 1985).

TIPO III: Baja multiplicación, con picos de parasitemia tardíos altos (20 a 30 días después de la infección), intervalos bajos de mortalidad desde el quinto día de la infección, predominio de formas anchas a través del curso de la infección y mitotropismo con complicaciones del músculo esquelético predominantemente (Andrade, 1985).

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 DIAGRAMA DE FLUJO



3.2 MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

3.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Las cepas utilizadas fueron aisladas en el estado de Nayarit de diferentes fuentes:

- CEPA COMPOSTELA: aislada de triatoma
- CEPA V2R: aislada de reservorio silvestre
- CEPA PARRA (CLONA): aislada de triatoma
- CEPA PR: aislada de reservorio doméstico

- Ratones albinos de 20 - 22 g de peso (*Mus musculus*) de la cepa NIH.

3.2.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- Pipeta de Thoma para cuantificación de glóbulos blancos.
- Cámara de Neubauer.
- Tubería de hula con boquilla.
- Pipetas Pasteur.
- Mechero de Bunsen.
- Asa bacteriológica.
- Cinta tástico.
- Espátula de acero inoxidable.
- Algodón.
- Guantes de latex.
- Cubreboca.

3.2.3 REACTIVOS:

- Cloruro de sodio (PRODUCTOS QUIMICOS MONTERREY, S.A.).
- Fenol (J . T. BAKER S.A. DE C.V.).
- Etanol absoluto (MERCK).
- Agua destilada.

- Solución madre de Gimmsa.

3.2.4 EQUIPO:

- Autoclave Industrias Steele Presto Modelo 21 L
- Balanza granataria OHAUS
- Balanza analítica SARTORIUS
- Microscopio binocular CARL ZEISS. WEST GERMANY
- Refrigerador CABNERS
- Microtomo marca American Optical modelo 820.

3.3 METODOLOGIA

3.3.1 CURVA DE PARASITEMIA

Un lote de 13 ratones se inocularon por vía intraperitoneal con 5×10^4 tripomastigotes sanguíneos provenientes de ratones infectados en los que se mantiene la cepa. Los ratones se revisaron

cada tercer día , obteniéndose una gota de sangre por medio de un pequeño corte en la vena caudal y evaluando la parasitemia por cuenta en Cámara de Neubauer. (Perlowagora, 1978).

3.3.2 CUENTA DE PARASITOS

Cuenta en cámara de Neubauer

Al quinto día después de la inoculación se empezó con la revisión hemática de los ratones. Una vez que apareció la parasitemia se realizó esta operación cada tercer día de la siguiente manera:

- 1) Se practicó un pequeño corte en la vena caudal del ratón.
- 2) Se tomó sangre directamente con la pipeta de Thoma para la cuenta de glóbulos blancos hasta la marca de 0.5.
- 3) Se aforó con cloruro de sodio al 0.85 % hasta la marca de 11.
- 4) Se depositó la muestra homogeneizada en la cámara de Neubauer.
- 5) Con el objeto de determinar la cantidad de tripanastigotes sanguíneos por milímetro cúbico, se contaron cuatro cuadros grandes utilizados para la cuenta de leucocitos de la cámara y multiplicar el número de parásitos contados por 50 (factor de dilución).

Para la desinfección del material se utilizó fenol al 5%.

3.3.3 ORGANOTROPISMO

Después de extraídos los órganos se lavaron perfectamente en agua destilada aproximadamente durante tres minutos, se fijaron en formol al 10%, después se lavaron en agua corriente durante diez minutos y se les dió el siguiente tratamiento:

- 1.- Deshidratación de los órganos.
- 2.- Inclusión en parafina.
- 3.- Desparafinación de los órganos.
- 4.- Coloración por la técnica de Hematoxilina-Eosina.

Todos los pasos a seguir en esta técnica fueron realizados en el Departamento de Morfología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas I.P.N. (Burck, 1969).

Los cortes se realizaron con un grosor de seis micras y se revisaron al microscopio.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

4.1 RESULTADOS

4.1.1 CEPA PR

La parasitemia de esta cepa mostró baja patogenicidad ya que el 90% de los animales evolucionaron a la fase crónica de la infección (Tabla 1).

Se observó la presencia de parásitos al cuarto día de inoculación alcanzando el pico máximo al vigésimo quinto día cuya duración fué de 50 días. Se observaron predominantes formas sanguíneas delgadas largas.

