

## INFECCIÓN NATURAL DE AKODON DOLORES, THOMAS, 1916 (RODENTIA, CRICETIDAE) POR EL TRYPANOSOMA CRUZI

Beatriz BASSO (1), E. MORETTI (1), Inés ALBESA (2), A. ERASO (2), F. KRAVETZ (3) y A. D'ALESSANDRO (4)

### RESUMEN

El estudio morfológico y biológico de tres cepas de tripanosomas de una población de *Akodon dolores* de la zona periurbana del municipio de Las Higueras, provincia de Córdoba, Argentina, demostró que se trataba de *T. cruzi*. Como el 15% de 134 *A. dolores* examinados en la zona había demostrado tripanosomas cruziformes, se concluye que este roedor es un reservorio frecuente del parásito. El *A. dolores* es la especie numéricamente dominante en la comunidad de roedores que vive en los habitats de mayor estabilidad en la región. Debe investigarse el ciclo de transmisión silvestre así como su relación con el domiciliario en esta zona de baja endemicidad de Enfermedad de Chagas en el hombre.

### INTRODUCCION

La presencia de tripanosomas morfológicamente indistinguibles del *T. cruzi* es conocida en muchas especies de animales silvestres en la mayoría de los países del Nuevo Mundo<sup>3,14</sup>. En la República Argentina, se ha descrito la infección natural por *T. cruzi* o tripanosomas cruziformes en edentados<sup>17</sup>, carnívoros<sup>19</sup>, marsupiales<sup>20</sup>, quirópteros<sup>18</sup> y roedores<sup>8</sup>.

Entre los cricétidos se han encontrado, en Brasil, tres especies de *Akodon* infectadas con *T. cruzi*: *A. arviculoides cursor*<sup>13</sup>, *A. nigrinus nigrinus*<sup>24</sup> y *A. lasiotis*<sup>25</sup>, así como especies de los géneros *Nectomys*<sup>11,13</sup>, *Oryzomys*<sup>1</sup> y *Calomys*<sup>3,21</sup>. En la Argentina, BASSO & col.<sup>5</sup> informaron el hallazgo de *T. cruzi* en *C. musculinus* y MORETTI & col.<sup>22</sup> en *C. laucha*.

En este trabajo se informa sobre las características biológicas de tres aislamientos de flagelados obtenidos en ejemplares de *A. dolores* capturados en Córdoba, Argentina, durante un estudio longitudinal de las variaciones

en la prevalencia de tripanosomas cruziformes en roedores silvestres<sup>15</sup>.

### MATERIALES Y METODOS

La captura de los roedores se realizó en la zona periurbana del Municipio de Las Higueras, mediante trampas de captura viva. *A. dolores* es un roedor cricétido de 40 gr. de peso corporal y 190 mm. de largo total promedio (Fig. 1), cuya distribución geográfica comprende el centro y el norte de la Provincia de Córdoba; Sierras de la Provincia de San Luis y las Provincias de La Rioja y Catamarca<sup>6</sup>. En la zona estudiada se lo encuentra en áreas de baja perturbación, relacionadas con alambradas, pasturas abandonadas, montes espinosos y bordes de arroyos<sup>16</sup>.

La búsqueda de los tripanosomas en los ejemplares de *Akodon* se realizó en muestras de sangre retroocular, obtenidas con tubos capilares heparinizados, por el método de con-

(1) Sección Investigaciones Inmunológicas, Servicio Nacional de Chagas, Córdoba, Argentina  
(2) Departamento de Microbiología, Fac. C. Exactas, F.Q. y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina  
(3) Departamento de Microbiología, Fac. de Medicina, Univ. Nac. de Buenos Aires, Argentina  
(4) Departamento de Medicina Tropical, Universidad de Tulane, Louisiana, USA y División de Salud, Univ. del Valle, Cali, Colombia

