

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA TRIPANOSOMIASIS BOVINA, POR MEDIO DE LA FIJACION DE COMPLEMENTO

Por la doctora

Helia Rodríguez Gómez

INTRODUCCION

Es mi deseo, con el presente trabajo, adiconar un esfuerzo más en el camino del conocimiento de nuestra Patología Tropical, en cuanto a nuestra profesión se refiere. A pesar de ser la Tripanosomiasis una protozosis conocida en el país desde hace años, en la literatura consultada han sido muy pocos los datos hallados acerca de su comprobación, incidencia en las diferentes zonas geográficas, profilaxis, control, etc., sobre nuestro propio medio.

Como en innumerables oportunidades la enfermedad tiene repercusión en la salud del elemento humano, por ser los animales reservorios de parásitos que producen la enfermedad en el hombre, también creo contribuir en el estudio de las Zoonosis, rama de tanta importancia en la lucha intensa y constante que la Salud Pública requiere.

Las pérdidas que ocasiona la Tripanosomiasis son incalculables, y por ello es

difícil determinar datos numéricos en el país, en donde tampoco se tiene una idea exacta de la difusión ni de la importancia que haya alcanzado. Todos los animales que enferman y no son atendidos en forma constante, mueren irremediablemente. En las vacas que están dando leche se pierde el período de lactancia total, y la muerte del ternero ocurre a causa de la enfermedad o por inadecuada alimentación; las que están horras y enfermas abortan, y más tarde mueren. Los novillos de ceba y los toros duran un tiempo largo resistiendo la enfermedad, mostrando día a día desmejoramiento, hasta llegar a un agotamiento total. Cuando se someten a un tratamiento adecuado, se restablecen pronto, pero recidivan con facilidad.

Aprovecho la oportunidad para manifestar mi gratitud a la Escuela de Salud Pública de la Universidad Nacional y al Instituto Zooprofiláctico Colombiano, en donde me fueron facilitados el material de laboratorio y demás elementos indispensables en la elaboración de esta Tesis.

PRIMERA PARTE

REVISION DE LITERATURA

TRIPANOSOMAS

A) DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Los parásitos flagelados son conocidos desde hace poco tiempo. En 1841, el suizo Valentin descubrió un Tripanosoma no patógeno en la sangre de la trucha; en 1843, Gruby halla el rotarium en la rana, también apatógeno. Pasaron cerca de 42 años antes de que se hablara de los tripanosomas patógenos; solamente hasta 1880 Greffeth Evans descubre en la sangre de caballos y camellos del Punjab, atacados de "Surra", un parásito que él tomó por una espiroqueta (Sp. Evansi), enfermedad reconocida después como dominando un área geográfica muy extensa (India-Filipinas), y repartida sobre todo alrededor de las zonas ecuatoriales y tropicales; sin embargo, Pavlov observó la "Surra" en Bulgaria. En 1894, el Mayor Bruce descubre en Africa-Australia el tripanosoma Brucei, agente de la enfermedad localmente denominada "Nagana", la cual fue la primera infección conocida de las transmitidas por la mosca tsetse. En el mismo año descubre Rouget el tripanosoma equiperdum, causante de la Durina en Constantina; como el parásito es raro en la sangre, ha pasado largo tiempo antes de encontrar su significación real.

Kelmatian descubrió en 1901 el agente causal del "Mal de Caderas" en Paraguay: tripanosoma equinum. Y, en 1910, Darlong describió en las mulas el tripanosoma hippicum, el cual, en efecto, produce es una "Surra".

En 1902 fue descrito el primer caso de tripanosomiasis humana por *T. gambiense*, el cual fue hallado en la sangre y en el líquido cefalo-raquídeo. El *T. Vivax* fue descubierto por Ziemann en 1902; es el mismo denominado Cazalbouï, y se caracteriza por no infectar ni al perro ni a los animales de laboratorio.

El brasileño Carlos Chagas dio a conocer el agente de una enfermedad del hombre y varios animales (perro, roedores salvajes, etc.) en 1908; se trata de un tripanosoma denominado cruzi, causante de la tripanosomiasis americana humana. Hay un gran número de tripanosomas no patógenos, fácilmente cultivables, los cuales constantemente producen confusiones; generalmente no son transmisibles al hombre, pero pueden constituirse en agentes patógenos por pases en especies diferentes como vertebrados de sangre fría y aves.

En cuanto a la distribución geográfica mundial, las tripanosomiasis son comunes, especialmente en las zonas tropicales: Africa, todos los territorios; al norte la Durina y todas las variedades del *T. Evansi*; en el Occidente el vivax, brucei, evansi, soudanense, congolense; en el Congo Belga el congolense, vivax y brucei; en el Oriente: brucei, congolense, evansi y vivax.

Uganda: congolense y brucei.

Tanganyka: vivax, congolense y brucei.

Asia Meridional: equiperdum.

Turquía: "Surra".

Antillas: vivax y cazalbouï.

América del Norte: Canadá, Durina.

América del Sur: Todas las variedades del Tripanosoma evansi (equinum, hippicum, venezuelense), vivax; cruzi en el hombre.

B) MORFOLOGIA Y CLASIFICACION

Rama: Protozoa.

Subrama: Plasmodroma.

Clase: Mastigophora.

Orden: Protomonadina.

Familia: Tripanosomidae.

Géneros: Tripanosoma, Crithidia, Leptomona y Leishmania.

Estos protozoarios, pertenecientes a la clase mastigófora, tienen el cuerpo limitado por una pared fija o periplasto, provistos de órganos locomotores y prehensores: flagelos y en ocasiones membrana ondulante. Formas ovoides, piriformes o fusiformes. En el citoplasma presentan: El núcleo con nucleolo y membrana nuclear; el blefaroplasto, constituido por corpúsculos cromáticos libres o sobre la membrana nuclear; de allí parte un axonema que a su vez se continúa con los flagelos; el cuerpo parabasal es una masa cromática; el cinetonúcleo o cinetoplasto: la unión del cuerpo parabasal y del blefaroplasto, como se presenta en algunos flagelados; el Axostilo es una pieza rígida localizada desde el blefaroplasto hasta el extremo posterior del cuerpo.

Leishmania: Cinetonúcleo delante del núcleo, flagelo reducido al rhizoplasto.

Leptomona: Cinetonúcleo delante del núcleo, cerca al borde anterior; flagelo prolongado hacia adelante del cuerpo; con membrana ondulante.

Crithidia: Cinetonúcleo delante del núcleo, cerca a éste; flagelo prolongado adelante del cuerpo y membrana ondulante.

Tripanosoma: Cinetonúcleo detrás del núcleo; flagelo prolongado delante del cuerpo, con membrana ondulante.

Estos protozoarios, de cuerpo fusiforme, tienen un núcleo grande y ordinariamente central. Los tres primeros géneros pueden constituir formas inmaduras del tripanosoma y se localizan principalmente en huéspedes intermediarios invertebrados. El Tripanosoma se encuentra en el plasma sanguíneo de los hués-

pedes definitivos o en el intestino de los intermediarios.

En forma general, la reproducción se efectúa por división binaria. Pueden, además, ser patógenos o apatógenos.

Apatógenos: Cinetonúcleo no terminal, extremidad posterior delgada y puntada, fáciles de cultivar; se transmiten por las deyecciones: lewisi, melophagium, theileri.

Patógenos: Cinetonúcleo terminal o subterminal. Difíciles de cultivar: Evansi y equiperdum: extremidad posterior ligeramente redondeada; transmisión mecánica o por contacto y sin evolución en el huésped intermediario. Aquellos que tienen la extremidad posterior también redondeada, pero cuya transmisión se hace por picadura, luego de evolucionar en el huésped intermediario, están clasificados en dos grupos:

Monomorfos: Vivax y congolense: El primero con flagelo y desarrollo totalmente en la trompa del intermediario; el segundo sin flagelo y desarrollo en la trompa y estómago del intermediario.

Polimorfos: Brucei; formas cortas numerosas sin flagelo, desarrollo en el estómago y glándulas salivares del intermediario.

Género *Scizotripanium*: Tripanosoma cruzi.

COMPROBACION EN COLOMBIA:

Lewisi: Huésped definitivo: pequeños mamíferos y rumiantes.

Huésped intermediario: Artrópodos, los cuales lo transmiten por las deyecciones.

Melophagium: Huésped definitivo: oveja, sangre periférica.

Huésped intermediario: *Melophagus ovinus*.

En todos los climas.

Theileri: Huésped definitivo: Bovinos.

Huésped intermediario: Tábanos.

Evansi: Huésped definitivo: Caballo, mula, asno; bovinos, cerdo, perro.

Huésped intermediario: Tábanos, *Stomoxys*, liperosia (al parecer en Colombia).

Vivax: Huésped definitivo: Bovinos, ovejas y cabras.

Huésped intermediario: Tábanos, *Stomoxys*, *Culex*, *Aedes* (al parecer), Climas cálidos del país.

Equiperdum: Huésped definitivo: Equinos y asnales (ocasionalmente). Su presencia no se ha comprobado oficialmente en el país; sin embargo, parece que se han presentado casos en regiones cálidas, especialmente en la Guajira, según datos de algunos profesionales que han tenido la oportunidad de apreciar la enfermedad clínicamente.

Evansi: De frecuente presentación en nuestro país en climas cálidos y medios; es sinónimo de los tripanosomas *Hippicum*, *equinum* y *venezuelense*.

DIVISION:

Los tripanosomas patógenos se multiplican en la sangre, con excepción del *Schizotripanium*, por división del kinetoplasto y luego del núcleo; se forma un segundo axonema y después viene la división de la membrana ondulante, y en consecuencia el cuerpo se divide también de delante hacia atrás. Las dos mitades, la mayoría de las veces iguales, perduran un cierto tiempo adheridas por la parte posterior; luego de rápida división, se obtienen unos cuerpos en rosetones. La multiplicación permanente y rápida de los tripanosomas muy patógenos, no les permite llegar al estado adulto con myonemas bien diferenciados como el *T. rotarium*. La evolución del pa-

rásito depende en gran parte de su especie:

Salivaria pura: El vivax; los parásitos se fijan por la extremidad del flagelo al labro por su cara interna, el cinetónúcleo delante del núcleo; estas crithidias se separan por sí mismas, pero no son infestantes. A partir del sexto hasta el vigésimo quinto día aparecen en la hipofaringe formas metacíclicas con el núcleo delante del kinetoplasto.

En la trompa y en el intestino: La infección en las moscas progresa hacia el proventrículo y la faringe; de 10 a 15 días, la fase interna del labro lleva crithidias gruesas, y a los 15 a 20 días se ven aparecer tripanosomas metacíclicos en la faringe, sin flagelo libre; jamás se presenta infección en las glándulas salivares: tripanosomas *Dimorfo* y *Pecandi*.

Intestino y glándulas salivares: *Gambiense*, *Rhodesiense* y *Brucei*. De comienzo similar al anterior, pero el labro no lleva crithidias; éstas se forman en las glándulas salivares, de donde la saliva las lleva hasta la hipofaringe, en donde toman la forma metacíclica; infestantes a los 20 días.

La mosca hipoboscídica *Ornitoria Avicularia* es un vector del tripanosoma *Avium* en Gran Bretaña¹³; los tripanosomas metacíclicos se desarrollan en su intestino posterior, y cuando una mosca infectada (come), ellos penetran en las membranas de la cavidad bucal y (o) el esófago, y contaminan al ave; este parásito dejó de desarrollarse en ninfas de *Rodnius Prolixus* y en adultos de *Culex Molestus*; no flagelados fueron encontrados en un ácaro de un ave infectada.

Los autores describieron el ciclo vital del tripanosoma *Avium* en los dos huéspedes: así, pues, en la mosca sufre un desarrollo cíclico en el canal alimenticio; la multiplicación ocurre en el estado de

crithidia; finalmente, aparecen crithidias y leptomonas piriformes en el tramo final del intestino del vector y cambian a metacíclicos y parásitos infectivos. Después, penetrando las mucosas del ave, los tripanosomas invaden probablemente el sistema linfático y allí se desarrollan formas largas vistas en la sangre 18 a 24 horas más tarde. Los parásitos persisten en sus huéspedes naturales durante el invierno en la médula espinal, y en primavera reaparecen en la sangre periférica.

C) CARACTERISTICAS

Tinción: Para un diagnóstico rápido, la eosina fenicada es suficiente. Luégo de elaborar el frotis, se procede a la fijación, que puede hacerse de la siguiente manera: Alcohol etílico absoluto durante 5 a 10 minutos, o hasta la evaporación; alcohol metílico absoluto; alcohol éter; vapores de ácido ósmico durante 10 a 15 segundos. Después se colorea por el método de Laveran, que es otro de los sistemas ensayados:

Agua destilada, 10 c. c.

Sol. acuosa de eosina, 4 c. c. (al 1 por 1.000).

Azul de Borrel, 1 c. c.

El colorante se deja actuar durante 20 minutos; lavar; diferenciar 10 a 20 minutos con tanino al 5%; lavar y secar con papel de filtro.

Fórmula modificada que recomienda el colorante:

Agua destilada, 30 c. c.

Sol. acuosa de eosina, 2 c. c.

Azul de Borrel, 1 c. c.

Colorear durante 15 minutos; lavar y secar con papel de filtro; no es necesario diferenciar.

Método de Giemsa: Sobre el frotis fijado, extender la sol. de Giemsa al 1 por 10; colorear una hora. Para las coloraciones lentas, diluir el colorante 1:20. En

caso de subcoloración, diferenciar rápidamente con tanino-naranja.

Método Panóptico: Sobre el frotis no fijado, extender 15 gotas de sol. de May-Grunwald; cubrir, para impedir la evaporación; luégo de tres minutos, agregar 15 gotas de agua destilada, dejar un minuto y después reemplazar este colorante sin lavar por la sol. de Giemsa al 1/10. Colorear durante una hora.

Método de Leishman: Depositar, sobre un frotis no fijado, 10 gotas de colorante de Leishman; cubrir; después de un minuto, agregar 20 gotas de agua destilada; dejar colorear 10 a 30 minutos y lavar; secar.

MacLennan da una técnica de coloración¹²⁰ para la identificación de tripanosomas en frotis gruesos. El frotis, una vez hecho, se protege de moscas, polvo, luz solar; se sumerge por un segundo en una sol. acuosa de azul de metileno al 0.5%; se coloca en agua corriente hasta la deshemoglobinización completa, la cual puede tomar 30 minutos o más. Se colorea luégo con Giemsa diluido 1:10 en agua destilada buferada con pH de 7.2. Se diferencia por lavado momentáneo en agua corriente y se pone a secar en un soporte vertical o inclinado. Fairbairn y col.⁵⁴ sostienen que los tripanosomas están distribuidos al azar en relación con los eritrocitos, y que su posición no está enteramente gobernada por la acción del vidrio en los frotis sanguíneos.

ESTRUCTURA Y OTRAS PROPIEDADES

Tripanosoma evansi: Microfotografías revelan que el periplasto contiene fibrillas longitudinales paralelas muy juntas¹⁰⁵. El flagelo consiste en fibrillas isodiamétricas paralelas, de las cuales se han contado hasta nueve, y una envoltura citoplasmática. Como estos hallazgos corresponden esencialmente con los de

Kleinschmidt y Kinder, se concluyó que el tripanosoma evansi patógeno y el lewisi no patógeno, son similares estructuralmente. Las otras cepas del flagelo muestran estriaciones cruzadas con espacios de 0.05 micras, posiblemente indicativos de contractilidad; cerca a la base, el flagelo pasa a través de un anillo que se supone refuerza la porción correspondiente del periplasto.

El microscopio electrónico y la fase de contraste revelaron ¹⁴⁶ una estructura flagelar, formando el borde interior de la membrana ondulante del tripanosoma.

La proporción de formas cortas de una cepa de *T. evansi*, mantenida en animales de laboratorio, varió de 0 a 61% ⁸⁵ y se considera que la única diferencia entre los tripanosomas brucei y evansi consiste en la inconstancia del polimorfismo en el *T. evansi*. Hoare y col. realizaron un trabajo previo en el 54 ⁸⁷ sobre la presentación espontánea y prolongada manutención de cepas de *T. evansi* desprovistas de kinetoplasto; este fue considerado como un elemento protoplasmático y se hizo hincapié sobre anteriores observaciones acerca de su pérdida.

