

TECNICA PARA OBTENER DEYECCIONES HIALINAS COMO INOCULO Y PARA MICROANALISIS, CON NINFAS DE QUINTO ESTADIO DE *R. PROLIXUS*, INFECTADAS Y NORMALES

Por

ERNESTO OSORNO MESA

Y

HERNANDO OSORNO MESA * (†)

Hemos elaborado nuevas técnicas, para la obtención fácil y segura de un inóculo fluído, rico en formas metacíclicas de *S. cruzi*. Esta nueva técnica está basada en el estudio del "Deyecograma" (figs. 1 y 2) en el cual se observa que la orina hialina es copiosa, de frecuencia más acelerada que las otras excretas y con una duración de 16 horas. Teniendo en cuenta estos factores, se procede en la siguiente forma: (1).

- 1) Ingurgitación de un lote de ninfas de cuarto estadio en "curi", con abundantes formas *Schizotrypanum* en la circulación periférica;
- 2) Separación individual de estas ninfas, después de la comida infectante, en dedales de vidrio (0.04×0.02 m.);
- 3) Aguardar la transformación a ninfas de quinto estadio;
- 4) Control de los ejemplares positivos para *S. cruzi* en deyecciones espontáneas;
- 5) Ingurgitación de estas ninfas hasta la completa repleción, en curi normal;
- 6) Fijación con cemento Duco en la parte ensanchada de un mondadientes, por la parte dorsal del abdomen de cada uno de los ejemplares disponibles (fig. 3), número que está en relación con el de animales para experimentar la contaminación;
- 7) Colocación de varios ejemplares de ninfas en el dispositivo individual para colectar esta clase de deyecciones (figs. 4 y 5).

* Profesores de Parasitología de la Universidad Nacional, Facultad de Medicina.

(Recibido para su publicación el 10 de mayo de 1963).

Acostumbramos, para evitar posibles contaminaciones en el manipuleo con ejemplares infectados, manejarlos con pinzas en la tapa de una caja de Petri o sobre amplia superficie de vi-

drio, implementos de fácil limpieza posterior.

Según la observación hecha del deyectograma, sobre la duración de la orina hialina (16 horas) (2) y con el objeto de seleccionar la muestra, desechamos la primera deyección que en muchas ocasiones tiene gran cantidad de sedimento negro de arrastre residual de la comida de sangre anterior. Por lo general, esta deyección es arrojada, inmediatamente termina la repleción del ejemplar, dentro del pequeño recipiente utilizado para alimentar los insectos.

Para fijar los ejemplares a la parte ensanchada del mondadientes, se debe poner poca cantidad de cemento Duco y dejarlo secar ligeramente. Con la mano izquierda se sujeta el ejemplar por medio de pinzas, y con la mano derecha se coloca la parte pegadiza del mondadientes sobre el dorso, teniendo cuidado de dejar libre la extremidad del abdomen y la cara dorsal del tórax (fig. 5); se aguarda muy corto tiempo para asegurar la adhesión; se quitan las pinzas y se invierte rápidamente el ejemplar para observar la completa fijación; con la extremidad libre del mondadientes se perfora el delgado tapón de corcho del recipiente grande (fig. 5), en sitio apropiado para que la extremidad posterior del abdomen de la ninfa quede en el centro del pequeño recipiente interior, en donde se deposita esta clase de orina (fig. 5).

Para evitar el desplazamiento del recipiente pequeño, se fija con plastilina al fondo del recipiente exterior (fig. 6).

Para impedir la evaporación y, por consiguiente, la concentración de compuestos químicos de la muestra, se pone de antemano agua en el espacio comprendido entre los dos recipientes (fig. 5).

Para coleccionar orina hialina, como inóculo, en ocasiones basta sólo una

ninfa; esto depende de la riqueza de formas metacíclicas y del número de animales para experimentación. En muestras para microanálisis hemos empleado doce ninfas que durante nueve horas nos han suministrado 2 c. c. de hialinas puras (fig. 4) (3).

Con el objeto de contaminar animales de experimentación, en el laboratorio, al usar inóculo hialino, se puede prescindir de la inoculación con jeringuilla y en su lugar usar un cuentagotas de punta reducida, con el cual se hace la succión del inóculo para depositar una pequeña gota en la conjuntiva de los animales de experimentación o sobre la piel rasurada y escarificada. Esta contaminación con *S. cruzi*, de animales en el laboratorio, se acerca mucho al mecanismo de transmisión por *Triatominae* en condiciones naturales.

Si se emplea jeringuilla para la inoculación, con inóculo hialino, se elimina totalmente el riesgo de la posible obstrucción de la aguja, como sucede en ocasiones, al emplear las otras excretas pastosas diluídas o contenido intestinal.