4.1.2 CEPA PARRA (CLONA 1)

Los niveles parasitémicos de esta cepa se presentaron al quinto día de inoculación observándose el pico máximo al vigésimo sexto día de infección. Se observó baja patogenicidad ya que el 90% de los ratones evolucionó a la fase crónica (Tabla 2). Las formas predominantes fueron anchas largas y con una duración de 49 días.

4.1.3 CEPA V2R

Esta cepa presentó baja patogenicidad debido a que el 80% de los ratones evolucionaron a la cronicidad. La parasitemia se presentó al sexto día con un pico máximo en los niveles

parasitémicos al trigésimo cuarto día (Tabla 3). El curso de la infección tuvo una duración de 50 días observándose la presencia de formas anchas largas.

4.1.4 CEPA COMPOSTELA

El curso de la infección de esta cepa fue de 49 días causando una mortalidad del 70% en los ratones por lo cual se considera de alta patogenicidad. El período prepatente fue de 5 días observándose un pico máximo de la parasitemia al vigésimo sexto día (Tabla 4).

Se observó parálisis de miembros inferiores en un 60% de los animales. Las formas sanguíneas observadas fueron tripomastigotes anchos largos y delgados largos.

4.1.5 ORGANOTROPISMO

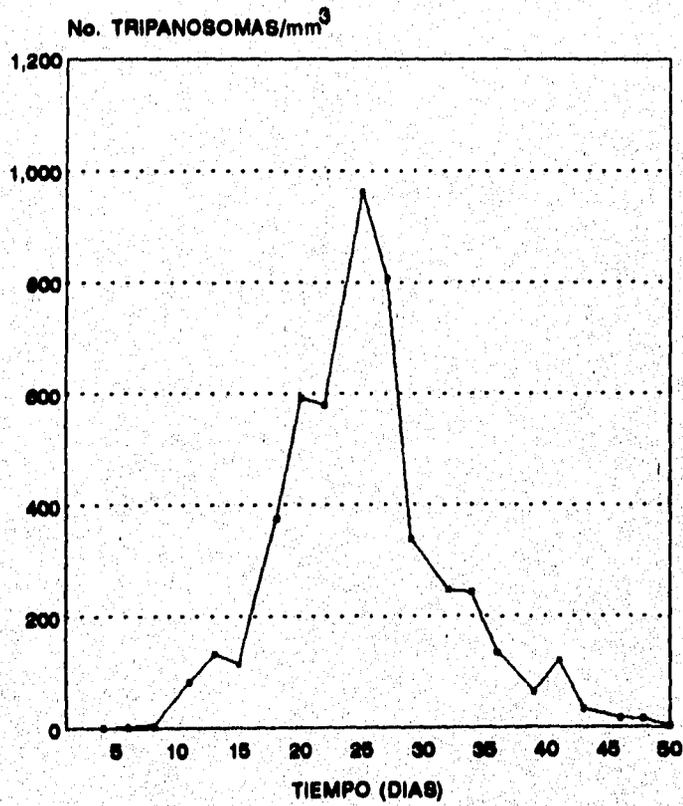
Las cepas PR, PARRA (CLONA 1) Y V2R mostraron cardiotropismo, mientras que la cepa COMPOSTELA mostró miotropismo de miembros inferiores.

NOTA: El promedio de las parasitemias de las tablas 1,2,3 y 4 se obtuvo dividiendo la suma de los datos entre el número de animales vivos.