Se estudiaron 6 cepas akinetoplásticas, de las cuales dos se sometieron a observación durante 17 años. En estos casos la condición aberrante tuvo que llegar a ser fijada permanentemente como un carácter hereditario. Otra cepa, primero exhibió considerable fluctuación en el número de formas akinetoplásticas, 1 a 70%, pero subsecuentemente regresó al estado normal. La perpetuación de la condición akinetoplástica parece ser debida al fracaso de la división del kinetoplasto, con el resultado de que los parásitos de este modo incapacitados se dividen irregularmente, produciendo cepas akinetoplásticas, las cuales continúan reproduciéndose. En estas condiciones, la

supremacía puede ser unas veces de las cepas fluctuantes, en las cuales los tripanosomas normales y los akinetoplásticos compiten por sobrevivir; y otras veces de las cepas totalmente akinetoplásticas. La pérdida del kinetoplasto es comparable a la de los plástidos en los fitoflagelados. Hoare consideró este fenómeno como una mutación determinada por plastógenos para así los tripanosomas mutantes aparecer repentinamente, reproducirse y producir una nueva raza. Por otra parte, otras veces la pérdida del kinetoplasto no surge "de novo". El autor sugiere que el tripanosoma *Equinum* se originó de una cepa akinetoplástica del *T. Evansi*, producida por dicha mutación. Sin embargo, ya en el año 49, Hoare había tratado el tema de los posibles caminos por los cuales el tripanosoma *Evansi* perdía en ocasiones el kinetoplasto ⁸⁰: como luego de la aplicación de drogas, por la inoculación de una cepa akinetoplástica; las condiciones son semejantes a una mutación, y la cepa permanece por largos períodos. Además, los autores dan razones no válidas por las cuales el *T. Venezuelense* y el *Hippicum* podrían estar específicamente separados del *T. Evansi*; no así el *T. Equinum*.

Los estudios de Kleinschmidt y S. en el 51, sobre las más finas estructuras de los tripanosomas ¹⁰³, fueron hechos con el microscopio electrónico y con el ordinario; se emplearon métodos especiales de deshidratación, fijación y montaje. Se logró demostrar que el tegumento de los tripanosomas tiene una estructura fibrilar; las fibrillas se desintegran en plaquetas exagonales, las cuales son probablemente la menor estructura elemental. La célula de la superficie es bazofílica, lo cual puede explicar el hecho de que los flagelados permanezcan móviles solamente en un medio alcalino o neutro.

Según el mismo autor, los flagelos del T. Brucei, al microscopio electrónico, consisten en muchísimas fibrillas de mediano grosor, empalmadas como un cable. Están cubiertas por un repliegue del periplasto y presentan también membrana ondulante. Estas fibrillas son más resistentes a la desecación en el proceso de preparación que los elementos fibrilares del integumento. Los flagelos no se originan del blefaroplasto ni del gránulo basal.

En un estudio del tripanosoma Cruzi con el microscopio electrónico¹²⁷, tanto de crithidias de cultivos en agar sangre, como de adultos de cultivos tisulares, se pudo observar: la estructura interna, en lugar de estriaciones, tiene colocaciones paralelas o en espiral en el citoplasma, probablemente de naturaleza proteínica, siendo digeridos por la tripsina. También se evidenciaron en el cuerpo estructuras tipo esferas, y el total del cuerpo envuelto en una fina cápsula; el flagelo formado por un axonema consistente.

Baker y col. hicieron una descripción del tripanosoma Avium¹³: Fusiforme, de longitud promedio de 42.2 a 55 micras, sin el flagelo; porción aflagelar ahusada. Su vector es la mosca hippoboscídica Omitoria Avicularia; los tripanosomas metacíclicos se desarrollan en su intestino posterior.

En un estudio comparativo sobre las inclusiones protoplasmáticas en diferentes especies de tripanosomas y con la intención de la clarificación de la presencia y significado de los gránulos de volutina¹³¹, se examinaron 15 especies de tripanosomas: microscópicamente por técnica de contraste, dando especial importancia a la morfología e historia de las inclusiones protoplasmáticas. El autor sugirió que la formación de inclusiones en los tripanosomas circulantes de la sangre

de mamíferos, es un fenómeno constante estrechamente relacionado en ocasiones con la reacción inmunitaria del huésped. Otra evidencia sugiere que esta relación no es fortuita, ya que en el Lewisi y en el Rhodiense aparecen las inclusiones guardando una relación con el polimorfismo.

Cuerpos de inclusión refráctiles en los tripanosomas, visibles por fase de contraste microscópica, fueron denominados "gránulos de volutina", si aparecían en forma natural, y "gránulos quimioterápicos", si habían sido causados por la acción de drogas¹³².

La conclusión sacada por Grant y col.⁷⁰ de sus investigaciones acerca del Sistema Respiratorio en la familia Tripanosomidae es la siguiente: están siempre presentes dos tipos de sistemas de transporte de Hidrógeno, puesto que algunas especies no tienen pigmentos citocrómicos detectables y su respiración es insensible a la Cianida, Azida, y al monóxido de Carbono. Estas diferencias pueden ser observadas no solamente entre diferentes especies de las que infectan la sangre de los vertebrados, sino también entre diferentes formas de una misma cepa cuyo ciclo de vida comprende etapas en invertebrados y vertebrados. También se trata de la naturaleza y distribución de las enzimas respiratorias y sistemas enzimáticos presentes en fracciones subcelulares obtenidas de algunos de estos protozoos.

La distribución de las formas sanguíneas de tripanosomas Evansi, Equinum, Rhodiense y otros, fue idéntica cuando la coagulación de la sangre que sirve como medio respiratorio, fue prevenida por citrato, heparina o desfibrinación. La intensidad respiratoria fue inversamente proporcional a la densidad usada. La respiración de algunas especies se estimuló por concentraciones inhibitorias de Cya-

nide; a su vez aumentó el consumo de Glucosa. Todas las especies estudiadas fueron típicamente aerobias-fermentadoras, consumiendo 16 a 26% del oxígeno requerido para la completa oxidación de la glucosa utilizada.

Fairbairn y col.⁵¹ mantienen la hipótesis de que los tripanosomas pueden ser considerados como cuerpos con una carga eléctrica que por lo tanto obedecen las leyes que gobiernan esta clase de cuerpos; esto es discutible. De las observaciones que vienen al caso sobre las cargas eléctricas, el efecto de carga sobre la incidencia, sobre la producción de anticuerpos, adhesión de los glóbulos rojos y otras reacciones serológicas; susceptibilidad a los arsenicales, adaptación y herencia; de todas estas consideraciones se concluye que la conducta de los tripanosomas polimorfos obedece las leyes que dominan los cuerpos cargados eléctricamente y que sus propiedades son mantenidas en forma natural por singamia, lo cual está asociado con la transmisión clínica. Los pases por inoculación producen unas cepas aberrantes con las cuales es arriesgado dar conclusiones básicas acerca del comportamiento natural de los organismos; en cepas de esta clase se han presentado tales alteraciones, que han influido notoriamente en la capacidad de cambiar de carga. Ahora: de las observaciones en los frotis, se concluyó que los tripanosomas no están distribuidos al azar, pero la atracción o repulsión exhibidas por la carga negativa de los corpúsculos sanguíneos puede ser supuesta en cuerpos que pueden ser cargados positiva o negativamente, y para más detalles, las estimaciones de los tripanosomas cargados negativa o positivamente en una muestra de sangre, concuerdan estrechamente con los datos dados por Brown, técnica de Brown y Hoares. Algunas es-

pecies de tripanosomas mostraron diferentes formas cargadas positiva o negativamente de manera variable, siendo generalmente más larga la variante positiva.

Se describió un proceso de singamia en el cual se demuestra cómo dos parásitos aproximados y entrelazados con sus centros o ejes en contacto, y las extremidades primero libres y más tarde fusionadas, forman un cuerpo fusiforme, el cual, después de un tiempo, se divide por su centro, produciendo dos tripanosomas. También se observó la fusión cabeza a cabeza, anotada como un proceso de división aberrante o de *aglomeración*; se aceptó como singamia por el hecho de los cambios nucleares observados. Fue descubierto que la singamia puede ser inducida en los tripanosomas de la sangre por varios cambios súbitos y marcados en el medio ambiente, como es la suspensión en Ringer-Glucosa; de la evidencia experimental se deduce que la singamia se manifiesta probablemente entre los parásitos de carga opuesta. Tripanosomas en singamia fueron vistos frecuentemente en gránulos sobresalientes, pero nunca fueron penetrados por otros tripanosomas y no son aceptados como gametos.

Como los dos tipos de tripanosomas metacíclicos producen tres formas sanguíneas, se sugiere que su estructura genética puede ser anotada como AA y A'A', mientras que las formas sanguíneas son AA, A'A' y AA'; como la forma larga es la única que se reproduce fácilmente por fisión, las formas corta e intermedia, por ahora provenientes de ella por un proceso de singamia, se supone deben ser las formas heterogéneas AA'. Esto puede explicar la dificultad de establecer una infección con tripanosomas aislados como un organismo sencillo o algunas de las

otras formas que serían capaces de infectar. Se repitió el trabajo de Vanderplank's sobre la estructura de los cromosomas del *T. Rhodesiense*, y se encontró que todas las formas tienen 6 cromosomas.

Según Hornby y col.⁷⁷, la estructura y distribución de los parásitos en un frotis delgado de sangre está relacionado con sus cargas eléctricas. Los parásitos cargados positivamente entran en contacto con los eritrocitos, mientras que los cargados negativamente son rechazados y no tocan las células rojas. Siendo así, el mínimo de tiempo requerido para hacer un frotis y las fuerzas mecánicas a las cuales los elementos sanguíneos son sometidos cuando la sangre se extiende, tienen que tenerse en cuenta. El autor encontró extraño que los tripanosomas no se adherían a las células rojas en la sangre circulante dentro de un intervalo de uno o dos segundos, y bajo condiciones de disturbios mecánicos violentos serían capaces de orientarse ellos mismos independientemente de dichos disturbios.

CONSERVACION:

En refrigeración: Walker¹⁰⁹ propuso la conservación de los tripanosomas a baja temperatura con el dimetil-sulfóxido combinado con el glicerol, en un porcentaje del 5 y 10%, respectivamente; los dos fueron igualmente efectivos. Como el primero tiene una más baja toxicidad, se sugirió la alternación con el glicerol.

*En congelación*¹³⁷: Se sangran ratones infectados cuando los parásitos son numerosos en la sangre periférica; se recoge la sangre en Alsever, con 10% de suero de caballo y se centrifuga para acelerar la sedimentación de los glóbulos rojos aglutinados por el suero. El sobrenadante que contiene los parásitos se mezcla 1 a 1 con sol. de Alsever con 10% de glicerol; luego se envasan de a 0.5 c. c., se

sellan y las preparaciones están listas para congelar. Se colocan los tubos en un recipiente con alcohol absoluto a la temperatura del ambiente, y se adiciona nieve carbónica con el fin de enfriar a dos grados por minuto hasta la temperatura de 30 grados C; y luego a 5 grados por minuto, hasta 79 grados C. El recipiente se guarda a su vez en una caja aislada con bloques de anhídrido carbónico. Todas las cepas conservadas en esta forma conservaron la motilidad y la patogenicidad y mantuvieron sus características biológicas después de unos diez meses de almacenamiento.

El *T. Evansi* sobrevivió en sangre de caballo de 22 a 48 horas.

En sangre de buey, de 14 a 18 horas.

En sangre de curí, de 8 a 18 horas.

En sangre de búfalo, de 20 a 24 horas.

En hígado de curí, de 10 a 14 horas.

En hígado de caballo, de 6 a 12 horas.

En bazo de curí, de 8 a 18 horas.

En bazo de caballo, de 6 a 8 horas.

En músculo de curí, de 14 a 18 horas.

En músculo de caballo sobrevivió de 8 a 12 horas.

A temperaturas de 10 o 5 grados, y 0 a 2 grados C, sobrevivió en músculo de cerdo, 22 a 24 horas; y de curí 20 a 24 horas.

De a 4 a 12 grados sobrevivió en hígado de caballo, 24 a 54 horas. En bazo, 20 a 54 horas. En músculo, 30 a 66 horas. Músculo de cerdo, 22 a 76 horas, y de curí 28 a 76 horas.

Kraneveld y col.¹⁰⁴ observaron que sangre de bovinos afectados de aftosa, recogida, citratada y carbolizada para usarla en inmunización, contenía tripanosoma *Evansi* después de 6 horas de almacenamiento; esto hizo pensar que el fenol no había penetrado aún a la sangre en este momento. Tratan también de la po-

sibilidad de transmitir la Surra por intermedio de la sangre, como en este caso.

CULTIVOS:

Numerosos medios de cultivo artificiales han sido ensayados e ideados, con el objeto de lograr el crecimiento y reproducción de las diferentes cepas de tripanosomas; entre ellos figuran:

Medio N.N.N. (Novy, McNeal y Nicolle):

Agar	14 grs.
Cloruro de sodio	6 grs.
Agua destilada	900 c.c.

Se adiciona sangre de conejo desfibrinada estéril luego de versado en tubos; este medio fue dado a conocer en 1904.

El medio de Gray y Tulloch es el mismo N.N.N., pero adicionándole sangre desfibrinada de perro en lugar de la de conejo.

Medio Bonnaci:

Peptona	3 grs.
Cloruro de sodio	1 gr.
Agar	2 grs.
Caldo Bovino	200 c.c.
Glucosa	2 grs.
Sangre de curí	10 c.c.

pH 7.2-7.4. Este medio es de 1934.

Medio Kelsner, ideado en 1936:

Bacto-peptona Difco	12.5 grs.
Cloruro de sodio	3.5 grs.
Agar	5 grs.
Bacto Beef deshidratado	25 grs.
Agua destilada	500 c.c.
Sol. de Dextrosa al 1% estéril	0.25 c.c.
Sangre de curí estéril y desfibrinada	0.25 c.c.

Los dos últimos elementos fueron adicionados por tubo.

Noller cultivó sobre Caldo Peptonado al 10%, enriquecido con glucosa y agar.

En tejidos: Ensayaron el cultivo de tripanosomas Rhodesiense, Brucei, Equiperdum, Evansi e Hippicum, Longey y col. en 1939; no obtuvieron resultados satisfactorios utilizando tejidos vivos, de manera similar a los que se emplean para el cultivo de algunos virus.

Se obtuvo larga sobrevivencia de algunas clases de tejidos de pupas jóvenes de *Glossina palpalis* en un medio que contenía sales, azúcares, hidrolizado de caseína¹⁷⁹, de lacto-albúmina, suero de oveja y un extracto de pupa de glossina. Se observó división mitótica aun después de 26 días in vitro. En estos cultivos fue establecido el tripanosoma *Vivax*, por inoculación de preparaciones de tracto alimenticio y glándulas salivares con tripanosomas de una oveja con una larga y constante infección, y por incubación de los cultivos a 30-32 grados. Se procedió luego a infectar dos ovejas con dos líneas diferentes de cultivo de tripanosoma *Vivax*; una después de 39 días, y otra después de 16; ambos mostraron parásitos excepcionalmente activos después de 19 horas, a 38 grados C; no todos resistieron bien este tratamiento. En los cultivos infectivos de tripanosoma *Vivax* hubo formas morfológicamente semejantes a los tripanosomas metacíclicos, ciertos cambios progresivos en la morfología también se pusieron de manifiesto.

Trager y col.¹⁷⁹ lograron cultivos continuos de tripanosoma *Vivax*, Congolense y Brucei, mantenidos en cultivos de canal alimenticio y glándulas salivares de glossina. Los de tripanosoma *Vivax*, solamente se obtuvieron por inoculación de sangre de oveja con infección crónica. a cultivos de tejidos de dos días, sometidos

dos a incubación a 30-32 grados C. Fue-
ron efectuadas dos transmisiones sucesi-
vas de cultivos a ovejas, pero como las
infecciones desarrolladas fueron muy le-
ves, se cree posible la inmunización fren-
te al parásito por inoculación de tejidos
atenuados.

En embrión de pollo: Método de Lon-
gley, Clausen y Tatum; huevos fértiles
incubados durante 8 a 10 días; se com-
prueba al ovoscopio el sitio de localiza-
ción del embrión, y con una aguja estéril
se hacen dos agujeros: uno que coincida
con la cámara de aire y otro con el em-
brión, luego de haber desinfectado con
yodo y alcohol. Se inoculan más o menos
0.5 c. c. del material a cada huevo dentro
de la cavidad alantoidea; luego los orifi-
cios se cubren con cera fundida o para-
fina y se incuban a 37 grados. La infec-
ción que se manifiesta fuertemente en la
sangre del embrión, lo mata en el tran-
curso de cinco días. Los autores afirman
que los tripanosomas pueden ser conser-
vados por pases sucesivos en embriones,
lo cual fue confirmado por Chabaud en
1939.