Una de las aplicaciones importantes de la técnica para obtener deyecciones hialinas en ninfas de *R. prolixus* infectadas con *S. cruzi*, es la de poder hacer siembras de dichas deyecciones empleando fioles de 125 c. c. (fig. 7-a) con medio de cultivo; para lo cual la ninfa de 5º estadio se fija al tapón de caucho y se pasa por una solución acuosa de fenol al 0.4%, para evitar contaminación externa; antes de pasar el ejemplar a la fiola de cultivo, se coloca en otra fiola estéril hasta que no caiga la solución fenicada. El medio de cultivo que empleamos fue el de Noller; de acuerdo con el deyectograma, es posible, al usar una serie de fioles, relacionar, por lo menos, la caída de deyecciones hialinas y negras para siembra de formas metacíclicas; es de

observar que no en todas las fiolas se evita la contaminación.

Para microanálisis de las deyecciones siguientes a las hialinas: amarillas claras, amarillas oscuras y negras, hemos hecho un dispositivo muy sencillo con el objeto de recogerlas. Consiste en una caja grande de Petri (0.13×0.04 m.), en cuya tapa se colocan porciones distanciadas de plastilina para clavar las ninfas, fijadas a los mondadientes, cuyas deyecciones caen, en copelas, en la parte inferior de la caja (figs. 7-b, c, d). Se colocan varias ninfas; y según el "Deyectograma", se puede hacer girar, a su debido tiempo, la tapa, de manera de poder recoger, con bastante selección, las deyecciones; por lo menos en dos muestras: amarillas y negras.

RESUMEN

Se describe una técnica original para coleccionar, en buenas condiciones, deyecciones hialinas para microanálisis o para inóculo, seleccionando la muestra según el "Deyectograma".

Se dan detalles para la fijación de los ejemplares en el mondadientes y la colocación de éstos en el dispositivo para recoger la muestra.

Se anotan las ventajas del inóculo hialino con otros métodos de infección experimental.

Se anota la posibilidad de hacer cultivos de formas metacíclicas de *S. cruzi*, ampliando el número de experimentos, que en el presente estudio es insuficiente.

Para fines microanalíticos de las excretas pastosas, se describe otro dispositivo para la recolección de las muestras, según el estudio del "Deyectograma", en cuanto a colorido y duración.

SUMMARY

A new original technique for collecting is described, with favorable conditions, hyaline dejections for microscopic analysis or for inoculation, selecting the type according to the "Deyectograma".

Details are given for the placing of the samples on the toothpick and the collection of these in the dispositive for gathering the sample.

The advantages of hyaline inoculation with other methods of experimental infection are noted.

To get micro-analytical pasty excretions another dispositive is described, for the gathering of samples according to the study of "Deyectograma", as far as coloring and duration.

BIBLIOGRAFIA

- (1) DÍAS EMMANUEL. - 1956. *Observações sobre eliminação de dejeções e tempo de succao em alguns triatomíneos sul-americanos*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Fascículo 1. Tomo 54.
- (2) OSORNO MESA ERNESTO, OSORNO MESA HERNANDO Y SCHIMMER HORST. - 1963. *Nuevos aspectos del método de xenodiagnóstico con Rhodnius prolixus*. Rev. Fac. Med. Bogotá. Vol. 31. N^o 2.
- (3) DA COSTA LIMA A. - *Insetos do Brasil*. 2^o tomo. Serie didática. N^o 3. 1940. p. 174.

PRIMER EXPERIMENTO PILOTO

Semanas:

4a.

3a.

2a.

1a.