**TABLA 1. CURVA DE PARASITENIA DE LA CEPA
PR DE *Trypanosoma cruzi*.
NUMERO DE PARASITOS POR mm²**

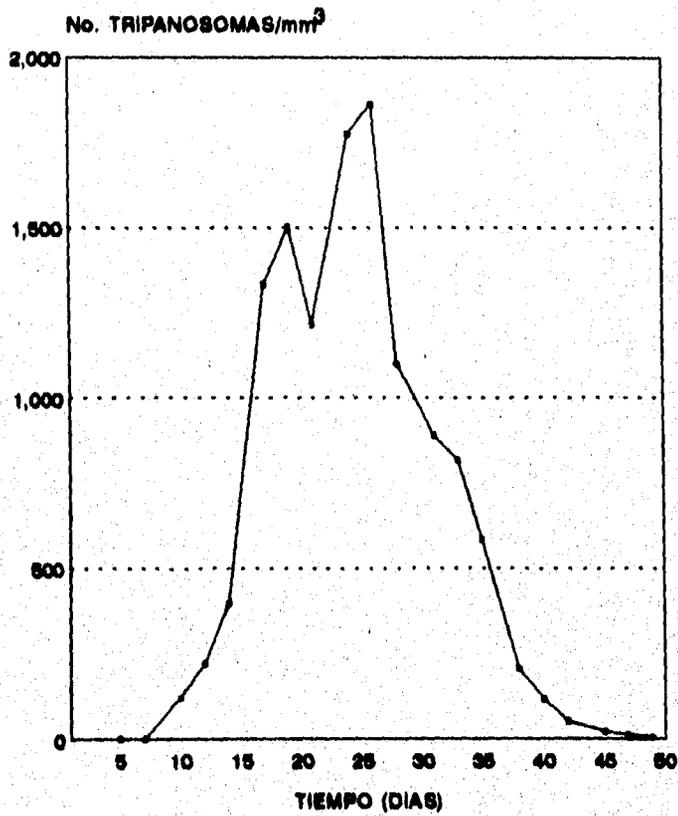
TIEMPO (DÍAS)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	X
4	0	1	0	2	2	4	1	0	0	0	0	1	1
6	2	2	3	4	1	7	4	1	5	2	0	2	3
8	7	3	5	6	0	13	7	1	6	3	4	4	5
11	0	0	50	200	0	250	150	0	250	0	100	0	83
13	100	100	50	250	75	100	375	25	100	100	250	75	133
15	125	100	50	0	50	175	150	50	125	100	300	150	115
18	375	275	50	125	100	725	550	225	175	475	1200	225	375
20	1750	625	175	125	325	725	600	175	450	675	1025	450	592
22	1075	275	250	150	425	750	525	325	1100	625	250	425	581
25	2200	625	375	375	925	1575	700	500	1000	2075	625	575	963
27	2025	375	175	150	1200	1275	500	625	350	1125	1150	750	888
29	725	400	100	200	075	450	150	125	125	375	275	275	335
32	000	0	50	75	000	650	25	150	50	175	75	125	240
34	1150	75	0	75	550	150	25	75	100	125	125	75	244
36	750	0	25	50	650	25	25	25	25	0	25	25	135
39	350	25	25	0	125	0	75	+	0	50	50	0	64
41	1100	0	50	0	50	50	0	+	25	25	0	25	120
43	325	0	0	0	0	0	0	+	25	0	25	0	34
46	75	0	0	0	0	0	25	+	25	25	25	25	10
48	25	0	0	0	25	0	25	+	0	50	25	25	16
50	0	0	0	0	0	0	0	+	25	0	0	0	2

GRAFICA 1
CURVA DE PARASITEMIA DE LA CEPA PR DE T. CRUZI



Los datos representan el promedio de doce ratones.