*Método de Van Roogen y Rhode en
1940:* Es un sistema primero aplicado al
cultivo de virus y que luego se ensayó
con protozoarios. Se observa al ovoscopio
el sitio y grado de germinación del em-
brión, el cual apareció con una densa zo-
na central y una transparente inmediata-
mente adyacente; se rota luego ante la
luz hasta que la zona clara ocupe la mi-
tad de la cáscara, y se marca con un lápiz,
lo mismo que la cámara de aire. El hue-
vo es luego lavado y estregado con agua
tibia jabonosa (a 40 grados C) con 2%
de fenol. Inmediatamente antes de la
inoculación, la superficie del huevo es
nuevamente esterilizada con alcohol con
4% de tintura de yodo. El inóculo no
debe excederse de 0.05 c. c. en cantidad

y la aguja en forma vertical no debe en-
trar más de 3 mms., para no penetrar la
membrana corio-alantoidea; también pue-
de inocularse en la cámara de aire e in-
cubar a 37-39 grados C.

Ganapati⁷¹ hizo inoculaciones en la
membrana corio-alantoidea del embrión
de pollo de 14 días, con formas culturales
de tripanosoma Cruzi o sangre de rato-
nes infectados, los cuales presentaron al
tercer día de la infección todas las formas
del parásito. En toda el área inoculada
se observaron granulaciones blanquecinas
opacas, y secciones de las lesiones reve-
laron masa quística específica de estados
de *Leishmania intracelular de T. Cruzi*,
rodeada por engrosamiento de tejido ec-
todérmico. Se observaron crithidias en
las secciones de la membrana, cinco días
después de la inoculación, y tripanoso-
mas libres extracelulares en la sangre de
los embriones después de un período si-
milar. Ninguno de los embriones inocu-
lados sobrevivió mucho después de la in-
cubación.

En 1949, Séneca y col. ensayaron la
purificación de cultivos de hemoflagela-
dos con antibióticos¹⁰⁰; luego de una se-
rie de experiencias, concluyeron que ni la
penicilina, ni la estreptomycinina, ni una
combinación de las dos, tienen ningún
efecto sobre la vitalidad e intensidad de
crecimiento de la *Leishmania Donovanii*
ni del tripanosoma Cruzi. Ellos agregaron
una combinación de los dos antibióticos
en 5 c. c. de sol. salina, y los cultivos
nunca se contaminaron; esta técnica pue-
de tenerse en cuenta para la purificación
de cultivos de hemoflagelados.

Weinman enfatizó la superioridad del
método cultural en la detección de los
tripanosomas; fue posible restablecer la
infectividad a cultivos de tripanosomas
Rhodesiense, los cuales habían sido man-
tenidos en un medio de aislamiento por

tres pases durante 30 días, por subinoculación en dicho medio enriquecido con trehalosa. Todos los ratones inoculados llegaron a infectarse, mientras que los cultivos de control sin trehalosa siempre fueron no infectivos.

D) METABOLISMO

En este aparte es mi intención poner de manifiesto algunos estudios y consideraciones acerca de la actividad metabólica de distintas especies de tripanosomas, tanto en cuanto a su acción sobre el organismo vivo parasitado, como frente a sustancias de diferente naturaleza química.

Experimentos relativos al metabolismo activo del tripanosoma *Evansi* en sangre de ratón diluida con sol. Buffer isotónica, adicionada de glucosa, tuvieron los resultados siguientes:

1. Estos parásitos metabolizan la glucosa en forma más importante que el ácido pirúvico, aunque una pequeña cantidad de este producto final es probablemente utilizado mucho más tarde por descarboxilación.

2. El metabolismo intermedio sigue el típico esquema de Embden-Meyerhoff Parmas, característico del metabolismo del músculo y las levaduras.

3. Algunos de los factores nutricionales pueden ser obtenidos del plasma del huésped.

4. Los tripanosomas llegan a ser capaces de utilizar el ácido láctico de la sangre del huésped, probablemente por conversión a ácido pirúvico.

5. Los efectos de los tripanocidas indican que los arsenicales trivalentes inhiben la reacción de la hexolinasa en los tripanosomas; y que los pentavalentes son inactivos, excepto cuando son reducidos al estado trivalente; ya que proporcionalmente al número de diamidinas,

inhiben parcialmente el sistema de dehidrogenasas, y esas diamidinas aromáticas (stilbamidina), probablemente inhiben la descarboxilación del ácido pirúvico.

Harvey y col.⁸³ afirman que el tripanosoma *Hippicum* es semejante al *Evansi* y al *Equiperdum* en cuanto a su metabolismo; la glucosa y el glicerol fueron oxidados cuantitativamente hacia ácido pirúvico por el tripanosoma *Hippicum*; la glucosa anaeróbica fue convertida en glicerol y ácido pirúvico. El análisis fraccionado de los intermedios fosforados indicó que los compuestos fosforados orgánicos predominantes eran triosas-fosfatos, glicero-fosfatos y glucosa-6-fosfato. La presencia de hexoquinasas fue notada por un alza apreciable del oxígeno; y análisis específicos enzimáticos confirmaron también la presencia de adenosinetri-fosfatasa, adolasa, triosa-fosfato-dehidrogenasa. Con óxido-reducción: glicerol y glicero-fosfato-dehidrogenasa, y una fosfatasa alcalina. Los tripanosomas también fueron probados para investigación de lactic-dehidrogenasa, citocromo-oxidasa, succinil-dehidrogenasa, y malic-dehidrogenasa, pero ninguna de estas enzimas pudo demostrarse por los diferentes métodos usados. La actividad de la catalasa fue baja. No hubo en realidad diferencias significativas entre una cepa oxofenarsina-resistente de tripanosoma *Hippicum* y las cepas normales.

La concentración de Oxígeno fue medida con manómetros diferenciales, por Thurston y col.¹⁸², quienes usaron microdepósitos con 2 a 5×10^7 , cantidad de tripanosomas en 0.9 c. c. de mezcla reaccionante; la temperatura fue de 37 grados. El Tripanosoma *Lewisii* respiró lentamente en ausencia de sustrato por arriba de dos horas. Los parásitos sufrieron deterioros cuando se almacenaron a

5 grados durante 2 horas sin sustrato. No se observó elevación de Oxígeno con el tripanosoma *Equiperdum* en ausencia del sustrato; fueron viables los tripanosomas después de 5 horas a 5 grados, y de 24 horas a la misma temperatura, con glucosa o glicerol como sustrato, pero no en ausencia de éste.

Con glucosa, la rata de consumición de Oxígeno por el tripanosoma *Lewisi* se incrementó con la edad de la infección; este cambio fue más notorio cuando se empleó la glutamina. Con glucosamida fue levemente menor que con la glucosa. Fue aún más baja con ácido sodio-alfa-glutámico, asparagina, ácido aspártico, hidrolizato de caseína, extracto de levadura y peptona. Otros trece amino-ácidos no tuvieron efecto sobre la motilidad de los tripanosomas.

Con glicerol como sustrato, el Oxígeno tomado del tripanosoma *Equiperdum* fue levemente menor que con glucosa. Fue muy bajo con extracto de levadura, hidrolizato de caseína y peptona; no se observó elevación de Oxígeno o de motilidad con ácido sodio-alfa-glutámico, glucosamina, asparagina, ácido aspártico, D. L. Alanina o acetato de sodio; otros trece amino-ácidos no tuvieron efecto sobre la motilidad de los parásitos.

La glutamina liberó amonio por fases reproductivas y adultas de tripanosoma *Lewisi*.

El Oxígeno tomado de tripanosomas en sangre heparinizada infectada, fue comparado con el de tripanosomas lavados suspendidos en sol. de glucosa-Ringer-fosfato, con o sin adición de suero o sangre. Con el tripanosoma *Lewisi* la rata de oxígeno fue más elevada ante la presencia de sangre o suero que con la sola sol. G-R-F.; en cambio, con el *T. Equiperdum* el oxígeno aumentó con la presencia de sangre o suero al comienzo,

y en la misma forma con la sol. dicha, pero decreció más rápidamente en ausencia de dichos elementos.

Altas concentraciones de ácido-yodo-acético incrementaron la cantidad de oxígeno obtenido cuando fue agregado a la sangre normal de rata más heparina; concentraciones similares inhibieron esa elevación de oxígeno cuando estuvo presente el azul de metileno o cuando la sangre había sido tratada con nitrato de sodio para convertir la hemoglobina en meta-hemoglobina. El ácido yodo-acético causó pequeña inhibición en el nivel de oxígeno cuando el *T. Lewisi* fue suspendido en sol. R-F con glutamina más glucosa o cuando fue probada sangre infectada heparinizada; la inhibición fue bastante mayor cuando el sustrato fue glucosa, mientras que la glucosamina, glicerol, o glucosa más suero, dieron resultados intermedios.

El mismo ácido causó menor inhibición cuando el *T. Equiperdum* fue suspendido en sol. R-F con glicerol, o cuando fue probada sangre heparinizada infectada; la inhibición fue mayor cuando el sustrato fue glucosa, y levemente menor cuando fue glucosa más suero o más glicerol.

La Neoarsfenamina inhibió la elevación de oxígeno del tripanosoma *Lewisi* de manera similar ante la glucosa y la glutamina. La misma sustancia y el thyoglicolato-stovarsol reducidos, inhibieron el oxígeno del *T. Equiperdum* en menor proporción cuando el sustrato fue glicerol que cuando fue glucosa. El arseniato de sodio fue tan activo como el thyoglicolato-stovarsol reducido cuando el sustrato fue glucosa, pero 10^4 del mismo arseniato tuvo un pequeño efecto cuando fue glicerol el sustrato.

El azúcar sanguíneo y el cálculo de tripanosomas en ratas infectadas con *T.*

Evansi²⁰: El primero pareció decrecer con el incremento de los organismos en la sangre; se observó hipoglicemia después del tercer día de infección, la cual llegó a ser gradualmente más severa hacia la muerte del animal; pero que ella haya sido la única responsable de la muerte no ha sido determinado con certeza. Las inyecciones de glucosa prolongaron la vida de las ratas infectadas.

TRIPANOSOMIASIS

A) TRANSMISION:

Todas las tripanosomiasis, con excepción de la Durina, se transmiten por intermedio de insectos; ya siendo el papel de éstos vectores netamente mecánico, o sirviendo como huéspedes intermediarios que facilitan el desarrollo del parásito en una determinada etapa de su vida.

T. Equiperdum: Los potrillos padecen la infección desde el momento en que toman calostro de yeguas positivas a la prueba de la Fijación de Complemento para el diagnóstico de la Durina, y permanecen reaccionando por algunos meses. El período durante el cual esos animales permanecen positivos, parece variar entre dos y trece meses. Esto es fruto de un trabajo efectuado por Robinson y col.¹⁴², quienes también llegaron a la conclusión de que los potros pueden llegar a ser infectados antes de la madurez sexual; y potrancas infectadas, al llegar a la madurez sexual, son capaces de transmitir la infección a un semental sano.

Zarnowski describió una prueba que no tuvo éxito, con el fin de transmitir la infección con tripanosoma *Equiperdum* por intermedio de insectos; se utilizaron el *Ctenocephalides canis*, *ceratophilus fasciatus*, *lignognatus piliferus*, y *Sto-*

moxys calcitrans. El autor opina que la transmisión por insectos bajo condiciones naturales es ineficaz.

En la generalidad de los casos, la enfermedad se transmite por el coito; sin embargo, algunos autores afirman que también es factible por intermedio de moscas chupadoras: tábanos, stomoxys. En forma natural, solamente adquieren la infección los miembros de la familia equina, que por lo tanto son los únicos reservorios.

T. Vivax: En 1954 fue investigada una línea de tripanosoma *Vivax*¹¹¹, transmitida por *Glossina Pallidipes*, y otra por *Glossina Palpalis*; la primera se desarrolla más rápidamente, tiene mayor infectividad y se multiplica más rápido; causa un 70% de mortalidad en 24 a 30 días. Al ser pasada por otras especies de *Glossina*, reduce su virulencia; los pases por inoculación producen una infección crónica similar a la producida por la línea transmitida por *G. Palpalis*. Esta línea produce anemia, y el bovino muere en pobres condiciones después de 100 a 160 días. Una cepa similar a esta de *T. Vivax* parece ser la predominante en nuestro país, en donde la mayoría de casos de infección se manifiestan en forma crónica, con emaciación y debilitamiento lento del animal.

El transmisor natural del *T. Vivax* en el Africa lo constituyen varias especies de *Glossinas*; en América es transmitido por dípteros picadores: tábanos, stomoxys, *Liperosia*, *Culex*, *Aedes*, etc. A la transmisión experimental las especies más sensibles son los bovinos, caprinos y ovinos; son refractarios los perros, conejos, cobayos, ratas, ratones.

T. Evansi: Fue transmitido por alimentos con carne afectada de Surra, o sangre de perros y ratas³³; también a través de agentes como la mosca común, vía

tejidos contusos, heridas y punturas con aguja. La infección también puede transmitirse aplicando sangre infectada con *T. Evansi* en las membranas mucosas normales de la nariz, conjuntiva, vagina y pene del perro o de la hembra.

Los agentes vectores del *T. Evansi* son por lo general los insectos chupadores: Tábano, *Stomoxys*, *Liperosia*. Experimentalmente, es inoculable al perro, conejo, curí, rata y ratón. Reservorios naturales son el Carpincho y el Armadillo en América del Sur; en África y Asia el camello, carabao y algunos rumiantes.

Kraneveld y col.¹⁰⁴ hablan de la posibilidad de transmitir la Surra por intermedio de la sangre, como en el caso de bovinos afectados de aftosa, cuya sangre fue tomada, citratada y carbolizada para usarla en inmunización, contenía *T. Evansi*, el cual se manifestó en los animales inoculados.

Parr¹⁸⁹ discutió la importancia de ciertas especies de *Stomoxys* por la posibilidad de que éstas puedan ser responsables de la transmisión mecánica de la tripanosomiasis; también los efectos de la acción severa de la mosca sobre la producción de leche y el peso del cuerpo en el ganado.

En cuanto a otros tripanosomas de interés para nosotros, como son el *Hippicum*, el Venezolense, *Equinum*, son transmitidos en forma similar al *Vivax* y al *Evansi*.

B) PATOGENICIDAD Y EPIDEMIOLOGIA:

A continuación es mi intención presentar una sucinta recopilación de las diversas opiniones de los autores respecto a este tópico, diferente siempre según la especie de parásito del cual se trate. Datos complementarios están anotados en

la TABLA N^o 1. Hago notar la supremacía que he dado a los casos de infección tripanosómica en bovinos, y en general en todos aquellos huéspedes afectados en nuestro medio.

En el curso de una discusión acerca de la Epidemiología de la Tripanosomiasis en hombre y animales, Carmichael¹⁹ divide los tripanosomas en dos grupos: aquellos transmitidos por moscas, y los que no lo son; además, hace notar la predominancia de los tripanosomas *Equinum* y *Vivax* en Sur América y su estrecha relación con la época y distribución de los tábanos; al igual que la Surra. El autor sugiere la posibilidad del establecimiento de un balance entre el huésped y los parásitos hasta que las condiciones ambientales adversas intervienen y se presenta una epidemia: los tripanosomas *Vivax* y *Brucei* no causan una enfermedad grave cuando las condiciones ambientales son buenas.

Hoare se refiere al papel desempeñado por los animales en la transmisión de las tripanosomiasis humanas⁸¹.

Edwards⁵⁰ da gran importancia al alto número de tripanosomas complicados en infecciones animales, con notorio desarrollo y también diferencias antigénicas y diferentes respuestas a los agentes quimioterapéuticos. También son importantes las afinidades antigénicas del grupo *Brucei* con el *Equiperdum*.

Laveran y col.²⁴ concluyeron la existencia de una tripanotoxina al observar los fenómenos en un ratón inyectado con un extracto tripanosómico; Novy, en cambio, aseveró que se trataba de una anafilotoxina; hubo necrosis de coagulación, infiltración y congestión vascular.