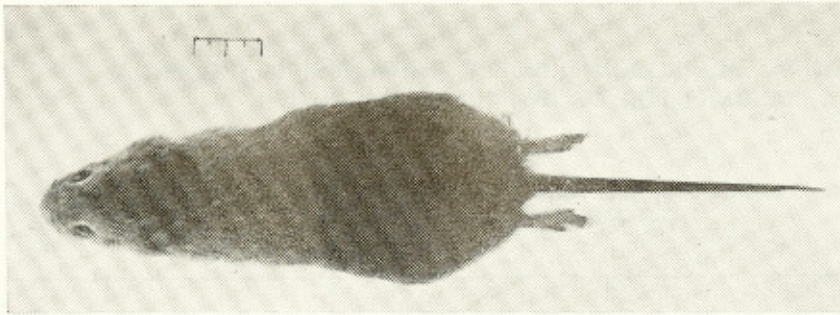


Fig. 1 — Ejemplar de *A. dolores*. Escala 1:2

centración de WOO<sup>27</sup> y en gotas gruesas coloreadas con solución de Giemsa.

El aislamiento de los flagelados se realizó mediante hemocultivo en el medio de TOBIE<sup>26</sup>, sembrando 0,2 ml de sangre de *Akodon* o de ratones previamente inoculados intraperitonealmente con 0,2 ml de sangre de *Akodon*. Los flagelados en cultivo fueron transferidos cada 15 días y se mantuvieron a 28°C ( $\pm$  1°C).

Los estudios morfológicos y biométricos de los tripomastigotes sanguíneos se efectuaron en extendidos de sangre periférica coloreados con May-Grunwald Giemsa. Los dibujos se realizaron con ayuda de una cámara lúcida y las medidas se tomaron con un planígrafo.

La infectividad y la virulencia de los aislamientos se investigaron en ratones de ambos sexos, cepas BALB/c o CFW, de aproximadamente 10 gr. de peso, que se inocularon con formas de cultivo, formas fecales obtenidas de *Triatoma infestans*, y/o formas sanguíneas obtenidas de los *Akodon* originales. La parasitemia fue evaluada en preparados de sangre fresca y/o hemocultivo. Los ratones fueron observados durante cuarenta días, registrándose la mortalidad.

Las formas tisulares se investigaron en cortes histológicos de tejidos de ratones (corazón, hígado, bazo y músculo), en improntas de piel y músculo de la zona de inoculación, y en cultivo de células de riñón de mono verde (VERO). Cada tubo fue inoculado con 1,5 x 10<sup>6</sup> formas de cultivo lavado de 15 días, y las células examinadas a los 4 y a los 6 días post inoculación, previa coloración con Giemsa.

La infectividad para triatominos se investigó en *T. infestans* y *Rhodnius prolixus*, de 3.º y 4.º estadio ninfal, que se alimentaron en *Akodon* y en ratones albinos, natural y experimentalmente infectados respectivamente, o bien a

través de una membrana con una suspensión de 1,5 x 10<sup>6</sup>/ml formas de cultivo y sangre defibrinada de conejo (alimentación artificial). También se inocularon formas de cultivo lavado en el hemocele de estas dos especies de triatominos, para evaluar la presencia del *Trypanosoma rangeli*, que se multiplica en la hemolinfa. La hemolinfa, las heces y las glándulas salivales se examinaron periódicamente y a los 80 días los insectos fueron disecados. Se usó la metodología recomendada por D'ALESSANDRO<sup>10</sup>. Todos los recuentos se realizaron en un hemocitómetro.

## RESULTADOS

**Morfología y biometría de los tripomastigotes hemáticos** — Los tripomastigotes hemáticos de los roedores natural y experimentalmente infectados, presentaron las siguientes características: extremo posterior agudo, kinetoplasto subterminal prominente, núcleo ubicado en el tercio medio del cuerpo, membrana ondulante nítida, con pocos pliegues, y flagelo libre corto (Fig. 2). Los datos biométricos se resumen en la Tabla I. Tanto la forma como las medidas fueron indistinguibles de las del *T. cruzi* observado en el hombre y en los mamíferos silvestres.

**Infectividad y virulencia** — Los animales inoculados experimentalmente mostraron parasitemia detectable mediante exámenes en fresco, hemocultivo y/o xenodiagnóstico. Se observó una elevada tasa de mortalidad (20/30) registrada fundamentalmente entre 15 y 20 días después de la inoculación. Por otro lado, los *Akodon* no mostraron signos de enfermedad durante los cuatro meses que se mantuvieron en cautiverio, y su parasitemia fue disminuyendo paulatinamente hasta negativizarse.