GRAFICA 2
CURVA DE PARASITEMIA DE LA CLONA 1 DE LA CEPA PARRA DE T. CRUZI

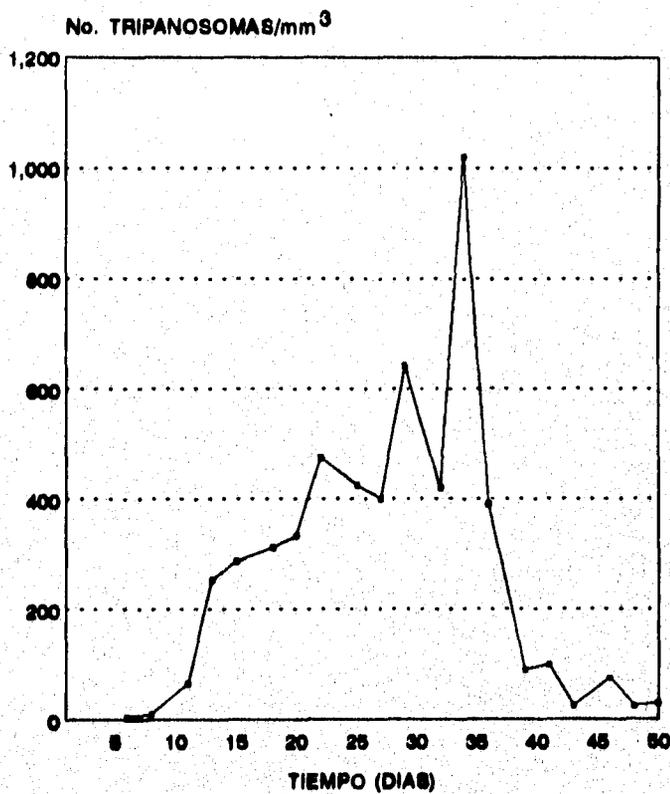


Los números representan el promedio de doce ratones

**TABLA 3. CURVA DE PARASITEMIA DE LA CEPA
V₁R DE *Trypanosoma cruzi*.
NUMERO DE PARASITOS POR mm³**

TIEMPO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	X
6	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
8	75	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
11	200	0	350	100	50	0	0	0	50	0	50	0	66
13	500	50	700	300	50	100	150	250	100	50	550	250	254
15	150	150	600	200	150	250	100	350	100	200	400	600	267
18	200	300	400	450	50	250	400	250	150	100	350	850	312
20	600	150	650	250	0	150	550	300	400	50	400	600	353
22	350	250	450	600	50	350	350	50	1100	300	650	850	475
25	450	300	750	250	150	600	350	200	500	250	100	800	425
27	350	400	150	150	0	250	300	150	1050	50	1000	150	400
29	1450	250	100	550	50	600	450	50	2650	100	600	650	642
32	200	0	50	100	0	650	350	0	3150	150	350	50	420
34	600	50	350	550	0	600	300	0	5450	100	200	50	1020
36	300	50	150	100	0	250	250	0	3400	50	50	100	391
39	400	0	50	50	0	200	250	0	+	0	50	0	50
41	350	100	100	0	0	300	250	0	+	0	0	0	100
43	0	0	0	100	0	50	100	0	+	0	0	+	25
46	100	150	150	50	0	150	0	0	+	0	150	+	75
48	0	0	50	150	0	0	50	0	+	0	0	+	25
50	50	50	50	50	0	50	50	0	+	0	0	+	50

GRAFICA 3
CURVA DE PARASITEMIA DE LA CEPA V2R DE T. CRUZI

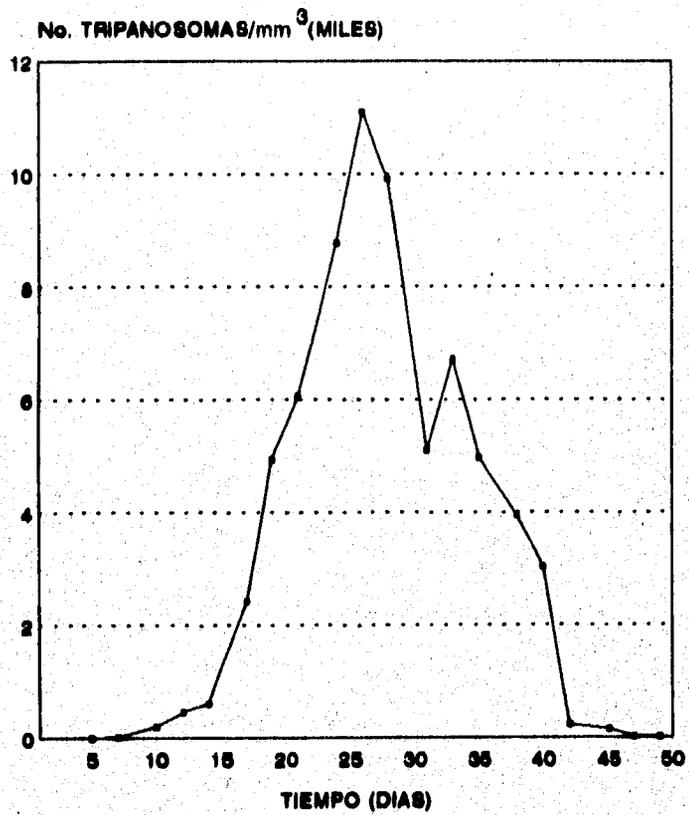


Los datos representan el promedio de doce ratones.

TABLA 4. CURVA DE PARASITEMIA DE LA CEPA COMPOSTELA DE *Trypanosoma cruzi*.
NUMERO DE PARASITOS POR mm³

TIEMPO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	X
5	0	1	4	0	0	0	0	4	0	0	0	3	1
7	0	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	30	21
10	200	430	100	0	0	230	430	330	300	30	130	30	196
12	+	230	230	25	300	600	1300	300	300	300	230	300	432
14	+	230	0	30	330	1930	1100	300	300	530	730	030	605
17	+	730	230	630	1900	9330	1300	1330	1030	2030	1530	5300	2427
19	+	000	400	630	3130	10330	300	3000	930	7600	530	27300	4932
21	+	2430	730	1230	4300	21230	1030	4430	1300	4130	2600	22330	6064
24	+	9700	1300	2030	9730	19030	1300	0000	1030	10230	330	31130	8778
26	+	7900	200	4000	12300	40630	+	20300	330	9300	600	13000	11100
28	+	6000	1200	4030	20100	20130	+	12000	300	10030	400	24100	9915
31	+	14700	000	3000	7030	+	+	+	30	9300	0	+	5100
33	+	10700	30	7000	12330	+	+	+	30	16300	30	+	6729
35	+	13030	130	9000	+	+	+	+	30	6000	0	+	4975
38	+	14900	130	4100	+	+	+	+	+	630	0	+	3960
40	+	13100	100	1000	+	+	+	+	+	100	30	+	3030
42	+	+	300	530	+	+	+	+	+	30	0	+	225
45	+	+	130	200	+	+	+	+	+	200	30	+	130
47	+	+	0	30	+	+	+	+	+	0	0	+	13
49	+	+	0	30	+	+	+	+	+	0	0	+	13