Ledentu²⁴ concluyó que la existencia de las tripanotoxinas es clínicamente probable, pero que no ha sido demostrado experimentalmente. Otros autores atribu-

yen los edemas en la tripanosomiasis a las lesiones renales causadas por una intoxicación urémica; otros invocan la intervención de la glándula tiroides.

Kliger y Weitzmann, en 1926, se muestran partidarios de la teoría tóxica; se basan en el hecho de que en todas las tripanosomiasis hay destrucción más o menos masiva de parásitos en el curso de la enfermedad, si se estimula dicha destrucción con aplicación de parásitos muertos o restos de ellos, los edemas tienen mayor frecuencia y mayor precocidad; además, se observan polinucleosis y linfocitosis.

Levaditi y Delorme trataron de dilucidar el mecanismo de los accidentes nerviosos; los parásitos introducidos en la cavidad raquídea de conejos, por punción suboccipital, permanecieron 5 días e hicieron crisis; por nueva inoculación, se produjo una fuerte leucocitosis local y neuro-inmunidad. La aplicación por vía sanguínea entraña también la contaminación del líquido cefalo-raquídeo; todas estas observaciones colocan las tripanosomiasis dentro de las enfermedades infecciosas por toxinas.

Para muchos autores la muerte en esta enfermedad es debida a hipoglicemia o a la acidosis sanguínea, debido a que los parásitos transforman el azúcar sanguíneo en ácido láctico. En muchas ocasiones se observó el efecto de la glucosa sobre la conservación de los tripanosomas, al igual que la levulosa, la galactosa y la glicerina. La intoxicación por ausencia de glucosa se traduce en parálisis, trastornos nerviosos, y la muerte viene por acumulación del ácido úrico.

Haciendo un resumen sobre las opiniones de los autores, en cuanto a las causas de la muerte en la tripanosomiasis, hay tres teorías: La tóxica, la de la hipoglicemia y la de la asfixia; French en el 38,

cree que tanto la primera como la tercera son definitivas en los animales pequeños y de laboratorio; pero que es difícil asegurarlo en cuanto a los animales mayores se refiere; en cambio, es más factible que la hipoglicemia domine el cuadro clínico en estos animales. Los investigadores que han experimentado con infecciones tripanosómicas en animales esplecnetomizados, parecen haber llegado a la conclusión de que dicha operación tiene una acción poco marcada sobre la evolución de la enfermedad; sin embargo, en infecciones experimentales, se ha observado la acentuación de los síntomas y una más rápida evolución.

Tscherikower, en 1930, no atribuye al Sistema Reticulo-Endotelial intervención en la defensa contra las tripanosomiasis. La ablación o la neutralización de otros órganos puede más o menos influenciar el curso de la enfermedad; Perla y Marmeston estudiaron la acción de la castración; parece que la ablación bilateral de los testículos favorece la multiplicación de los parásitos, pero no influye en la duración de la enfermedad; tampoco tiene importancia en la virulencia.

En cuanto a la ablación de la hipófisis, los animales sucumbieron presentando una notoria hipertrofia ganglionar y lesiones pulmonares, a pesar del tratamiento.

Fiennes y col.⁵³, en un estudio sobre la tripanosomiasis bovina, asegura que no existe la evidencia sobre la presencia de tripanotoxinas, pero que una posible causa de la muerte en la enfermedad aguda podría ser la anafilaxis; las más recientes variaciones en las relaciones parásito-huésped, fueron atribuidas a variaciones anti-génicas. En un trabajo posterior⁵⁵, descubrieron un estadio secreto de la enfermedad en bovinos, o infección pre-primaria, la cual se presenta naturalmente

y puede ser causa de la muerte. La evidencia está sometida a la demostración de anticuerpos en animales premunes, por pruebas de protección en ratones; coloraciones de sangre en infecciones por *T. Vivax*, antes de aparecer los parásitos en el plasma, y a los resultados de terapia profiláctica y subcurativa. La presencia del *T. Vivax* fue detectada en frotis de ganglios linfáticos pre-escapulares, luego del uso profiláctico del Antrycide. El autor sugiere que el pequeño número de parásitos que aparecen a raros intervalos en la sangre durante la infección inaparente, parece ser debido a la actividad de un foco tisular, antes que a la causa activa de los síntomas de la enfermedad.

En el 52, el mismo autor⁶⁰ publicó sus observaciones en ganado que sufría un estadio secundario de tripanosomiasis, y en el cual fue descubierto un intenso parasitismo en el corazón. La mayoría de los parásitos aparecieron degenerados o presentando formas líticas, pero también hubo formas normales. Algunos restos fueron descubiertos en el corazón de un animal que había presentado frotis de sangre positivos solamente una vez; también en otro caso en el cual se había manifestado un pequeño número de parásitos únicamente dos días consecutivos durante seis meses. El corazón tenía severas lesiones y asociación de formas líticas y normales de tripanosomas, las cuales parecen haber sido la causa directa de dichas lesiones. Se sugirió que las lesiones cardíacas pueden ser causadas fundamentalmente por la asociación del estado patológico con este estadio secundario de la tripanosomiasis en bovinos.

Fairbairn y col.⁶³, estudiando varias cepas de tripanosoma *Vivax* de diferentes huéspedes y regiones, observaron que la longitud de los parásitos varía según su virulencia, la zona de donde proviene

y el huésped que parasita. Así, llegaron a la conclusión de la presencia de dos tipos de *T. Vivax*, lo cual explica las diferencias en el cuadro clínico de infecciones causadas por dicha especie de tripanosoma en bovinos de diferentes regiones.

Según Mulligan¹²¹, el tipo corto es el más virulento y se encuentra comúnmente en el Este de Africa, y el largo de menor virulencia es frecuente en Oeste de Africa, Panamá, Sur América, etc.

Una cepa de *T. Vivax* que produjo alta parasitemia en vacas paridas, cerdos y cabras, pero que no se pudo pasar a animales de laboratorio, a 37 grados, fue moderadamente sensible al tártaro emético, menos a la triparsamida trivalente, Mel W (un derivado soluble melarsenóxido) y acriflavina. La prueba de cultivo en el embrión de pollo y en medios con incubación a 26 grados, fue infectiva.

Bell y col.⁹ hacen referencia a las observaciones hechas sobre un grupo de bovinos sobrevivientes de una infección tripanosómica; casi todos presentaron tripanosomas en frotis sanguíneos, pero los animales reaccionaron bien de la crisis anémica; en el resto, el azúcar sanguíneo presentaba una elevación sobre el nivel normal y había una considerable disminución de la tolerancia a la glucosa, con glucosuria marcada. La capacidad de CO₂ sanguíneo se mantuvo normal, pero los valores en cloruros fueron bajos.

Diez bovinos jóvenes, de los cuales 6 habían tenido tripanosomiasis, recibieron el virus cabra, y la vacunación contra la Morriña causó la reaparición de la Tripanosomiasis latente.

Me permito hacer una reseña de los motivos por los cuales algunos tripanosomas se manifiestan apatógenos, a pesar de aparecer en ocasiones en cantidades

masivas en la sangre de algunos mamíferos. Ejemplo: el *T. Lewisi* produce una infección no letal, limitada por sí misma en la rata, diferenciándose de aquellos que producen serias y progresivas infecciones tanto en humanos como en huéspedes animales. La diferencia en la patogénesis es debida principalmente al hecho de que durante el curso de la infección la rata elabora un anticuerpo, el cual restringe la habilidad del tripanosoma para reproducirse. Parece que tiene gran importancia en esto el ser este hemoflagelado un parásito de características morfológicas futuras definidas; así, pues, demuestra una inhibición de la reproducción en los huéspedes con inmunidad adquirida; esta condición es entonces humoral, con características de anticuerpo.

Al comienzo de una infección experimental, los tripanosomas que aparecen en los frotis se dividen por fisión longitudinal, produciéndose múltiples parásitos denominados rosetas; éstas se separan en formas jóvenes de tamaños variables. Si el número de estas formas simples con longitudes variables (llamadas coeficiente de variación), es superior, la multiplicación es más activa. Sobre el tercero o cuarto día de la infección, el coeficiente de variación es alto, y mientras tanto el número total de parásitos en la sangre continúa aumentando constantemente. Uno o dos días más tarde, las rosetas y formas variables de crecimiento comienzan a desaparecer, y hacia el décimo día ha descendido al mínimo, mientras que el número total de parásitos ha permanecido al máximo. En este momento los frotis sanguíneos revelan solamente formas adultas de longitud uniforme; la población alcanza su máximo, pero las formas jóvenes no continúan su desarrollo. Más o menos por esta misma época puede precipitarse una caída en el número

total de parásitos; esto, a causa de la aparición de un anticuerpo, el cual, con complemento, causa su lisis y fagocitosis. Los sobrevivientes de esta crisis permanecen en la sangre, sin posibilidades de reproducirse, por cerca de un mes, durante el cual hay una lenta pero progresiva disminución del número; finalmente, los organismos desaparecen de los frotis sanguíneos y la infección termina.

La inhibición de la reproducción que ocurre durante los primeros días de la infección, es debida a la adquisición de una sustancia humoral denominada por Taliaferro: *Ablastin*. Este factor puede ser transferido pasivamente a animales normales, para provocar en ellos una reacción contra la multiplicación parasitaria. Se separa del suero como una gammaglobulina de peso molecular ordinario (6 S), y puede ser inducida por vacunación con organismos muertos; en esta forma parece estar capacitado como un anticuerpo. En otro aspecto mayor, sin embargo, deja de actuar como anticuerpo: no puede ser absorbido del suero por los organismos contra los cuales se dirige.

Como se dijo antes, aun algunos anticuerpos incapaces de inducir cambios serológicos manifiestos, tienen la capacidad de unidad con sus antígenos; esta habilidad parecería ser una mínima condición de una sustancia, para caer dentro de la definición de anticuerpo¹⁵¹.

C) INMUNOLOGIA E INMUNIZACION

He puesto especial interés en la presentación de este numeral, por guardar estrecha relación con la parte experimental del presente trabajo.

Soltys y col.¹⁶⁷ realizaron un estudio sobre la *Reacción de Neutralización Tripanosómica* con inmuno-sueros y describieron la técnica. Los anticuerpos neu-

tralizantes aparecen en los conejos cinco días después de la inoculación con *T. Brucei*, alcanzando un máximo de 1:320 dentro de los 28 días subsiguientes; el mismo título de anticuerpos neutralizantes pudo ser producido en conejos por inoculación de tripanosomas muertos formolizados; el título de anticuerpos permaneció a niveles más altos por mayor tiempo en animales inyectados y luego tratados, que en los inmunizados con tripanosomas muertos. Los anticuerpos neutralizantes fueron demostrables también en curies, pero a un nivel inferior que en los conejos. Ratones y ratas infectados y no tratados no presentaron esta clase de anticuerpos.

Ratones infectados fueron protegidos de la infección por inoculación simultánea o una hora más tarde de 0.5 c. c. de antisuero, con un alto título de anticuerpos neutralizantes. Otros, inoculados con el mismo antisuero, mostraron inmunidad pasiva durante 10 días. Algunas cepas, después de varios pases por conejo, perdieron su condición de ser neutralizadas por sueros homólogos, o heterólogos, los cuales por otra parte sí neutralizaron las cepas patrones. Se sugirió que las cepas distintas no fueron variantes genéticas, sino que desarrollaron un mecanismo protector frente a los anticuerpos.

También se refiere el autor a la *Reacción de Aglutinación* entre Tripanosomas vivos y sueros de conejo experimentalmente infectados; las aglutininas en éstos y en conejos hiper-inmunizados con tripanosomas muertos, aparecieron entre cinco y ocho días, y alcanzaron su máximo dentro de los 14 días. Persistieron hasta la muerte en conejos no tratados, y solamente por tres meses en aquellos tratados con Suramina; en los hiper-inmunizados, el título bajó gradualmente y

desapareció a las cuatro semanas después de la última inoculación; las aglutininas parecieron ser especie-específicas, porque solamente aglutinaron con cepas homólogas o heterólogas de la especie que fue inoculada.

Basado en su trabajo anterior, Soltys relacionó el efecto de la inmunidad en el ganado, sobre la quimioterapia¹⁰², y llegó a la conclusión de que cepas que habían sido resistentes a los anticuerpos después de pases por conejo, fueron más resistentes a la Suramina que las variantes anticuerpo-sensibles de la misma cepa.

Las cepas anticuerpo-resistentes necesitaron cincuenta veces más las drogas Antrycide y Suramina que las sensibles¹⁰⁴, estando vivos pero haciendo la experiencia in vitro. Los tripanosomas pueden llegar también a adquirir resistencia a las drogas, sin que necesariamente tengan que ser anticuerpo-resistentes; sin embargo, se sugirió que bajo condiciones naturales, cepas resistentes a las drogas en animales y hombre se desarrollan de cepas anticuerpo-resistentes. En conclusión: Tripanosomas expuestos por algún tiempo a anticuerpos y que llegan a hacerse resistentes, podrían ser usados en todas las pruebas para la eficiencia de drogas quimioterapéuticas.

En el suero de conejos y gatos infectados con tripanosomiasis, son detectables altos niveles de inmuno-conglutininas antes de ser producida una cantidad significativa de anticuerpos neutralizantes⁹⁵. Esta diferencia es más marcada en animales infectados con variantes anticuerpo-resistentes, las cuales son más virulentas para los conejos. En animales tratados efectivamente, el nivel de conglutininas cae a su cifra pre-infectiva, mientras que el título de anticuerpos neutralizantes solamente decrece suave-

mente a un nivel más bajo. No se observó ningún cambio en el título de anticuerpos neutralizantes ni de inmuno-conglutininas después del tratamiento de animales infectados con una cepa drogo-resistente. Estos resultados son muy promisorios para posteriores ensayos de quimioterapéuticos en Tripanosomiasis.

Factores asociados con la iniciación de la respuesta inmunitaria³⁸; la proposición básica de los investigadores es que la síntesis de anticuerpos inducida por el antígeno puede tener lugar únicamente durante algún estado específico en ciclo mitótico, de la producción de anticuerpos por la célula. Este estado se encuentra probablemente al final de la interfase, al momento de la síntesis de nuevo ácido desoxi-ribonucleico. Esta proposición se basó sobre una interpretación de los estudios de los efectos de la radiación sobre el mecanismo de la inmunidad y sobre la síntesis del ácido nucleico.

Desowitz y col.⁴⁵ aclaran el hecho de que anteriores trabajos sobre inmunidad hayan fracasado: tanto por el uso de pequeños animales de laboratorio como por el de cepas viejas de tripanosoma, las cuales tienen poca o ninguna relación con las del campo. En el presente estudio sobre la respuesta inmunitaria en hombres y animales se utilizó la prueba respiratoria para la distribución de anticuerpos, según el grado de disminución de la rata de consumición de oxígeno del tripanosoma ante la presencia del anticuerpo. También se emplearon técnicas electroforéticas.

La respuesta inmunitaria al *T. Vivax* fue estudiada en animales susceptibles (cebú) y en resistentes (N'Dama, nacido y criado en zonas infectadas, y con historia de infección temprana), y en ganado Muturo, considerado aún más

resistente, que no había sido expuesto a la infección por muchas generaciones.

Después de la prueba, el ganado Cebú desarrolló una infección crónica seguida de curación espontánea. El N'Dama dio una respuesta de hiper-inmunización durante 100 días, y aún fueron demostrados anticuerpos al cabo de 2 años. El Muturo sucumbió en cerca de 25 días.

También se observó la respuesta inmunitaria en otros animales, y la mayor diferencia con el ganado estuvo en la tasa de sero-proteínas. En el Cebú hubo intensos ataques parasitéticos con relación causal entre el título de anticuerpos y la parasitemia⁴². En el N'Dama la parasitemia fue escasa y transitoria. Parece que mientras el factor gama-globulínico en el Cebú estimulado y en el N'Dama parcialmente inmunizado, consta de dos componentes, en el N'Dama hiper-inmune hay un tercer componente gama-globulínico.

Terry¹⁸¹ hizo un estudio referente a la inmunidad natural frente a la tripanosomiasis, basado en la aglutinación y lisis *in vitro* del *T. Vivax*, por un factor presente en suero normal de ratas blancas; esta reacción se demostró al microscopio. El mencionado factor estuvo presente en el suero de todas las ratas blancas probadas y pareció ser específico frente al *T. Vivax*, ya que ninguna otra especie de tripanosoma fue afectada. Se trataba de una proteína sérica cuyo comportamiento electroforético coincidió con el de las Beta y Gama globulinas de movimiento más veloz.