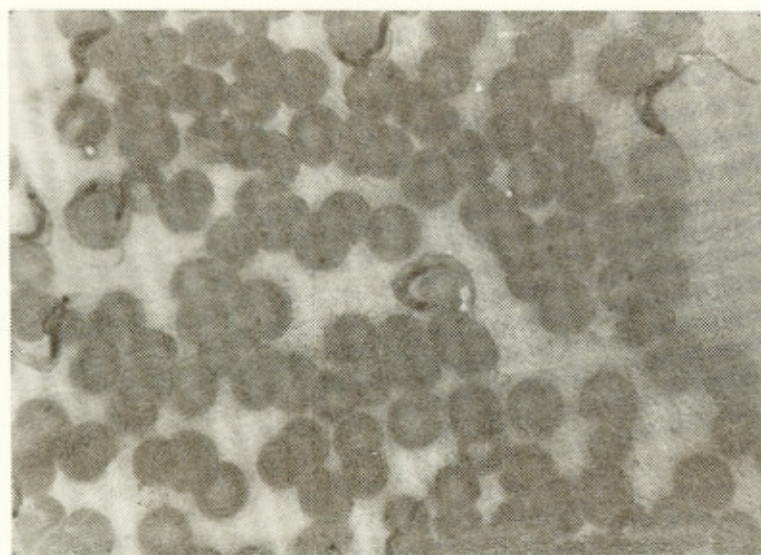


Fig. 2 — Tripomastigotes sanguíneos aislados de *A. dolores*. May Grünwald-Giemsa, 400 X

T A B L A I

Biometría de los tripomastigotes hemáticos del *T. cruzi* de *Akodon dolores*, expresada en micras n = 50

Parámetro	Promedio	Mínimo/máximo
Largo del cuerpo	12,56	(11,00 — 17,00)
Largo del flagelo	3,57	( 6,00 — 10,28)
Largo total	21,14	(18,00 — 22,29)
NP	6,54	( 5,14 — 9,00)
NA	6,02	( 5,00 — 7,00)
NP/NA	1,08	( 0,74 — 1,66)

**Formas tisulares** — Se demostraron amastigotes en todos los sistemas usados. En los

cultivos de células VERO se observaron pseudoquistes de amastigotes, tanto en las preparaciones del cuarto día como en las del día seis. También se vieron en los cortes histológicos de corazón, bazo, hígado y músculo de los ratones experimentalmente infectados, formando los clásicos "nidos", indistinguibles de los de *T. cruzi* (Fig. 3). En las improntas de la zona de inoculación de ratones experimentalmente infectados con sangre de *Akodon* (día 8) se vieron todos los estadios evolutivos del *T. cruzi*, desde amastigotes hasta tripomastigotes (Fig. 4).

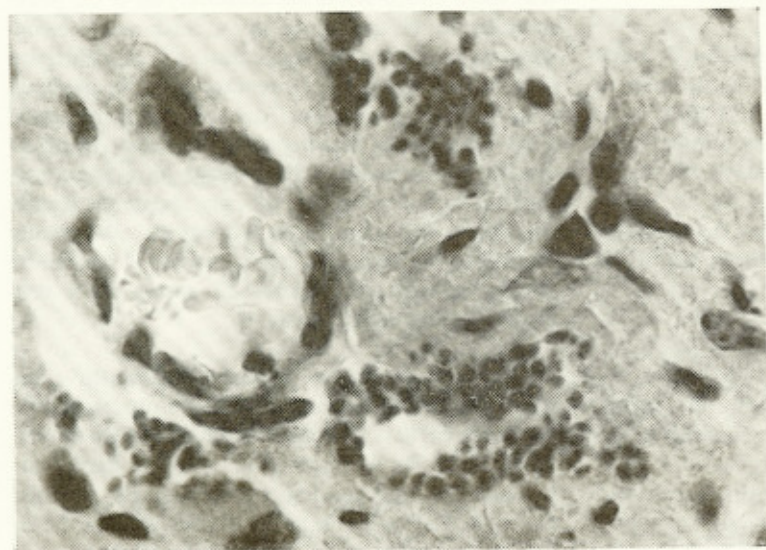


Fig. 3 — Amastigotes en fibra cardíaca de ratones BALB/c experimentalmente infectados. Hematoxilina-Eosina, 400 X