GRAFICA 4
CURVA DE PARASITEMIA DE LA CEPA COMPOSTELA DE T. CRUZI



Los datos representan el promedio de doce ratones.

4.2 DISCUSION

La caracterización biológica está basada en el comportamiento que presenten cepas y/o clonas en ratones inoculados y medios de cultivo, por lo que es un aspecto fundamental dentro del estudio de la enfermedad de Chagas. Para conocer aspectos importantes del comportamiento biológico de las cepas estudiadas (PR, PARRA (CLONA 1), V2R, COMPOSTELA) es necesario realizar una caracterización biológica.

Dicha caracterización se realizó empleando ratones albinos de la cepa NIH los cuales fueron inoculados por vía intraperitoneal con un inóculo de 50 000 tripomastigotes.

El seguimiento del curso de la infección se realizó tomando muestras de sangre por punción de la vena caudal del ratón cada tercer día realizando el conteo de tripomastigotes utilizando la cámara de Neubauer (cuadrícula de glóbulos blancos) para obtener resultados más precisos (Perlowagora,1987).

Las tablas 1,2,3 y 4 muestran las lecturas del número de parásitos contados y el número de días en que se llevaron a cabo dichas lecturas de cada una de las cepas.

El período prepatente fue variado en el caso de la cepa PR tuvo una duración de 4 días mientras que el caso de las cepas PARRA (CLONA 1) y COMPOSTELA fue de 5 días y en la cepa V2R se observó hasta el sexto día de inoculación.

Es importante mencionar que existen varios factores que pueden influir en la aparición de los primeros parásitos en la sangre. Uno de ellos es la vía de inoculación aunque no haya una total aceptación entre los autores pues mientras unos dicen (Galliard, 1930 y 1952) que la vía subcutánea debe preferirse porque los tripomastigotes aparecen rápidamente y en número mayor, otros consideran que la peritoneal produce infecciones más elevadas y mortales, mientras que la vía oral tiende a producir el mayor número de localizaciones viscerales (Aviles y Rios, 1950; Chagas, 1909).

Además son de tomarse en cuenta la capacidad inmunológica del huésped, la virulencia y patogenicidad de la cepa y el número de parásitos inoculados ya que esto es de gran importancia para la intensidad de la infección que se desea lograr, así como también el tamaño del inóculo ya que se puede inyectar un número mínimo de parásitos para producir una mayor mortalidad (Goble, 1951).

La evaluación de formas sanguíneas anchas y delgadas, cortas y largas de tripomastigotes en sangre periférica de ratones infectados pudo mostrar la diferencia de cepas que pueden ser caracterizadas por esta morfología.

Se observaron diferencias entre las cepas, en el caso de la cepa compostela se observó polimorfismo obteniéndose formas anchas largas así como también delgadas largas. La cepa PR únicamente

mostró delgadas largas, mientras que en las cepas V2R y PARRA (CLONA 1) las formas predominantes fueron anchas largas.

Las diferencias morfológicas que presentan las cepas de *T. cruzi* pueden deberse principalmente a la amplia distribución geográfica que tiene el parásito, así como a la gran variedad de huéspedes y vectores con los que se le asocia permitiendo la selección de cepas, hablando morfológicamente, que puede variar tanto para animales de experimentación como para el hombre (Brener, 1977).

Una diferencia importante entre cepas sudamericanas y las aisladas en México es que en estas últimas muchas de ellas presentan únicamente un tipo de tripomastigotes en el curso de toda la infección (Cervantes, 1981).

Las cepas que presentan predominio de formas largas desde la fase inicial de la infección generalmente exhiben un patrón único de curva de parasitemia con ascenso lento y gradual, picos máximos entre 20 y 30 días (COMPOSTELA y PR) seguido de una disminución lenta del número de tripomastigotes y con mortalidad variable. Estos datos establecen la existencia de la relación entre el patrón morfológico-evolutivo de los parásitos y el curso de la infección experimental. Lo cual coincide con lo observado por Andrade en 1985.