Precipitinas frente a antígenos tripanosómicos aparecieron en suero de ganado Cebú, el cual había estado infectado por períodos prolongados con *T. Vivax*, transmitido por dípteros. Antisueros precipitantes contra *T. Vivax* fueron usados para detectar componentes de an-

tígenos tripanosómicos solubles, en suero de ratas infectadas con cepas sanguíneas de *T. Vivax*, Gambiense y Brucei, y en suero de cabras infectadas con una cepa transmitida cíclicamente de *T. Vivax*. El antisuero contenía anticuerpos que reaccionaron con antígenos comunes a las tres especies, y también anticuerpos que reaccionaron con antígenos únicamente de *T. Vivax*, por lo cual parecen ser específicos para dicho parásito.

Dodin y col.³⁰ confirmaron previas observaciones hechas en ratones; ratas y cobayos fueron efectivamente inmunizados contra el *T. Gambiense* por inoculación de pequeñas cantidades de plasma de ratones y ratas altamente infectados; asimismo ratones inoculados con plasma de roedores infectados con *T. Equiperdum* desarrollaron una inmunidad moderada. El antígeno fue demostrado en la fracción plasmática precipitada por la acetona; en la fracción líquida después de someterla a la acción del dextran-sulfato; en la fracción globulínica precipitada por sulfato de amonio; en el residuo de albúmina después de la fraccionación sobre filtros de celulosa. Macrófagos de ratones inmunizados tuvieron marcado tropismo por los tripanosomas, e inmunidad pasiva inducida.

Los autores discuten en esta publicación¹⁵⁵ el concepto de *Tolerancia Inmunológica* y la *Teoría Clonal* de la formación de anticuerpos con relación al fenómeno de la adaptación del huésped al parásito; se sugiere que el mecanismo para reconocer y reaccionar contra un organismo extraño, consiste primariamente en pre-determinar los sitios de antígeno-combinación celular, y que este mecanismo haya sufrido una evolución progresiva en el reino animal. Los animales reaccionan a su máximo potencial frente a parásitos nuevos en un sentido

evolucionario. Como producto de la evolución ocurre la adaptación, pasando de un estado en el cual los anticuerpos parasiticidas controlan numerosos parásitos, a otro en que no son letales, sino simplemente inhiben la reproducción, y finalmente a otro en el cual el parásito deja de ser antigénico y no se obtiene respuesta inmunológica del huésped. Este último estadio es la tolerancia-adaptación, y es considerado como una modificación dual de huésped y parásito, operando a través de la selección natural que consiste en una estabilización y modificación de los antígenos parasíticos, de conformidad con sustancias relacionadas en el huésped y también con una obliteración selectiva de los correspondientes sitios de antígeno-combinación en el huésped, los cuales llegan a ser tolerantes al parásito. Sprent reconoce que la escasez de nuestros conocimientos sobre los procesos inmunitarios que operan en las relaciones huésped-parásito de invertebrados y vertebrados inferiores, introduce un alto grado de especulación dentro de su hipótesis de la evolución de la asociación parasítica; pero considera el valor que esto puede tener en cuanto a la sugestión de nuevas ideas y líneas de investigación en este campo.

Bording y col.¹¹ consiguieron resultados en algunas inmunizaciones orientadas experimentalmente en ratones contra el *T. Equiperdum*. Para la inmunización activa, las vacunas consistieron, parte en sangre con tripanosomas, tratada con formalina, y parte en suspensión de tripanosomas en sol. salina fis., tratada con formalina. La sero-inmunización de los curies tratados previamente: unos con vacuna y otros con tripanosomas vivos, fue usada para la inmunización pasiva, la cual mostró un buen efecto protector. Por inyecciones repetidas de vacu-

na, puede ser obtenido un efecto protector distinto en ratones contra la subsecuente infección con tripanosoma.

La habilidad de los tripanosomas para hacerse resistentes a los anticuerpos es similar en algunos aspectos²⁵ a la habilidad para adquirir resistencia a las drogas; ésta la poseen la mayoría de los micro-organismos. El origen de ambos tipos de resistencia puede ser espontáneo inducido por anticuerpos y drogas; ciertos caracteres del fenómeno resistencia a anticuerpos lo hacen más accesible al análisis; éstos son, comparativamente: El alto porcentaje en la frecuencia de los cambios, y el hecho de que la resistencia-anticuerpo es generalmente absoluta, mientras que la droga-resistencia es parcial. En el caso del *T. Equiperdum* en la rata, el porcentaje de mutación a anticuerpo-resistente fue de cerca de una célula mutante por millón de nuevas células; esta mutación no fue inducida por anticuerpos, sino que fue independiente de la concentración de anticuerpos en la rata.

La resistencia a la re-infección en la *Durina*¹⁷⁷ persistió por cerca de nueve meses en una yegua, en seguida de la infección con *T. Equiperdum*; en perros, la inmunidad duró por cerca de tres años; no fueron demostrados anticuerpos específicos durante el período de inmunidad. Los tripanosomas estuvieron en capacidad de producir toxinas solamente durante la reproducción; no contenían endotoxinas; los componentes antitóxicos estuvieron presentes en el suero de ratones, ratas y cerdos, los cuales habían sido tratados con tripanosomas vivos; pero no en animales hiper-inmunizados con vacunas muertas. La presencia de gran número de trombocitos en la sangre de ratones y ratas fue atribuido al efecto de la toxina sobre la médula ósea y el bazo.

La resistencia a la infección, que persistió en ratas durante dos meses después de la aplicación de Antrycide-Metil-Sulfato, fue explicada por la lenta absorción de la droga; el suero hiper-inmune actuó contra las toxinas, pero no contra los tripanosomas vivos.

En infecciones experimentales en conejos, Pantrizel demostró la presencia de anticuerpos¹³³ e inmunización, en el curso de la enfermedad; los hubo aglutinantes, debidos a antígenos periféricos, especie - específicos y cepa - específicos; mientras que los anticuerpos demostrados por Fijación de Complemento, hemólisis y pruebas de conglutinación, fueron debidos a estructuras antigénicas internas comunes a las diferentes especies de tripanosomas.

Resultados negativos de inmunización fueron obtenidos en caballos y cerdos¹⁰⁰ después de la inoculación con un polvo preparado con sangre infectada con *T. Evansi*, y luego la aplicación de sangre líquida de caballos infectados. Los autores sugieren que tal vez otra cepa diferente de la usada puede tener superiores propiedades antigénicas.

Gray y col.⁷³, por ensayos de una técnica modificada de agar-gel, demostraron anticuerpos precipitantes en suero de ganado, conejos, caballos, y tres de cinco voluntarios humanos, con tripanosomiasis la técnica de la prueba y la preparación de antígenos con *T. Vivax*, *Brucei* y *Gambiense*, fueron cuidadosamente descritos. En cuatro bovinos infectados con una mezcla de *Vivax* y *Congolense*, los anticuerpos precipitantes aparecieron después de 11 a 39 días de parasitemia; en dos de ellos tratados con Bromuro de Etidio, desaparecieron en 28 días. En un toro con infección clínica de *T. Vivax*, y parasitemia esporádica, se demostraron anticuerpos sobre un período de ocho

meses; la pauta de las reacciones de Precipitación difirió entre los animales: anticuerpos en el suero de un animal con una infección pura, reaccionaron en menor grado con antígenos de varias especies de tripanosomas.

Los investigadores Lanoy y col.¹¹⁰, basados en los resultados de numerosos experimentos, concluyeron que para el desenvolvimiento de la inmunidad temporal a la misma cepa de *T. Brucei*, la cual aparece después del tratamiento quimioterapéutico en ratas, el bazo es innecesario.

El resultado del estudio de los efectos del inmuno-suero sobre la respiración del *T. Brucei* in vitro, hecho por Thurston y col.¹⁷⁸, fue: un descenso en el oxígeno respirado, así como una disminución de la motilidad; algunos parásitos no parecieron afectados por la menor concentración de suero inmune activo, mientras que otros, en la misma suspensión, fueron aglutinados y/o lisados.

La mayor sero-inhibición de oxígeno fue más activa a menores concentraciones; esta técnica fue menos sensible que el método de Soltys para la demostración de anticuerpos neutralizantes en el mismo suero.

D) SINTOMATOLOGIA, LESIONES ANATOMO E HISTOPATOLOGICAS:

La sintomatología es bastante similar en la mayoría de las infecciones por distintas especies en diferentes huéspedes; parece que las alteraciones de los tejidos, de la sangre y las reacciones orgánicas, son comunes; sin embargo, son muchos los factores que pueden influir en la aparición de la sintomatología: Especie animal, de protozoo, región geográfica, clima, condiciones generales de alimentación, razas, etc.

La duración del período de incubación es muy variable y hay que tener en cuenta que son diferentes la incubación clínica de la bacteriológica; luégo se presenta la evolución de la infección, la cual varía según la especie de tripanosoma. Las manifestaciones comunes son: fiebre, lesiones de las mucosas y de los tegumentos, hipertrofia de los ganglios linfáticos; edemas, lesiones sanguíneas; síntomas nerviosos. La temperatura marca el fin del período de incubación: corresponde al estadio de reproducción parasitaria; luégo de la crisis puede haber un período apirético, seguido por nuevas crisis, la muerte o la premunición; generalmente, en los rumiantes se instala una forma crónica. En estos casos es cuando generalmente se pueden observar los demás síntomas que caracterizan la cronicidad: edemas en las regiones declives del cuerpo, inflamaciones crónicas de la dermis, blefaritis; urticaria y manifestaciones similares en el chivo. También son frecuentes, petequias en las mucosas, principalmente en la ocular, primero rojizas y luégo violáceas. La hipertrofia del bazo es más o menos constante y marcada y se traduce sobre todo como una reacción a la anemia globular causada por las toxinas tripanosómicas; el examen de la sangre revela monocitosis intensa, una ligera eosinofilia, retardo importante en la coagulación; en el período pre-agónico, hipoglicemia; en ciertas tripanosomiasis se presentan auto-aglutinaciones, y en otras mixo-edema de la tiroides y arritmia cardíaca.

Robinson y col.¹⁴² mantuvieron en observación y experimentación seis yeguas jóvenes de 9 a 15 meses de edad, las cuales presentaron reacción positiva a la prueba de la Fijación de Complemento, y no habían sido apareadas aún; fueron mantenidas en aislamiento hasta ha-

ber alcanzado la madurez sexual, época en la cual la positividad de sus reacciones se amortiguó un tanto. Luégo fueron montadas por un semental libre de la infección, con los resultados siguientes: Una de las yeguas murió y presentó a la autopsia cirrosis hepática, dilatación del estómago e impactación del colon con arena. Otra fue sacrificada al considerar su debilitamiento y permanente decúbito, y al examen post-mortem presentó cambios debidos a la caquexia; no fueron hallados tripanosomas en muestras de vagina y útero ni en el flúido cerebro-espinal. El semental, el cual inicialmente fue negativo a la Fijación de Complemento, presentó una débil respuesta positiva a las seis semanas, y en los meses siguientes la reacción llegó a ser fuertemente positiva. Así, pues, se concluyó que los potros pueden llegar a ser infectados antes de llegar a la madurez sexual, y potrancas infectadas, al llegar a la madurez sexual, son capaces de transmitir la infección a sementales durante el servicio.

En algunas tripanosomiasis, el estadio final se manifiesta como un síndrome de meningo-encefalitis crónica con infiltración perivascular de gran número de linfocitos y plasmocitos. Estos dos elementos celulares fueron encontrados también en el flúido cerebro-espinal, algunas veces en gran número. Los linfocitos mantienen generalmente su apariencia normal; sin embargo, algunos muestran signos de degeneración; algunas razones hay para suponer que su papel consiste en preparar y segregar anticuerpos y de este modo ayudar al mecanismo de defensa del organismo; los plasmocitos, en cambio, absorben y acumulan lípidos (muy probablemente compuestos fosfo y glico-lípidos), producidos por un metabolismo defectivo de las células cerebrales infec-

tadas con tripanosomiasis. Esta acumulación causa vesículas y depósitos de líquido en el citoplasma, que se unen y aumentan de tamaño; los plasmocitos, de este modo desarrollados, tienen al final la forma de una masa de vesículas, razón por la cual Mott las llamó "células musculares". Estos elementos son de este modo la expresión morfológica de una actividad fisiológica muy definida; los autores los consideran específicos en la Tripanosomiasis; ellos no confundirían nunca a los plasmocitos con vacuolas, las cuales se encuentran en otros órganos y en otras enfermedades (Van Oye y Peckel, 189).

Fiennes y col.⁶² hicieron una relación de los hallazgos post-mortem encontrados en 18 bovinos expuestos a los insectos picadores; de éstos fueron protegidos catorce, y el resto dejados como controles. Todos fueron examinados después del sacrificio, y las diferencias más notables entre los animales previamente tratados y los controles se encontraron en el bazo, nódulos linfoides y hemolinfoides. En ambos grupos hubo esplenomegalia; los nódulos linfoides aparecieron fibrosos y hubo hiperplasia general de los hemolinfoides.

Stephen¹⁸³ describió la infección inducida de *T. Vivax* en un caballo con detalles sobre síntomas clínicos, hematología y exámenes clínicos. La infección se caracterizó por una serie de alcances máximos de parasitemia, acompañados de fiebre, polipnea, taquicardia, edema de las patas, hidrocele y tremor muscular. Inflamaciones urticariformes y pronta aparición de ictericia; a medida que progresó la enfermedad disminuyó el apetito y se desarrolló anemia severa, el caballo tomó entonces una actitud de embotamiento y debilidad, notoria pérdida de condiciones y marcha tambaleante. Los

estudios químicos revelaron elevada sero-bilirrubina, gama-globulina y plasma, en lecturas de gravedad específica; y una prueba positiva al formol-gel durante la infección. El animal fue curado con Bromuro de Etidio en inyección i. m., sol. al 2%, dosis rata de 1 mg./k. El nivel de colesterol se redujo en la sangre de humanos, principalmente al comienzo de la enfermedad, pero apenas se comenzó el tratamiento, el nivel retornó a lo normal¹¹⁹.

Según el doctor Gonzalo Luque Förrer, en sus conferencias de Enfermedades Parasitarias, los síntomas dignos de tenerse en cuenta en el caso de la T. Equina, producida en Colombia por el *Tripanosoma Evansi* y sus variedades *equinum*, *hippicum*, *venezuelensi*, son los siguientes: Un poco de elevación térmica, después de un período de incubación de 4 a 13 días; disminución del apetito, marcha perezosa; en este período se encuentran generalmente tripanosomas en la sangre. Cuando se presenta la enfermedad en forma sobre-aguda, mata en tres días más o menos, pero esto es muy raro. La aguda mata en un mes, y la forma crónica en seis meses o más.

En un estadio más avanzado, los síntomas se agravan, el animal aparece decaído, la temperatura puede llegar a 40 o 42 grados C, y las pulsaciones entre 56 y 64 por minuto. Las mucosas aparecen pálidas y de un tinte amarillento; además, se observan equimosis en las conjuntivas, un ligero lagrimeo y también una ligera secreción nasal. Poco a poco aparecen edemas en los miembros y en la cara ventral del abdomen, la anemia va siendo progresiva y la atrofia de los músculos se hace cada vez más progresiva y manifiesta. Después de un período de 1 a 6 días, la temperatura baja y la mayor parte de los síntomas desaparecen;

el examen de la sangre no revela la presencia del parásito. Más tarde reaparecen los síntomas, y casi siempre se observa hemoglobinuria a intervalos variables. Además, en el cuadro típico de la enfermedad hay períodos febriles y períodos apiréticos durante varios días o meses; durante los períodos febriles casi siempre se encuentran los parásitos en la sangre periférica; también es característico de la enfermedad una paresia progresiva del tren posterior y parálisis de la vejiga y del recto.