fección con tripanosomas que no diferían morfológica ni biométricamente del aquí descrito fue de 14%<sup>15</sup>. Como las cepas estudiadas se aislaron de animales capturados como parte del estudio longitudinal y se observó solo un tipo de flagelado, pueden considerarse como muestra del universo de tripanosomas de la población total de *A. dolores*. Además, los Autores de este trabajo han descrito la infección natural por *T. cruzi* y tripanosomas cruziformes de otras especies de roedores dominantes en hábitats de cultivo estival: *Calomys musculinus*<sup>5</sup> y *C. laucha*<sup>22</sup>. La prevalencia de infección en las poblaciones de estos dos roedores fue de 15% (40/265) y 8% (5/64), respectivamente<sup>15</sup>. Resulta por lo tanto de interés destacar que tres especies dominantes de la fauna de micromamíferos en zonas de la Provincia de Córdoba, San Luis, Catamarca y La Rioja, son reservorios de *T. cruzi*.

El área geográfica de distribución de *A. dolores* incluye zonas donde la prevalencia de la Enfermedad de Chagas en el hombre es muy diversa. El estudio se realizó en una zona considerada como de baja endemicidad, en la cual los Autores detectaron una reactividad serológica en humanos del 3,2%, en muestreo realizado al azar (datos no publicados). Sería muy interesante averiguar las características bioquímicas (isoenzimas, flotación del DNA y otros marcadores) e inmunológicas de las cepas de *T. cruzi* aisladas de *Akodon dolores* y otros roedores silvestres, y del hombre, para evaluar la importancia real de la zoonosis en la endemicidad chagásica de la zona.

## SUMMARY

**Natural infection of *Akodon dolores*, Thomas, 1916 (Rodentia, Cricetidae) by *Trypanosoma cruzi***

A morphobiometric and biological study of three strains of trypanosomes isolated from a population of *Akodon dolores* in the semi-rural area of Las Higueras, Province of Córdoba, Argentina, proved that they were all *T. cruzi*. Since 15% of 134 *A. dolores* examined in the area had shown *T. cruzi*-like trypanosomes, it was concluded that this rodent is a frequent reservoir of the parasite. Among the population of rodents living in the more stable habitats of the area, *A. dolores* is the dominant species

regarding numbers. The cycle of natural transmission, as well as its relationship with the domiciliary cycle in this area with low human endemicity of *T. cruzi* should be investigated.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece la ayuda técnica de Olivia de Hincapié, tecnóloga y de Jaime Torres, asistente del Centro Internacional de Investigaciones Médicas, Tulane University, Colciencias, Cali, así como la colaboración del Sr. Marcos Torres de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALENCAR, J. E.; PESSOA, E. P.; SHERLOCK, V. R.; TOMÉ, G. S. & CUNHA, R. V. — Estudos sobre a epidemiologia da Doença de Chagas no Ceará. I. Dados preliminares. Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop. 14: 201-220, 1962.
2. ALBUQUERQUE, R. D. — [Tese Fac. Farm. Odontol. Ribeirão Preto, 1968, 47 pp.].
3. BARRETTO, M. P. — Reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas, 1909. Buenos Aires, Simpósio Int. Enf. Chagas, 357-370, 1972.
4. BARRETTO, M. P. — Tripanossomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* em animais silvestres e sua identificação com o agente etiológico da doença de Chagas. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 7: 305-315, 1965.
5. BASSO, B.; ERASO, A.; MORETTI, E.; ALBESA, INÉS & KRAVETZ, F. — Infección natural de *Calomys musculinus* (Rodentia Cricetidae) por *Trypanosoma cruzi*. Rev. Asoc. Arg. Microbiol. 9: 11-16, 1977.
6. CABRERA, A. — Catálogo de los mamíferos de América del Sur. Rev. Museo Ciencias Naturales, Buenos Aires, IV: 442 p.p., 1961.
7. CARINI, A. & MACIEL, J. — Sur une hemogregarine et une trypanosome d'un muride (*Akodon fuliginosus*). Bull. Soc. Path. Exot. 8: 165-169, 1915.
8. CARCAVALLO, R. — Aspects of the epidemiology of Chagas Disease in Venezuela and Argentina. Am. Trypanosomiasis Res. PAHO Sci. Pub. n.º 318 — Brasil 347-358, 1975.
9. CERISOLA, J.; ROHWEDDER, R.; SEGURA, E.; DEL PRADO, C.; ALVAREZ, M. & MARTINI, G. — El Xenodiagnóstico. Argentina, Publ. Ministerio Bienestar Social, 127 p.p., 1974.
10. D'ALESSANDRO, A. — New experimental vectors of Colombian *Trypanosoma rangeli*. J. Med. Entomol. 9: 183-195, 1972.
11. DEANE, L. — Sobre un tripanossomo do tipo cruzi encontrado num rato silvestre, no Estado do Pará. Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop. 12: 87-102, 1960.