Diversos modelos morfológicos de las formas sanguíneas de *T. cruzi*, se pueden relacionar con las curvas de parasitemia observadas así como también con el organotropismo en huéspedes infectados.

Las gráficas 1,2,3 y 4 muestran las curvas de parasitemia obtenidas a partir de las cepas estudiadas de *T. cruzi*.

En el caso de la cepa PR (Gráfica 1) se observa un incremento variable hasta alcanzar un pico máximo al vigésimo quinto día, posteriormente un descenso gradual en la concentración de tripomastigotes con un período de infección de 50 días.

La cepa PARRA (CLONA 1) (Gráfica 2) mostró un incremento uniforme con un pequeño descenso y posteriormente un incremento con un pico máximo al vigésimo sexto día y a partir de éste un decremento hasta el final de la infección.

En la cepa V2R (Gráfica 3) el comportamiento fue muy variable ya que hasta el día 33 se observaron incrementos y descensos por lo que no se observa una curva muy definida. El pico máximo fue más largo hasta el día 34 mostrando posteriormente un descenso gradual hasta el día 50 que duró la infección.

La curva de parasitemia observada en la cepa COMPOSTELA (Gráfica 4) tuvo un incremento gradual, obteniendo un pico máximo el día 26 y después de un descenso parcial, en el día 33 se incrementó nuevamente, y a partir de aquí se observó una declinación marcada hasta el día 49 que finalizó la infección.

La evaluación de la patogenicidad permitió incluir a las cepas PR, PARRA (CLONA 1), V2R en baja patogenicidad ya que el 80-90% de los animales infectados pasaron a la fase crónica, mientras que la cepa COMPOSTELA observó una alta patogenicidad debido a que tuvo una alta mortalidad en los animales utilizados (70%) y se observó daño en miembros inferiores, es decir caídas parálisis en la mayoría de los ratones.

El curso de la infección en el huésped vertebrado puede ser evaluado por un período prepatente, curva de parasitemia y mortalidad que puede proporcionar evidencia sobre la virulencia del parásito.

De acuerdo a esto la cepa COMPOSTELA tuvo una alta virulencia debido a su rápida multiplicación en el animal de experimentación mientras que las cepas PR, PARRA (CLONA 1) y V2R mostraron una virulencia media debido a que los animales sobrepasaron a la fase aguda.

Es importante mencionar la variación de la virulencia ya que puede estar influenciada por varios factores, mientras que algunos autores opinan que pasa a través de animales sensibles atenuando la virulencia de una cepa y la readquiere cuando se inocula a otra especie animal (Chagas, 1909; Diaz, 1934) otros autores señalan que cepas muy viejas que han mantenido en el laboratorio en animales y cultivo muestran extrema patogenicidad para ratas jóvenes.

De acuerdo a trabajos experimentales la conservación de las cepas es un punto muy importante a tratar, ya que las cepas que se tienen en cultivo van perdiendo patogenicidad por lo que se recomienda hacer pasas de ratón a triatoma para evitar cambios en cuanto a la virulencia y patogenicidad de la cepa estudiada (Monteiro, 1971).

El tropismo tisular es uno de los aspectos más importantes para la distinción de varias cepas de *T. cruzi* (Andrade, 1965).

En este caso se revisaron cortes histológicos de diversos tejidos de ratones de cada una de las cepas estudiadas mostrando nidos de amastigotas en miocardio los ratones correspondientes a las cepas PR, PARRA (CLONA 1) y V2R, mientras que en el caso de la cepa COMPOSTELA se observaron en músculo de miembros inferiores pudiendo esto relacionar la parálisis que presentaron durante la infección.

Andrade (1985) menciona que las formas delgadas predominan en una virulencia alta y en cepas macrofagotrópicas y las formas anchas predominan en baja virulencia y en cepas mitotrópicas.

Esto permite determinar que las cepas estudiadas presentan similitudes con lo antes mencionado ya que la cepa COMPOSTELA mostró una virulencia alta, con polimorfismo que afectó tejido muscular de miembros inferiores, mientras que en las cepas PR, PARRA (CLONA 1) y V2R, la morfología que se observó (anchas) corresponde a lesiones presentadas en tejido cardíaco.