En los bovinos, la enfermedad es producida en Colombia por el *T. Vivax*, y ocasionalmente por el *Evansi* y las otras especies comprobadas; se presenta en tres formas clínicas: aguda, subaguda y crónica. La primera se caracteriza por elevación de la temperatura, marcha vacilante, excrementos diarreicos y a veces sanguinolentos; dos días después de iniciados los síntomas, el pelo aparece erizado y el animal, aun cuando conserva el apetito un poco, se cae y difícilmente vuelve a levantarse, muriendo en menos de una semana en estado de hipotermia. La segunda se manifiesta por fiebre irregular, enflaquecimiento progresivo, secreción nasal, al principio mucosa y más adelante purulenta; edema de los miembros posteriores; el apetito se conserva por largo tiempo y el pelo se desprende por zonas; después de más o menos iniciados los síntomas, el animal muere en estado de hipotermia. La forma crónica se caracteriza por anemia, enflaquecimiento, edemas en la región submaxilar, en los párpados y partes bajas de torax y abdomen; la enfermedad dura de 4 meses a 1 año, y la mortalidad de manera frecuente llega al 60%.

Las lesiones en la forma aguda son hemorragias submucosas del tubo digestivo, congestión del hígado, hipertrofia

del bazo y del corazón; en los casos crónicos el cuadro corresponde al de las anemias.

La Durina es generalmente de naturaleza crónica; en las regiones tropicales tiende a ser más aguda que en las regiones frías; puede evolucionar durante meses y años, presentándose estados de mejoría y recaídas sucesivamente, hasta que el enflaquecimiento y los síntomas del sistema nervioso inutilizan al animal. Se manifiesta por hinchazón de los genitales: prepucio, pene, testículos del semental con enrojecimiento; vulva y vagina de la hembra, las cuales emiten una secreción mucosida en la cual hay tripanosomas. Luego de que estos signos agudos desaparecen, se desarrollan bajo la piel placas características convexas de diferentes tamaños; estas placas aparecen y desaparecen sucesivamente a medida que pasa el tiempo; depigmentación de la mucosa del tracto genital y síntomas de parálisis en forma gradual. Fiebre inconstante, acentuación del enflaquecimiento y muerte.

El Mal de Caderas causado por el *T. Equinum*, se caracteriza por la debilidad de los cuartos posteriores, emaciación, debilidad, conjuntivitis, fiebre con remisiones y edemas; es fatal para los caballos de 1, 4 o 5 meses.

La Murrina o Derrengadera, cuyo agente etiológico es el *T. Hippicum*, tiene como manifestaciones principales: fiebre irregular, emaciación progresiva, anemia ligera, ictericia, debilitamiento y edema de las porciones declives.

Ilukewitsch⁹⁴ hizo un resumen de síntomas clínicos, cambios hematológicos y anatómicos, observados en la Derrengadera; las características morfológicas y biológicas de los organismos causantes (*T. Venezuelense*). La inoculación experimental de caballos y burros, reveló que

las diferentes cepas de tripanosoma varían considerablemente en virulencia; el autor discute el diagnóstico diferencial de la enfermedad y particularmente las dificultades para distinguirlo de la Anemia Infecciosa equina en Venezuela.

E) HEMATOLOGIA:

En los datos concernientes a cambios en la disposición, número o condición, que se presentan en los elementos sanguíneos de los receptores a la tripanosomiasis, Kalténbach y col.¹⁰⁶ nos presentan un trabajo sobre la fórmula leucocitaria en la Surra natural y experimental; el autor estudió la hematología en animales infectados con *T. Evansi* para obtener datos sobre la reacción defensiva de los huéspedes, la virulencia de los tripanosomas y el efecto de la terapia; se sometieron a examen caballos, camellos, conejos y ratones blancos, con el fin de observar tanto los cambios citológicos como la patología orgánica. En las infecciones naturales crónicas, el grado de leucocitosis regenerativa y el número de grandes linfocitos, corrieron paralelos al número de tripanosomas presentes en la sangre circulante, en cambio, la monocitosis fue constante.

Un curso crónico de la infección en conejos se caracterizó por leucocitosis regenerativa y leucopenia, demostradas al examen post-mortem; en ratas la infección fue aguda y caracterizada primero por un incremento de los neutrófilos; más tarde por leucocitosis regenerativa, y una linfocitosis final. El tratamiento con Suramina no varió el cuadro leucocitario, pero produjo un incremento eritrocítico; la granulación tóxica de los leucocitos neutrófilos fue observada en todas las ratas infectadas, y en la sangre periférica hubo fagocitosis de los eritro-

citosis por las células linfocitoides en dos oportunidades (igual que la granulocitosis observada por Lippi y col. en curies).

Infectando perros y cerdos con *T. Evansi*, Cabrera y col.²¹ notaron una exageración en las modificaciones regenerativas; se reflejó resistencia a la infección en las células blancas, como respuesta a la misma; en cerdos resistentes se observaron monocitosis y eosinofilia durante patentes períodos, mientras que los otros elementos, como los linfocitos, se redujeron sólo en forma moderada, comparados con el nivel subpatente; en los perros susceptibles, la respuesta a la infección se manifestó en la reducción de linfocitos y eosinófilos, la cual se modificó a medida que se intensificó la enfermedad. La lesión de la médula ósea y la poca resistencia se manifestaron por una severa reducción de neutrófilos y de linfocitos; dichos elementos sanguíneos estuvieron estrechamente relacionados, según resultó al hacer las respectivas curvas.

Un signo de la actividad de la enfermedad fue el elevado índice monocitofílico (M.L.I.), e indicó un grave pronóstico el alto índice neutrófilo-linfocítico (N.L.I.); el índice de cambios nucleares normales de M.L.I. y N.L.I. están generalmente comprendidos en el diagnóstico, y se incrementaron en el período prepatente. En el perro, el período prepatente duró de 3 a 8 días; la enfermedad presentó un curso agudo, y en ausencia de tratamiento terminó fatalmente en 4 a 32 días. Los cerdos no mostraron signos visibles de la infección, y al final del estudio todos estaban aparentemente sanos.

Las respuestas obtenidas por Edwards⁵⁰ de cabras y ovejas infectadas, se clasificaron en cuatro categorías: aguda, subaguda, crónica e inaparente. En la

primera el índice de infección permaneció alto durante todo el tiempo; hubo una rápida caída en la cuenta eritrocitaria y los animales murieron al cabo de pocas semanas. En la forma subaguda, el grado de invasión tripanosómica de la sangre periférica permaneció moderadamente con fluctuaciones apreciables día a día; el temprano y repentino descenso en el número de eritrocitos fue seguido por un breve período de recuperación, el cual pronto dio paso a otro descenso y a la muerte del animal al cabo de 3 a 5 meses. En la respuesta crónica, el grado de infección en los estados generales iniciales fue comparable al de la forma subaguda, pero más tarde declinó gradualmente hasta alcanzar una incidencia tan baja que los tripanosomas sólo fueron hallados en forma ocasional en los frotis sanguíneos; el valor de los eritrocitos, luego de un descenso inicial, mostró un grado variable de recuperación, pero por rareza recuperó los niveles normales. En el estado inaparente, los tripanosomas no fueron demostrados en frotis de sangre periférica, pero el número de eritrocitos descendió rápidamente y vino la muerte en el lapso de pocas semanas. En cuanto a la especie: la falta de sedimentación eritrocítica permaneció normal en cabras, pero se incrementó fuertemente en ovejas después de la inoculación. El plasma sanguíneo no mostró cambios en cuanto a su contenido proteínico normal, lo cual pudo estar relacionado con la presencia del parásito; el nivel plasmático de bilirrubina permaneció constante, y el valor del azúcar sanguíneo no mostró una alteración significativa, excepto en dos casos en los cuales hubo incrementos apreciables, poco antes de la muerte. La fragilidad osmótica de las células rojas no aumentó en ningún momento de la enfermedad en cabras. Con excepción de

aquellos casos en que sobrevino la muerte en forma temprana, el peso corporal total en la mayoría de los animales se redujo más o menos en un 30%; en cabras, la temperatura rectal varió de 101 a 105 grados F. (38.3 a 40.5 grados C.), pero no hubo una evidencia definitiva de que los mayores datos en temperatura estuvieran relacionados con la aparición de un mayor número de tripanosomas en la sangre. La electroforesis del suero demostró incrementos sustanciales de la gama-globulina en la mayoría de los animales; y al examen histológico se observaron significativos cambios patológicos, particularmente en hígado y pulmones.

En general, en infecciones experimentales por hemoflagelados, la sero-albúmina está fuertemente reducida en la Leishmaniasis¹⁰⁹, y moderadamente en las tripanosomiasis, tanto africanas como americanas; las sero-globulinas Alfa están notoriamente incrementadas en la Leishmaniasis y moderadamente en las tripanosomiasis; las sero-globulinas Beta y Gama están reducidas en las Leishmaniasis e incrementadas en la Tripanosomiasis. Aparentemente, la Leishmania Donovanii es el organismo de mayor primitividad; el mediano o vínculo de enlace es el Tripanosoma Africano, y el Tripanosoma Cruzi es el más avanzado de los hemoflagelados.

La sangre de bovinos normales, bajo ciertas condiciones referidas por Rabete, está sujeta a grandes cambios fisiológicos reflejados en resumen⁶⁴: en cambios del recuento de los glóbulos rojos, tamaño celular, hemoglobina celular y dilución del plasma; estas variaciones ocurren en el curso de un solo día, cuando hay alteraciones en el volumen de la sangre circulante y hemodilución; también hay variaciones periódicas, las cuales hacen parte de un ciclo eritropoyético. Parece

que un recuento disminuído de glóbulos rojos puede deberse a hemo-dilución, y en este caso con frecuencia puede acompañarse de un aumento en el número de eritrocitos circulantes. En los bovinos infectados con tripanosomiasis, la primera secuencia de una anemia oculta fue hidremia, es decir, que aunque el recuento de glóbulos rojos se redujo, el número circulante aumentó, pero más diluído. Más tarde apareció una verdadera reducción, acompañada por descenso de los sólidos del plasma. Hay dos estados de la enfermedad fuertemente contrastantes: el agudo, y el crónico, los cuales están separados por una crisis; durante los dos estados, son diferentes los factores responsables de los síntomas y patología de la enfermedad. Durante la fase aguda primariamente se desarrolla anemia severa, como resultado de la remoción y destrucción de los eritrocitos por el bazo y otros órganos; ésta se intensifica en el momento de la crisis por la hemólisis producida por hemolisinas emanadas del cuerpo de los tripanosomas al ser atacados por las tripanolisinas. Hemólisis y tripanolisis ocurren al mismo tiempo y producen los fenómenos de crisis y colapso; la anemia del estado agudo es macrocítica, la del estado crónico microcítica, menos severa y puede acompañarse por alto recuento eritrocitario; el hematocrito y la hemoglobina permanecen bajos, lo cual no es la causa primaria de la progresión de la enfermedad. Durante el estado crónico, la condición agotadora que lleva a la muerte es debida: a) A la reducción del volumen y sólidos plasmáticos, y por lo tanto del total de nutrientes para los tejidos, y dilución del plasma. b) A los cambios circulatorios, por lo cual el paso de nutrientes y oxígeno de la sangre a los tejidos es inconsistente; el resultado es una forma de inani-

ción fisiológica seguida por la muerte, aunque en estos casos tiene buenos resultados el alimentar muy bien al animal. En casos muy raros ocurre la recuperación natural, siendo escasas o ningunas las alteraciones en la composición del plasma; se ha visto que la anemia per-sé, no tiene mayor significado en el estado crónico.

F) METODOS DE DIAGNOSTICO:

Son numerosos los métodos ensayados con el objeto de intentar un diagnóstico lo más fiel y seguro posible de las tripanosomiasis de las diferentes especies animales, causadas por las variadas especies de tripanosomas. No hay en realidad un método standard que permita diagnosticar rápidamente la presencia del parásito, fuera del examen microscópico de frotis sanguíneos tomados del animal sospechoso; todos los demás sistemas intentados dependen en gran parte de la especie mamífera atacada y del género de parásito presente.

Diagnóstico clínico: Para ello es necesario tener en cuenta los síntomas más o menos específicos de la enfermedad en las diferentes especies animales y la forma de presentación; son importantísimos en este caso los datos anamnésicos de clima, presentación anterior de la infección, zona de origen, etc.

Se atribuye cierto valor diagnóstico a la hipertrofia ganglionar, edemas, paroplejia posterior, anemia. En el caso del cadáver, Curasson recomienda atender en las formas agudas a la esplenomegalia, y en las crónicas a los derrames de líquidos en las cavidades naturales.

Diagnóstico diferencial: Se confunde principalmente con las enfermedades anemizantes parasitarias e infecciosas; más frecuentemente y según la zona con

el carbón; gastro-enteritis verminosa, piroplasmosis por la ocasional bilirrubinuria, theileriosis, etc.

Diagnóstico microscópico: La búsqueda del parásito en la sangre y los humores no es siempre fácil a causa de las crisis tripanolíticas; algunos autores aconsejan la aplicación de diversas sustancias, con el fin de estimular la "salida" de los parásitos: así, Schilling y col.¹⁸ recurrieron a la inyección de adrenalina; Pellegrini a la de leche estéril; Poindexter utilizó la pilocarpina, etc. Curasson en el 40, para provocar la reaparición del T. Vivax en corderos inoculados, inyectó 5 c. c. de leche, vía subcutánea, y 2 ctgr. de pilocarpina i.v. No se recomienda el examen del líquido edematoso para la Durina, pero en general es bueno para las demás parasitosis crónicas.

La punción ganglionar podría recomendarse en los animales cuando hay una marcada hipertrofia ganglionar; es una prueba muy usada en la enfermedad humana. En la infección crónica por T. Vivax en los bovinos, Van Saceghem observó que los tripanosomas estaban siempre presentes en el material ganglionar, a pesar de no haberlos encontrado en la sangre.

La punción testicular se emplea únicamente en la Durina, y más que todo como confirmación al diagnóstico que como diagnóstico en sí.

La búsqueda, tanto en el líquido cefalorraquídeo como en la medula ósea, es de interés en el hombre, pero muy poco en los animales. El hemocultivo es un método aplicable para los tripanosomas patógenos difíciles de cultivar.

Brutsaert y Henrard cultivaron fácilmente varios tripanosomas con sangre infectada protegida por la coagulación, no con citrato de sodio sino con líquido Roche: polianeto-sulfonato de sodio.

Inoculaciones: Son indispensables para determinar el diagnóstico, sobre todo cuando las circunstancias hacen infieles los restantes métodos de laboratorio; se recurre generalmente a la sangre, y la vía de aplicación no tiene gran importancia, pero parece que el período de incubación es menor vía intra-peritoneal; la vía bucal no da resultado si no hay lesión. Se puede inocular también en el líquido cefalo-raquídeo, o el mismo líquido utilizarlo como material o inóculo, lo mismo que el líquido procedente de los edemas, especialmente en el caso de la Durina.

Xenodiagnóstico: No ha tenido importancia sino en el diagnóstico de las tripanosomiasis humanas por T. *Cruzi*.

Reacciones alérgicas: Muchos autores han intentado el obtener respuestas por inoculación de sustancias específicas; Lafranchi y Sani describieron un método por inyección intra-dermo-palpebral con emulsiones de tripanosomas en glicerina o agua; las reacciones fueron características, hubo de tipo local en todos los ensayos, y generalmente sólo en los animales enfermos.

Van Saceghem, en el 22, ensayó la *Tripanoleína* obtenida sobre medio *Gelosa* adicionado con sangre desfibrinada fuertemente infectada; a los tres días de incubación se suspende en suero fisiológico y glicerina neutra y se conserva por adición de ácido fénico; la reacción que se presenta por aplicación de 1 c. c. es genérica no específica.

PRUEBAS SEROLOGICAS:

Formol-Gel: Consiste en la floculación que sufre un suero positivo al ser colocado bajo la acción del formol, luégo de haber permanecido un tiempo prudente bajo la acción de dicho elemento a la temperatura ordinaria. Van Saceghem,

experimentando con sueros bovinos infectados en 1925, llegó a la conclusión de que esta prueba no es útil para diagnosticar las tripanosomiasis bovinas por *Vivax*; sin embargo, Ledentu y Vaucel, en el 27, concluyeron la superioridad de este método sobre la auto-aglutinación en el diagnóstico presuntivo de la enfermedad.