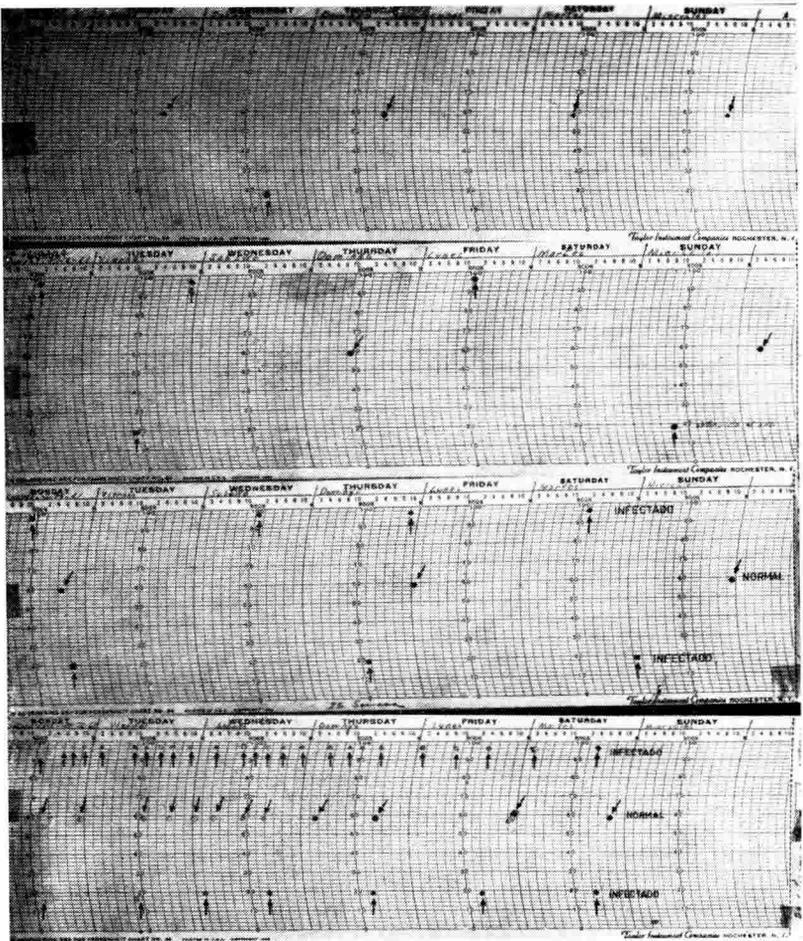


FIGURA 1 - "Deyectograma" de la digestion total de sangre, hasta la transformación en adultos, de tres ninfas de *R. prolixus* de 5o. estado. Se nota un aumento en la frecuencia de las deyecciones en uno de los dos ejemplares infectados con *S. cruzi* durante la primera semana.

SEGUNDO EXPERIMENTO PILOTO

Semanas:

4a.

3a.

2a.

1a.

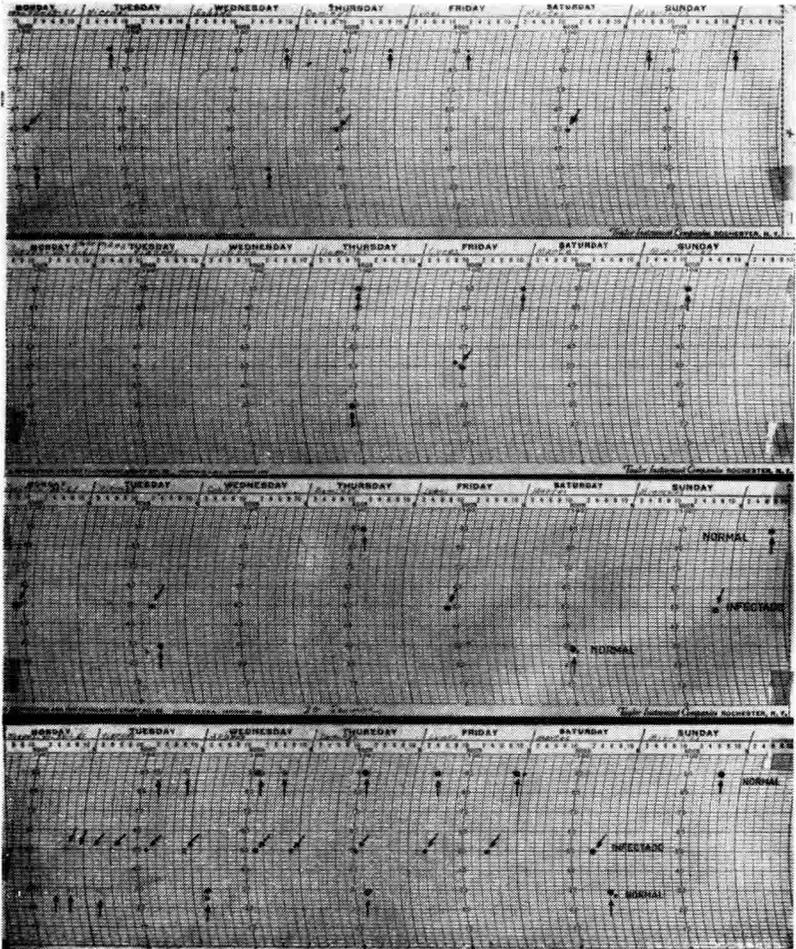


FIGURA 2 - "Deyectograma" de la digestion total de sangre, hasta la transformaci3n en adultos, de tres ninfas de *R. prolixus* de 5o. estadio. Se nota un aumento en la frecuencia de las deyecciones en el ejemplar infectado con *S. cruzi* durante la primera semana.