Esto es un ejemplo de una posible correlación entre una multiplicación temprana y rápida con el predominio de formas delgadas y macrofagotropismo. Al contrario, la multiplicación baja y progresiva observada en las mismas cepas coincide con el predominio de formas anchas y mitotropismo (Andrade, 1985).

De acuerdo a una clasificación hecha por Andrade en 1985 basada en la morfología del parásito en sangre periférica, en la virulencia y patogenicidad, reflejando los rangos de mortalidad y lesiones tisulares fueron establecidos 3 tipos caracterizados como:

TIPO I: Cepas con un rango de multiplicación rápido con una parasitemia máxima y mortalidad de 7 a 12 días de infección, predominando las formas delgadas y el macrofagotropismo en la fase temprana de la infección.

TIPO II: Cepas con una multiplicación relativamente baja con picos de parasitemia irregular de 12 a 20 días de infección con intervalos de mortalidad máximos, predominio de formas anchas con un bajo porcentaje de formas delgadas en la fase inicial de la infección, mitotropismo con desarrollo predominante de miocardio.

TIPO III: Baja multiplicación, con picos de parasitemia tardía altos (20 a 30 días después de la infección), intervalos bajos de mortalidad desde el quinto día de la infección, predominio de formas anchas a través del curso de la infección y mitotropismo con complicaciones del músculo esquelético predominantemente.

Tomando en cuenta esta clasificación la cepa **COMPOSTELA** corresponde al **TIPO I**, mientras que las cepas **PR**, **PARRA (CLONA 1)** y **V2R** correspondieron al **TIPO III** por los picos de parasitemia presentados de 20 a 34 días, una baja mortalidad y un patron morfológico constante en el curso de la infección.

Comparando los resultados obtenidos en el estudio experimental realizado en 1995 por Aguilar con la cepa **PARRA** y con los obtenidos en el presente trabajo con la cepa **PARRA (CLONA 1)**, se observaron diferencias en cuanto al tiempo en las curvas de parasitemia.

En la cepa **PARRA** la duración del período prepatente fué hasta el décimo día observándose una curva bien definida con un pico

máximo al trigésimo séptimo día y con una duración de la infección de 55 días.

Mientras que en la CLONA 1 de dicha cepa los niveles parasitémicos se presentaron al quinto día de inoculación observándose el pico máximo al vigésimo sexto día de infección y con una duración de 49 días.

La morfología observada en la cepa PARRA fueron anchas y cortas mientras que en la CLONA 1 fueron anchas largas.

Ambas cepas mostraron baja patogenicidad ya que el 80-90% de los ratones evolucionaron a la fase crónica.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

-Se provocó parasitemia en ratones con cuatro cepas aisladas de diferentes fuentes.

_ La duración de dicha parasitemia fue entre 49 y 50 días.

_ Para las cepas PR, PARRA (CLONA 1), V2R Y COMPOSTELA, no se presentaron cambios morfológicos durante el curso de la parasitemia.

_ En las 4 cepas estudiadas se presentó diferente patrón morfológico. En las cepas PARRA (CLONA 1) Y V2R se observaron formas anchas largas, en PR delgadas largas, mientras que la cepa COMPOSTELA presentó polimorfismo consistiendo en formas anchas y delgadas largas, en todo el curso de la infección.

-La morfología no es determinante para clasificar a las cepas estudiadas.

- Las cepas PR, PARRA (CLONA 1) Y V2R fueron cardiotrópicas, mientras que la cepa COMPOSTELA presentó tropismo para sistema músculo esquelético.

_ En las cepas estudiadas no existe relación entre virulencia y mortalidad en los animales utilizados.

- De acuerdo a las comparaciones anteriores, podemos suponer que cada aislamiento está constituido en realidad por una mezcla de poblaciones, por lo que se sugiere obtener más clones y ampliar los estudios al respecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) ANDRADE G.S., 1985.- Morphological and behavioural characterization of *Trypanosoma cruzi* strains.
- 2) AVILES F.M., RIOS T.; 1950.- Rev.Ecuat. De Hig. Y Med. trop. Guayaquil. VII, 84-90.
- 3) BARRERA-PEREZ M.A. et al., 1992.- Prevalencia de la enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán. Rev. Biomed. 3(3): 133-139.
- 4) BRENER, Z., 1977.- Simposio sobre nuevos enfoques en la investigación de la Tripanosomiasis americana. Bol. Of. Sanit. Panam., 83(2):106-116.
- 5) BRENER Z., 1985.- General review on *Trypanosoma cruzi* classification and taxonomy. Rev.Soc. Brasileira de Med. Trop. 18 (suplemento) 18.
- 6) BURK,H.C. 1969.- Manual de Técnica Histológica. 1a. Ed. editorial Paz Montalvo.
- 7) CARNEIRO N., ROMANHA J.A.; CHIARI E., 1991.- Biological Characterization of *Trypanosoma cruzi* strains from different syndemes and schisodemes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 86 (4): 387-393.