Floculación: Las moléculas de globulina, de mayor peso en el suero, tienen la tendencia a precipitar y romper así el equilibrio coloidal con la sola adición de agua destilada; sobre todo, se ha manifestado en esta forma la euglobulina en muchas enfermedades infecciosas. Entre las reacciones de floculación más conocidas en el campo de la tripanosomiasis, está la del Cloruro Mercurico de Bennet y Kenney en 1923: consiste en poner en contacto 1 gota de suero con 1 c. c. de la sol. de sublimado al 1:20.000; la positividad se manifiesta en un lapso de un cuarto de hora; los autores recomiendan este método en las tripanosomiasis bovina y equina. Otros investigadores no aceptan su fidelidad. Otra reacción al sublimado se consigue con el ácido azótico, descrito también por Benney y Kenney en 1928, consiste en adicionar 1 gota de suero a 1 c. c. de reactivo (dil. de ácido 1:8, 1:5, 1.3%); tampoco se ha dicho la última palabra en cuanto a la calidad de esta prueba.

Otros sistemas ensayados han sido los de diaria utilización en el caso de la sífilis, como la reacción del suero con la lecitina en sol. en suero fisiológico.

Se presentó una floculación del suero de enfermos en presencia de un antígeno obtenido a partir de corazón de corderos tripanosómicos. Curasson, en varios ensayos, no logró resultados completamente satisfactorios en corderos y chivos infectados con T. *Vivax*.

La reacción de la goma coloidal ha sido utilizada por Guillaini y de Leze en 1934, especialmente en humanos.

Mencionamos, a modo de información, otras reacciones utilizadas, o mejor, ensayadas en el diagnóstico de la tripanosomiasis: La del surfasenol y formol-neostibosane. La melano-reacción. La sero-floculación palustre. Los métodos de precipitación como el de la Tripsina; extractos alcohólicos tripanosómicos, etc.

Griffiths y col.⁷² aplicaron la reacción de la resina coloidal de Cutting al plasma sanguíneo de conejos, ratas, corderos, toros y otros mamíferos infectados, el cual daba resultados negativos; esta prueba detecta los cambios en la reacción albumínica-globulínica en el fluido cerebrospinal.

Un método rápido y simple para determinar la surra latente en el ganado fue comparado favorablemente con la Fijación de Complemento y la prueba alérgica por Ray y col.¹⁴⁰; consiste en poner en contacto una gota de suero bovino sospechoso fresco, inactivado a 56°C.; con 0.5 c. c. de una sol. de stilbamidina al 10%. La reacción positiva es evidente cuando la gota coagula inmediatamente y cae al fondo del tubo en una masa única grande que disuelve en 5 a 10 minutos: se lee significándolo con tres cruces; cuando el coágulo se hunde en grumos grandes, dos cruces; o en pequeños fragmentos, una cruz; en este caso último esos fragmentos disuelven lentamente. La reacción negativa consiste en que el coágulo flote, forme un anillo en la superficie y disuelva rápidamente en dos minutos. El suero de ganado infectado con otro hematozoario o protozoario sanguíneo se comportó negativamente. El suero de caballos y mulas infectados con T. Evansi también dio reacción negativa.

Adhesión y aglutinación: Rieckemberg, en el 17¹⁸, observó la adhesión de los tripanosomas a las plaquetas sanguíneas; la especificidad de la reacción no reside en las plaquetas, pero depende de un principio específico del fibrinógeno: la trombocitobarina; así la reacción se produjo con el plasma, no con el suero; los anticuerpos son termo-estables, y al hacer la prueba se necesita la presencia de complemento.

Raffalovich¹⁴⁹ afirma que la aglutinación es el único medio de diagnóstico aplicable para todas las especies de animales domésticos; esta especificidad fue demostrada por pruebas en ratas; el antígeno se preparó con tripanosomas lavados con formalina diluida y probado frente a sueros de oveja, burro y perro, previamente diluidos; se hicieron cerca de 1.541 pruebas de aglutinación rápida en diferentes especies animales y hubo concordancia entre los resultados obtenidos y la apariencia clínica de los animales, algunos de los cuales manifestaban claros síntomas de la enfermedad.

En pruebas de aglutinación también se emplea un antígeno a partir de tripanosomas aislados por centrifugación y emulsionados en sol. salina; los parásitos pueden aglomerarse entre ellos, o adherirse a los leucocitos y a las plaquetas, lo cual para Rieckemberg solamente tiene un valor en cuanto a la distinción de las especies, pero no en cuanto al diagnóstico, debido a que las diferentes especies parasitarias producen diferentes formas de aglutinación. La reacción de los sueros también se presentó con tripanosomas muertos; los títulos alcanzados según Lange fueron bastante altos; él hizo numerosas pruebas incubando durante 12 horas a 37 grados C., y luego llevando a temperatura ambiente por 12 a 24 horas.

La auto-aglutinación eritrocitaria fue observada por primera vez por Hkanthack Durham y Blandford en 1898, en las preparaciones de sangre en las cuales se pierde la disposición normal de los eritrocitos, los cuales se disponen en masas irregulares; sin embargo Yorke, en 1911, afirmó que las auto-aglutininas pueden estar en menor cantidad en la sangre normal, ya que hubo aglutinación cuando la sangre fue expuesta a 0 grados C. Los tripanosomas, como los espirilos y los piroplasmas, presentan la auto-aglutinación de los hematíes, la cual puede tener un valor indicativo.

Hemólisis condicionada: Expuesta por Muniz y col.¹²³, en 1950; el suero a investigar se inactiva y se absorbe primero con riñones de curí y luego con células normales de oveja, para remover todos los anticuerpos heterófilos; en la misma forma, el complemento de curí es absorbido dos veces con glóbulos rojos normales del animal que proporciona los eritrocitos a sensibilizar. Para preparar la sustancia polisacárida usada para la sensibilización, los cultivos de tripanosoma son filtrados y lavados en centrífuga con sol. salina normal; luego al sedimentado se le agrega formamida, la suspensión se agita y se calienta con glicerina; luego de fría se le agrega una mezcla de alcohol y 2N HCL; se remueve la fracción insoluble por centrifugación, y al líquido sobrenadante se le agrega acetona pura, la cual produce la precipitación de la parte activa; ésta es separada y secada, se le adiciona salina y se ajusta el pH; la sol. se deja luego por una noche a 5 grados C.

Para sensibilizar los glóbulos, se lavan con salina, se les adiciona el polisacárido y la mezcla se incuba por dos horas a 37 grados; ya para efectuar la prueba se hacen diluciones seriales de suero, las cuales se mezclan con 0.5 c. c. de glóbulos sen-

sibilizados y 0.05 a 0.1 c. c. de complemento; la suspensión se incuba a 37 grados; la lectura se hace después de una o dos horas, y la mayor dilución de suero a la cual se produce hemólisis, es considerada como título. Esta reacción difiere de la hemólisis serológica normal en que la especificidad es determinada por los polisacáridos absorbidos y no por las células; este método fue empleado sobre todo en el caso de los diagnósticos de Chagas, pero sería interesante su ensayo en las tripanosomiasis animales.

Desviación de Complemento. — Durina: Los primeros ensayos que se hicieron en este campo fueron con la Durina, Levaditi en 1909 y otros; pero quien realmente dio una pauta con explicación de los detalles sobre la titulación del antígeno, su obtención y los mismos procesos en cuanto a los demás elementos de la prueba, fue Watson, en 1915; la precisión de su sistema le permitió erradicar la Durina del Canadá, teniendo en cuenta, claro, que es una afección atípica en la cual excepcionalmente se puede descubrir el parásito.

Los tipos de antígeno empleados han sido muy variados: extractos de órganos normales, extractos de bazo e hígado de animales infectados, extractos de tripanosomas aislados o cultivados, etc.

Mitscherlich y col.¹¹⁶ hicieron un estudio comparativo sobre la efectividad de la Fijación de Complemento y la prueba del formol-gel en el diagnóstico de la enfermedad a priori; aunque la Fijación de Complemento no es específica al tipo de tripanosoma, puede ser usada con entera seguridad en lugares en donde las especies que se presentan han sido claramente definidas y estudiadas; a causa de la fluctuación en los anticuerpos contenidos en el suero, un animal es reconocido como sano únicamente cuando

tres pruebas consecutivas, a intervalos de tres o cuatro semanas, son negativas.

Domansky²⁹ utilizó como antígeno un extracto acuoso o una fracción nucleoproteínica del parásito; los dos fueron igualmente eficaces cuando frescos, pero fue más estable el último. Las sustancias lipóideas en un extracto interfieren la reacción con este antígeno y se consiguen resultados un poquito menos satisfactorios.

Robinson tuvo bajo observación una serie de animales que dieron resultados positivos a la Fijación de Complemento¹⁴¹ para la Durina; algunos duraron hasta 5 años manifestándose fuertemente positivos, sin que llegaran nunca a presentar ningún síntoma. En cuanto a los métodos de preparación del antígeno, han sido muchos los ensayados: Así Kaplan, en 1949 describe el sistema usado por el V. S. Bureau Animal; los tripanosomas son obtenidos de ratas blancas infectadas por sangría cuando la sangre está altamente infectada; el líquido antigénico obtenido, lavado por resuspensión en sol. salina fis. y sol. de glicerina, se guarda unas pocas semanas; por congelación el material puede ser guardado por más de 4 años, sin perder la sensibilidad¹⁰². Hadju y col.¹²² discuten la técnica para la preparación de extractos antigénicos de la sangre de perros inoeculados por vía intravenosa con sangre de curí infectado con T. Equiperdum; la preparación se hizo a partir de tripanosomas aislados de la sangre de los perros: salinos, fenolizados unos, y alcohólicos otros, los cuales resultaron ser menos eficaces.

Muller expuso una técnica similar al método empleado por el Bureau Americano, a partir de ratas infectadas sangradas en el octavo día de la infección⁸²; esa sangre se recogió en sol. salina con citrato de sodio, se filtró y se centrifugó;

con este tratamiento los parásitos se reunieron en la superficie de los eritrocitos y entonces se eliminó el sobrenadante con algo de la capa eritrocitaria; el sedimento se lavó varias veces con salina y luego con agua destilada; este producto se mezcló a partes iguales con glicerina al 50% en sol. salina.

Kujunigiev, en el 47, afirma que los tripanosomas obtenidos de las ratas blancas constituyen el antígeno más satisfactorio en el sero-diagnóstico de la Durina; algunos perros empleados, lo mismo que equinos y cerdos, no dieron buen resultado.

Luego de numerosos ensayos sobre el incremento de la sustancia tripanosómica obtenible de la sangre de perros infectados, los mejores resultados se obtuvieron por esplenectomización de los perros antes de la inoculación, y aplicando un antihistamínico durante el desarrollo de la infección⁸⁶. Para mejorar el rendimiento del material obtenido de ratas, los autores encontraron que 5 mgrs. de Efedrina, aplicados en el momento máximo de la infección⁴⁰, incrementaba notoriamente la cantidad de material a obtener.

Mitscherlich¹¹⁶ describió un método simple para la preparación de antígeno hidrosoluble; sangre de perro citratada se centrifuga, y el sedimento que aprisiona tanto los parásitos como los eritrocitos, es hemolisado; se adiciona una mezcla a partes iguales de glicerina y salina en proporción de 1:2 y se agita con perlas de vidrio durante 8 o 9 horas; este producto es el antígeno. Un método nuevo también es el siguiente: cuando la sangre de perros contiene gran cantidad de parásitos, es recogida en citrato y mezclada con suero sanguíneo de conejos repetidamente inyectados con glóbulos rojos de perro; la mezcla se guarda a 42 grados C., y mientras que los eritrocitos

se aglutinan y caen al fondo, los parásitos ascienden a la superficie; esta separación puede ser ayudada con la centrifugación, y la película superficial es entonces mezclada con acetona y desecada ¹¹⁷.

Todos estos diferentes sistemas de preparación de antígenos tienen interés por cuanto podrían ser objeto de ensayo con géneros de parásitos diferentes al *Equiperdum* o con este mismo en zonas afectadas, para lograr un diagnóstico precoz de la infección.

Grunnert y col. ⁶⁷ realizaron un estudio comparativo sobre el valor de diferentes métodos en el diagnóstico de la Durina; 50 caballos sospechosos de la enfermedad fueron probados por: hemaglutinación del complemento, fijación del complemento, formol-gel y aglutinación; la última pareció ser la más sensible, presentando 41 casos positivos y 9 negativos; la dificultad estuvo en la pobreza de la calidad de la suspensión tripanosómica y la frecuente auto-aglutinación; así, pues, esta prueba no se recomendó para trabajos a alta escala. La del formol-gel es indudablemente la más simple, y aunque ésta reacciona también al muermo, puede ser superada con una subsecuente prueba Malleínica en lugares en donde esta enfermedad es frecuente. De esta forma, en nuestro medio, especialmente en la Guajira, en donde parece que se está presentando la Durina, no existiría problema para su utilización; los resultados: 34 positivas, 7 negativas, 9 dudosas.

La Hemo-aglutinación del Complemento es una modificación de la Fijación; se usa como complemento el suero normal de caballo y suero normal de bovino como amboceptor, y células sanguíneas de cerdo, que son substituídas por las de cordero. Los resultados obtenidos, usan-

do un antígeno acuoso, fueron idénticos a los logrados con la Fijación del Complemento: 31 positivas, 7 negativas y 9 dudosas. Con antígeno alcohólico hubo 20 positivas, 4 negativas y 26 dudosas.

Surra: Ray y col. ¹⁴⁹ trataron de comprobar el valor de varios métodos químicos para detectar la Surra latente en bovinos; encontraron que para todos los propósitos prácticos, la prueba de la Stilbamidina, descrita por el mismo autor, es tan segura como la Fijación de Complemento. Otras pruebas tales como la del formol-gel, cloruro mercúrico y ácido nítrico, dieron resultados variables. Así como la tripanosomiasis en el camello pudo ser detectada por el Cloruro Mercúrico de Bennet mejor que por la Fijación de Complemento, la Stilbamidina podría lograr el mismo propósito en la mayoría de los casos de Surra en el ganado. Así en pruebas paralelas con el suero de 12 toros aparentemente sanos, usando tanto la Fijación de Complemento como Stilbamidina, un toro dio reacción positiva a la última prueba, mientras que fue negativo a la primera ³⁷; también fue negativa una prueba alérgica, y todos los conejos y ratas inoculados con sangre de ese toro, murieron y fue posible la comprobación del parásito en los frotis sanguíneos. Sin embargo, para dar la última palabra en cuanto al valor de dicha prueba, es necesario insistir con trabajos en gran escala en diferentes zonas atacadas por la enfermedad.

En cuanto a la Fijación de Complemento, Kelser ¹⁶ afirma que se puede usar con éxito en el diagnóstico de la Surra, tanto en bovinos como en equinos, y que no duda de sus cualidades en intentos para detectar infecciones en el ganado por tripanosoma *Vivax*; esto en contra de las afirmaciones de Curasson, quien en 1940 da como definitiva la in-

validez de la prueba frente al tripanosoma *Vivax*, el ínfimo valor frente al *T. Congolense*, y la posibilidad de su uso frente al *T. Brucei*. Los tipos de antígenos son también muy variados en este caso, pero hoy se emplean generalmente aquellos obtenidos por extracción del sedimento luego de la centrifugación de sangre rica en parásitos, obtenida de animales infectados, principalmente de rata blanca.

En ensayos que le permitieron aislar de manera más rápida y efectiva los tripanosomas de sangre infectada, Yeager²⁰¹ utilizó una sol. comercial de fitoaglutinina, la cual fue adicionada a la sangre heparinizada con el objeto de remover los glóbulos rojos; los parásitos del líquido sobrenadante fueron concentrados por simple centrifugación.

Se demostraron anticuerpos específicos en el suero de ovejas y de ratas blancas infectadas con *T. Vivax*, por slide-test y pruebas *in vivo*. Las ratas blancas son completamente resistentes a la infección con *T. Vivax*; un factor en el suero a bajo título, aglutina y lisa los tripanosomas y parece ser específico; cinco especies distintas de tripanosomas no fueron afectadas por el suero de esos animales; el *T. Vivax* tampoco fue afectado por ningún otro suero de mamíferos. El factor no es dializable y es inactivado por el calor a 64 grados C. durante media a 1 hora; la separación electroforética indica que ese factor está asociado con la Beta y Gama globulinas de mayor movilidad; se sugirió que es una globulina producida sin estímulos externos, cuya fortuita construcción es tal que reacciona con antígeno tripanosoma *Vivax*¹⁷⁶.