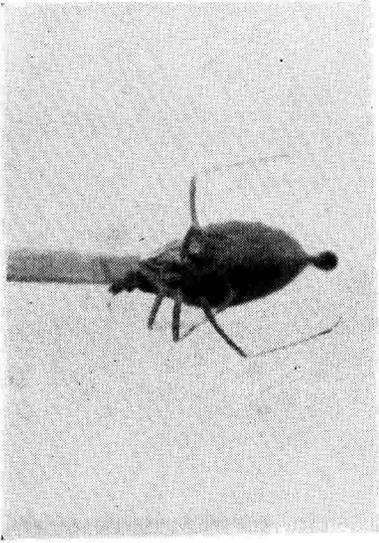


FIGURA 3 — Fijación al mondadientes, de la ninfa de *R. prolixus* por la parte dorsal del abdomen.

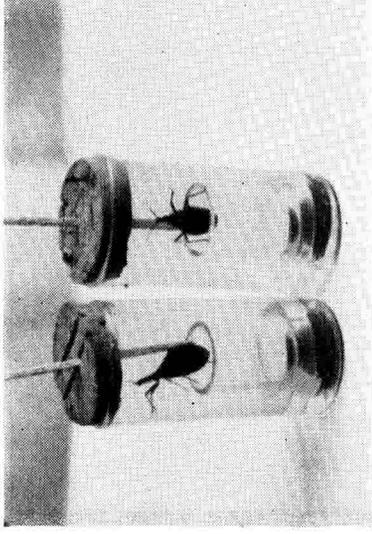


FIGURA 5 — Dispositivo, aumentado para recibir la muestra hialina.

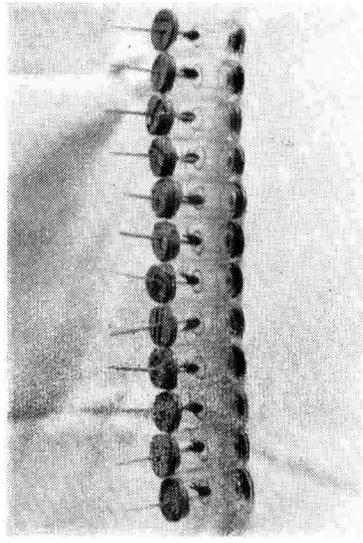


FIGURA 4 — Dispositivo para coleccionar deyecciones hialinas.

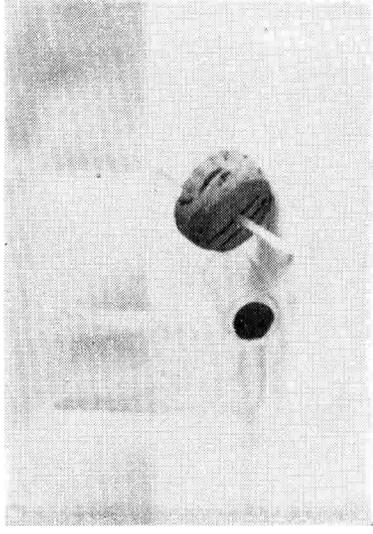
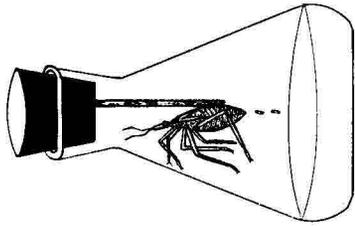
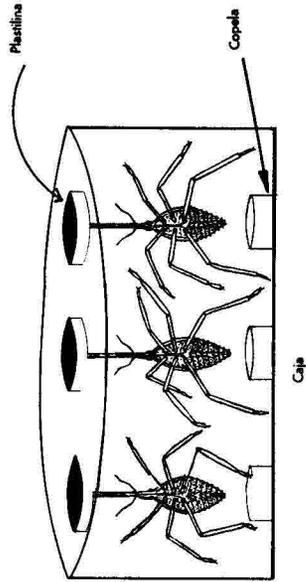


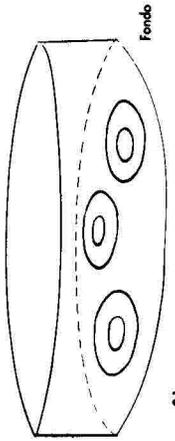
FIGURA 6 — Partes de que se compone el dispositivo para almacenar deyecciones hialinas y sitio en donde se coloca la plastilina para fijar el recipiente pequeño en el fondo del recipiente exterior.



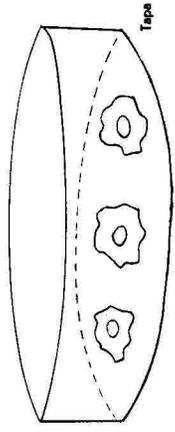
a) Fiole para cultivo de formas metacíclicas



d)



c)



b)