8) CARRASCO, G.H.A.; PALACIOS, P.E.; MENDOZA, B.R.V.; DAGERT DE C.C., 1983.- Aspectos clínicos de la Enfermedad de Chagas. Diagnóstico de daño miocárdico. Acta Cardiol., 8(6): 342-352.

9) COSTA, C. H.; ET AL., 1981.- Skin reactions to bug bites a result of xenodiagnosis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 75(3): 405-408.

10) COURA, J. R.; ET AL., 1989.- Xenodiagnosis in chronic Chagas' disease: Why some patients are persistently positive and others negative?. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Suppl. II Nov.; 84: 114.

11) CUBA, C. C.; ET AL., 1978.- Nuevos estudios comparativos entre *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans* en el xenodiagnóstico de la infección chagásica crónica humana. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 20(3): 145-151.

12) CHAGAS, C. 1909.- Memorias Instituto Oswaldo Cruz. 159: 2-18.

13) DEMERIS J, MARSHALL A.N., 1982.- Biological Characterisation of strains of *Trypanosoma cruzi* Chagas isolated from a human case of Tripanosomiasis in California. University of California, Berkeley.

14) DIAS, E. 1934.- Memorias Instituto Oswaldo Cruz. XXVIII: 1-110.

15) DIAS, J.C., 1968.- Cutaneous manifestations in the practice of xenodiagnosis. Rev. Bras. Malariol Doenças Trop., 20(3): 247-257.

16) DIAS, J.C., 1987.- Epidemiology of Chagas' Disease in Brazil. Chapter 4 in Chagas' Disease Vectors. Volume I Taxonomic, Ecological, and Epidemiological aspects. CRC Press, Inc., Boca Raton Florida. 57-84.

17) DIAS, J.C., 1990.- Doença de Chagas clínica e terapêutica. Ministério da Saúde, Brasil.

18) GALLIARD H. 1930.- Ann. Paras. Hum. et. comp. VII: 140-142.

19) GALLIARD H. 1952.- Ann. Paras. Hum. et. comp. VII: 140-142.

20) GOBLE F.C., 1951.- J. Parasitologia. XXXVII: 408-414.

21) GONZALEZ, J. et al. 1995. Biochemical, immunological, and biological characterization of *Trypanosoma cruzi* populations of the Andean North of Chile. Exp. Parasitol. 81: 125-135.

22) KREIER, J.P., 1977.- In parasitic protozoa, vol. I Taxonomy, Kinetoplastids, and flagellates of fish. Academic Press, New York. 1977.

23) MONTEIRO, S.J.C., 1971.- Comportamento da cepa avirulenta PF do *Trypanosoma cruzi* no hospedeiro invertebrado. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo. 13(4): 279-284.

24) MOTT, K.E.; ET AL., 1980.- Cutaneous allergic reactions to *Triatoma infestans* after xenodiagnosis. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 75(3-4): 3-10.

25) ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1984.- Situación de la enfermedad de Chagas en las Américas. Bol. Of. Sanit. Panam., 1159-165.

26) PERLANAGORA-SEUMLEWICZ, A. & MÜLLER, C.A., 1987.- Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease 2. Attempts to upgrade the efficiency and reliability of xenodiagnosis in chronic Chagas' disease. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 82(2): 259-272.

27) ROMAÑA, C., 1963.- Enfermedad de Chagas. Lopez Libreros. Ed. B. Aires. 1a. Ed.

28) SCHMIDT, D.G. & ROBERTS, S.L., 1989.- Foundations of Parasitology. Mosby Company. 62-68.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

29) TAY, J.; ET AL., 1987.- Epidemiología de la enfermedad de Chagas en una población de Oaxaca, México. Bol. Of. Sanit. Panam. 102 (4): 325-332.

30) VELASCO, C.O. & GUZMAN, B.C., 1986.- Importancia de la enfermedad de Chagas en México. Rev. Lat. Amer. Microbiol., 28: 275-283.

31) WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990.- American tripanosomiasis. TDR-CTD/ WH90.1: 12-13.

32) ZELEDON, R., 1987.- Life Cycle of *Trypanosoma cruzi* in the Insect Vector, Chapter 5, Volume II.