12. DIAS, E.; MELLO, G.; COSTA, O.; DAMASCENO, R. & AZEVEDO, M. — Investigações sobre schistotrypanose de morcegos no Estado do Pará. Encontro do barbeiro *Cavernícola pilosa* como transmissor. *Rev. Brasil. Biol.* 2: 103-110, 1942.
13. FERRIOLI Filho, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. VI — Infecção natural do roedor *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8: 72-81, 1965.
14. HOARE, C. A. — *The Trypanosomes of Mammals*. Oxford, Blackwell Sci. 1972, 613-643.
15. KRAVETZ, F.; ERASO, A.; MORETTI, E.; ALBESA, I. & BASSO, B. — Variaciones en la prevalencia de tripanosomas semejante a *Trypanosoma cruzi* en roedores silvestres. *Ecología* 3: 81-87, 1978.
16. KRAVETZ, F. — [Tesis doctoral]. Argentina, Fac. Ciencias Exactas, Univ. Nac. de Buenos Aires, 1978.
17. MAZZA, S. — Acerca de la infección espontánea de la mulita en el norte por el *Trypanosoma cruzi*. Publ. Misión estudios de Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A.) N.º 1, 1930.
18. MAZZA, S. — Hallazgo de tripanosomas en murciélagos del Chaco y Ledesma (Jeju). *Pub. M.E.P.R.A.* N.º 22, 3-11, 1935.
19. MAZZA, S.; BASSO, G. & BASSO, R. — Primer caso agudo de la enfermedad de Chagas y primeros animales domésticos (perro, gato) portadores de *Schizotrypanum cruzi* comprobados en la Provincia de Mendoza. *Pub. M.E.P.R.A.* 24: 3-16, 1935.
20. MAZZA, S. & SCHREIBER, F. — Hallazgos en el Departamento General Obligado (Santa Fé) de: otra especie de mustélido infectado con *Schizotrypanum cruzi*, de *T. infestans* infectados en nidos de comadreja, de *T. platensis* infectados en nidos de Psitacidae y de *P. coreodes* sin infestación en nidos de dendrocoláptidos. *Pub. M.E.P.R.A.* 34: 17-35, 1938.
21. MELLO, D. & TEIXEIRA, M. — Nota sobre a infecção natural de *Calomys expulsus* Lund, 1841 (Cricetidae, Rodentia) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Saúde Públ.* 11: 561-564, 1977.
22. MORETTI, E.; BASSO, B.; ALBESA, I.; ERASO, A. & KRAVETZ, F. — Infección natural de *Calomys laucha* por *Trypanosoma cruzi*. *Medicina Bs. As.*, 40 (Supl. 1): 181-186, 1980.
23. RIBEIRO, R. D. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XXVI — Infecção natural do rato d'água, *Nectomys squamipes squamipes* (Brants, 1827) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10: 229-237, 1968.
24. RIBEIRO, R. D. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XLIX — Sinonímia de *Trypanosoma Akodoni* Carini e Maciel 1915 em *Trypanosoma cruzi*, Chagas 1909. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14: 162-170, 1972.
25. RIBEIRO, R. D. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LVIII — Infecção natural do rato *Akodon lasiotis* (Lund, 1841) pelo *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17: 247-252, 1975.
26. TOBIE, E. J. & REES, CH. W. — The cultivation of *Trypanosoma cruzi* in dialysate medium. *J. Parasitol.* 34: 80-86, 1948.
27. WOO, P. T. — The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Can. J. Zool.* 47: 921-924, 1969.

Recebido para publicação em 12/11/1980.