Sueros de ovejas en el más tardío estadio de la infección con *T. Vivax* están desprovistos de acción suplementaria en el facilitamiento de la infección de ratas

blancas con las mismas especies³⁵, la presencia de anticuerpos tripanocídicos y aglutinantes en el suero infectado de ovejas, es demostrable *in vitro*; la ausencia de acción suplementaria de ese suero parece deberse a la presencia de esos anticuerpos. Tanto los tripanosídicos como los aglutinantes no son demostrables en el suero en estadios tempranos de la enfermedad, pero el título aumenta a medida que la infección progresa; esos anticuerpos no ejercen ningún efecto demostrable sobre la coexistencia de los parásitos o sobre los parásitos obtenidos de la oveja en la primera fase de la infección con cepas homólogas; ello tiene, sin embargo, una poderosa acción sobre los tripanosomas de cepas homólogas en ratas.

Los anticuerpos, presentes en el suero de ovejas infectadas, son activos frente a tripanosomas lavados tomados de la sangre de la cual el suero fue obtenido, y frente a aquellos parásitos lavados, tomados de la sangre de ovejas infectadas con cepas homólogas. En ningún caso esos anticuerpos son activos frente a tripanosomas no lavados; estas marcadas diferencias en la actividad de los anticuerpos sugiere la presencia de un factor anticuerpo-protector, el cual protege los tripanosomas presentes en la sangre de ovejas infectadas, frente a anticuerpos producidos contra ellos. Así la evidencia hace pensar que este factor es idéntico o está asociado con las sustancias presentes en el suero de oveja limpio, las cuales facilitan la infección de ratas blancas con *T. Vivax*; los anticuerpos descritos parecen ser específicos para la cepa de *T. Vivax*, frente a la cual se desarrollaron.

Anticuerpos tripanolíticos son demostrables en el suero de ratas convalecientes de la infección con *T. Vivax*; fueron

específicos para los tripanosomas de líneas homólogas en ratas, pero inactivos contra tripanosomas presentes en ovejas infectadas por inoculación i. venosa de sangre de ratas de la misma línea.

Chagas: Anoto aquí algunos datos respecto al diagnóstico de la Tripanosomiasis Americana de los humanos, debido al hecho de que el trabajo experimental en bovinos, expuesto en la segunda parte de este trabajo, fue hecho utilizando un antígeno preparado con *T. Cruzi*, aprovechando las posibles reacciones cruzadas que se pueden presentar entre un extracto de tripanosomas de esa especie con los anticuerpos producidos por diferentes especies como pueden ser el *Evanisi* y *Vivax* en nuestro medio.

Entre las pruebas de Fijación de Complemento están: la enunciada por Kelsner en 1936; el antígeno utilizado es un extracto de cultivo de tripanosomas recogido en agua destilada, se centrifuga y se recoge el sedimento en sol. salina normal; se lavan los parásitos y el sedimento se suspende en dos volúmenes de sol. de glicerina al 50% en sol. salina; se conserva en congelación, y se procede a la titulación frente a sueros positivos y negativos, con sus respectivos controles. Se observaron numerosos casos de positividad conocida, con el fin de constatar la efectividad de la prueba; no se observaron reacciones cruzadas con la reacción de Wasserman; en cambio sí se presentaron en gran número con antígenos preparados a partir de *T. Equiperdum* e *Hippicum* principalmente.

Otro sistema es el expuesto por Guerreiro y Machado, por primera vez dado a conocer en 1913. El antígeno es un extracto acuoso de bazo de cachorros infectados con *T. Cruzi*; se pica y tritura el órgano con agua destilada fenolada al 1%, se filtra y se le agrega dos veces su

volumen en sol. salina al 1.7%; se filtra, y ese producto es usado como antígeno. En la práctica se afirma que los antígenos preparados en esta forma, varían mucho en su poder antigénico y que en ocasiones lo pierden completamente; además, tiene el defecto de contener no solamente extracto de los parásitos, sino elementos inespecíficos de origen tisular; sin embargo, numerosos ensayos han dado a esta prueba un gran valor, sobre todo en el caso de infecciones crónicas.

Un tercer sistema de Fijación de Complemento en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas es el suministrado por Villela y Bicalho en 1923; se trata de una modificación de la técnica de Guerreiro y Machado; el antígeno se obtiene de corazón y bazo de cachorros fuertemente infectados; al producto de la trituración se le agregan dos partes de agua destilada, glicerina y fenol; se deja a la temperatura ambiente 48 horas, se filtra y se coloca en hielo hasta que aparezca el sedimento, el cual es usado como antígeno después de una nueva filtración.

G) COMPROBACION DE LOS DIFERENTES GENEROS:

Tripanosoma suis: Su estudio en infecciones naturales y experimentales en el cerdo, lleva a la conclusión de que al comienzo de una infección, e inmediatamente después de un lapso, se encuentran siempre tripanosomas del tipo congolense y formas raras con un flagelo libre. A medida que la enfermedad progresa, decrece el número de las formas Congolense, mientras que las Rodhaini y suis, con un flagelo libre, aumentan, hasta el punto de que solamente prevalecen ellas, en gran proporción ya flageladas. Parece que cuando ocurre la multiplicación rápida predominan los tipos

largos, retardados; llama la atención el hecho de las diferentes dimensiones encontradas por los diferentes autores, lo cual puede ser debido a haber realizado el examen en diferentes estadios de la infección. El método de la multiplicación por división es algo discutido y se sugiere que el flagelo aparece descompuesto, tanto más cuanto un nuevo flagelo proviene de los centrosomas, como ha sido descrito¹⁰⁹.

Según Stewart y col.¹⁵⁹, ninguna de las especies de *T. Brucei*, *Vivax* ni *Congolense* parecen causar síntomas clínicos de tripanosomiasis en los cerdos; el autor inoculó animales Large Black, y la infección con las tres especies se estableció rápidamente, como se demostró por el examen de los frotis. Parece, pues, que la única especie naturalmente patógena para el cerdo es la suis.

Un tripanosoma polimorfo fue encontrado en la sangre de una cabra picada por una *Glossina*; el protozooario se mostró generalmente corto y regordete, con quinetoplasto sub-terminal y marginal; el núcleo largo y granular, y en la mayoría de los especímenes localizado en la parte posterior del cuerpo; flagelo grueso estrechamente aplicado a la superficie corporal y en muchos individuos, 67%, libre del citoplasma hacia su extremidad anterior. Se inyectaron con sangre contaminada unos cuantos animales de laboratorio y ovinos, pero solamente las cabras y ovejas fueron susceptibles; al pasar cíclicamente dichos parásitos a través de *Glossina* a animales susceptibles, mantuvieron su morfología original¹⁵⁴.

Tripanosoma Theileri: En un examen en masa hecho por los autores Sasaki y col. para determinar piroplasmosis bovina, encontraron en los frotis sanguíneos un gran tripanosoma, el cual fue identificado como *T. Theileri* por su morfolo-

gía, menor importancia patógena y distribución¹⁵⁸.

También fue hallado ese tripanosoma en Illinois¹¹², en frotis sanguíneo de una novilla de 2 y medio años de edad, la cual presentaba diarrea y atonía del rumen, y había abortado tres semanas antes. Se inyectó vía i. venosa un ternero con sangre citratada, y un día después se le encontró el tripanosoma en la sangre; cuatro días después presentó depresión y fiebre alta; los hemoflagelados fueron encontrados en frotis aún 12 días luego de la inoculación, pero en un nuevo examen al cabo de los dos meses se halló un número muy reducido. Ningún parásito se halló en frotis de la madre ni de la hermana de la novilla.

Según Dickmans y col.³⁹, un organismo activamente móvil, identificado como *Tripanosoma Theileri*, fue hallado en el contenido estomacal de un feto bovino abortado durante el octavo mes de gestación. Se obtuvieron cultivos de dicha especie de tripanosoma en un medio con sangre lisada, incubado a 36 o 37.5 grados C., luego de haber sido inoculado con sangre proveniente de vacas que mostraron una producción láctea subnormal. Los organismos fueron vistos primero: a los cuatro días en el primer subcultivo, alcanzando un máximo de cerca de 500.000 por c. c. sobre el cuarto día del subsecuente pase. Predominaron la forma de *Crithidia* y los tripanosomas, los cuales también fueron numerosos; las vacas infectadas, a pesar de estar libre de helmintos, presentaron marcada eosinofilia. No se obtuvieron cultivos de vacas con producción láctea normal¹⁵⁸.

Herbert y col.⁹², en el 61, describieron una tripanosomiasis bovina debida a tripanosoma *Theileri*; el caso ocurrió en una vaca Shorthorn de seis años, la cual había parido recientemente; no fue de-

mostrada la presencia de ningún otro organismo patógeno, a pesar de poseer el animal un alto título de positividad a *Salmonella* Dublin; el aislamiento original se hizo por cultivo en agar sangre inclinado; el artrópodo vector del organismo no se comprobó, aunque los agentes parecieron ser moscas chupadoras.

En la misma forma, Stimimann¹⁵⁶, durante una emergencia de sacrificios en Lucerna, ya había apreciado la aparición de gran cantidad de tripanosomas tipo Theileri, en frotis sanguíneos e hígado de vacas que habían presentado la siguiente sintomatología: respiración angustiosa, pulso rápido y cesación de lactación, rumia y defecación; no se presentó fiebre. La superficie posterior de la ubre estaba manchada de sangre, y el recto contenía heces sanguinolentas, además de sangre coagulada. Tejidos subcutáneos, zonas submucosas y subserosas hemorrágicas, y también hemorragias en el parénquima hepático, riñones y bazo.

En 1959 fue demostrado un *T. Theileri* no patógeno para curies y ratones en un cultivo primario de células renales de feto bovino¹¹⁴; se consideró que el protozoario es un contaminante potencial de los tejidos de ciertos mamíferos, y que pudo interferir el trabajo de cultivos tisulares en regiones en donde son comunes las infecciones tripanosómicas.

Sin embargo, de los anteriores casos comprobados podría deducirse una posible patogenicidad del *T. Theileri* para los bovinos, sobre todo en el caso de hembras en gestación; como este protozoario es frecuente en nuestro medio, sería interesante prestar atención a su presentación por cultivos o frotis sanguíneos, en casos clínicos de bastante exactitud, a fin de considerar su posible acción como agente patógeno.

Tripanosoma Evansi: Kraneveld y colaboradores⁹⁹ comprobaron la Surra en tres cerdos, dos con síntomas severos y uno con síntomas leves; se determinó que el agente causal era el *T. Evansi*, por su morfología y patogenicidad para varias especies animales. Iyier⁹³ hace una descripción de síntomas y condiciones observados por él, en bueyes, novillas y terneros mestizos, cuyos frotis sanguíneos fueron positivos al *T. Evansi*.

Mudaliar y col.¹¹⁸ trataron los problemas de los portadores y vectores de la Surra en bovinos y de la tripanosomiasis en general; el ganado permanece portador por cerca de seis meses, y en ausencia de re-infección los bovinos, aparentemente recuperados, son una continua fuente de contagio. Se encontraron fetos momificados en cinco madres infectadas experimentalmente con *T. Evansi*; también se demostraron los parásitos en algunos fetos de perros y curies infectados, pero no en cerdos recién nacidos, gaticos ni fetos de gata ni en conejos ni ratas blancas de madres infectadas¹⁰⁷.

Tripanosoma Equinum: Inoculados cuatro bovinos con sangre de caballo infectado con *T. Equinum*, los tripanosomas fueron observados en frotis por períodos superiores a 110 días después de la inoculación. Ninguno de los bovinos presentó síntomas y, por ello, se sugirió la posibilidad de que los bovinos actúen como reservorios de la infección¹⁸⁸.

Durante una investigación del Mal de Caderas en caballos, hecha por Boehringer y col.¹⁶ en 1960, varios cerdos desarrollaron parálisis posterior por causas desconocidas; sin embargo, los experimentos demostraron que los cerdos no eran susceptibles a la infección. Después de la aplicación subcutánea o intraperitoneal, el parásito estuvo presente en la sangre por 42 días, sin haber sido visto

en frotis, pero con la sangre se infectaron ratones. Se concluyó que los cerdos pueden actuar como huéspedes temporarios del *T. Equinum*.

El mismo autor en 1961 publicó sus observaciones en 41 bovinos mantenidos en pastoreo con caballos infectados con *T. Equinum*; cinco acogieron la infección¹⁷. Pruebas sobre animales de laboratorio, caballos y bovinos, revelaron que el protozoo predominó en su invasión al sistema circulatorio, durante 20 a 25 días. Frotis gruesos tomados al tiempo de la inoculación fueron positivos en algunos animales; así, según lo anteriormente expuesto, el ganado puede ser un reservorio del *T. Equinum*.

Tripanosoma Vivax: Se comprobó la enfermedad en una yegua vieja¹⁷⁰; comenzó con urticaria, seguida a los cuatro días por fiebre, anorexia e ictericia. Un gran número de parásitos se encontraron en los frotis sanguíneos; el animal se recobró rápidamente con una dosis simple de Bromuro de Etidio, 1 mgr. por kilo, en sol. acuosa al 2%, vía i. m.

En Venezuela parece existir un ciervo (*odocoileus gymnotis*) sospechoso de ser portador del *T. Vivax*, según hallazgos de Fiasson y col.⁵⁴ en el 48; la observación se hizo en una zona muy afectada por la protozoosis.

La serie de casos de tripanosomiasis inaparente en animales que normalmente no sufren la enfermedad, sobre todo cuando se trata de determinadas especies parasitarias, nos llevan a la conclusión de que muchos mamíferos distintos a los susceptibles desempeñan un papel de receptores albergando el protozoo y siendo probablemente responsables de brotes en las especies animales altamente sensibles. Estos son datos dignos de tenerse en cuenta en cuanto a la profilaxis de la enfermedad se refiere.

Tripanosoma Cruzi: Diamond y col.³⁸ demostraron la infectividad de una cepa de *T. Cruzi*, recientemente aislada de Mapache, para cerdos, ovejas y cabras, aun cuando ninguno presentó síntomas de la enfermedad. En los ovinos se presentó una corta parasitemia con temperatura durante la segunda semana, y persistió por algunos días. La infección permaneció en forma latente en cabras por espacio de un mes y ocho semanas en ovejas; en cerdos no se observó la parasitemia, pero la infección permaneció latente durante 8 semanas.

II) CONTROL Y PROFILAXIS:

Durina: En cuanto a la erradicación de la Durina en Austria, Golaszewiski⁶⁶ afirma que solamente se puede lograr por medio del control de los puestos de monta y criaderos; recomienda el tratamiento de los sementales con Neosalvarsán, sin que ello interfiera con su capacidad reproductora.

En Rusia el control se basa en la rutina del cuadro clínico, pruebas de sangre y serológicas, tratamiento de animales conocidamente infectados y castración de reproductores infectados, sin pedigree; el tratamiento puede repetirse de uno a quince meses y los reproductores prestan servicio un año después del mismo con eficacia, cuando las pruebas diagnósticas de rutina son negativas; esto tanto para la Durina como para la Surra¹⁰⁸.

Surra: Para una afortunada erradicación de la Surra Bovina, algunos de los puntos de mayor importancia son la determinación de los portadores, su tratamiento y el control de los dípteros picadores¹¹⁸.

Un tratamiento profiláctico y curativo efectivo contra la Surra se logró aplican-

do vía i. v. una dosis terapéutica de Naganol, 1 gr. por 200 libras de peso en sol. al 10%, y una semana más tarde una serie de medias dosis de tártaro emético, 0.5 grs. por 400 libras en sol. al 2%, cada 3 a 4 días durante 3 a 6 semanas. Se curaron tantos casos de infección natural como de infección experimental sin recaídas ni efectos secundarios; parece que el Naganol (Suramina) es una droga que sensibiliza al *T. Evansi* a la fagocitosis, y probablemente hace al parásito más sensible al tártaro emético, el cual es mantenido a un bajo nivel en la sangre³².

Holz⁸⁸ administró una sol. al 2% en agua destilada de 1 gr. de Suramina por cada 150 kilos, vía subcutánea o i. m. a bovinos, con el fin de protegerlos de la Surra; en la mayoría de los animales se observaron inflamaciones locales y necrosis; sin embargo, cuando se adicionaron 50 unidades de Hialuronidasa a la sol. hecha con 3 grs. de la droga, la absorción siguiente a la aplicación i. m. fue rápida, sin reacción local y bien tolerada. La acción tripanocida de la droga no se afectó por la adición de la enzima desde que los animales tratados resistieron la aplicación subcutánea de 4.000 a 6.000 tripanosomas del grupo *Evansi*, 4 semanas después del tratamiento.

Para la Tripanosomiasis bovina, el Etidio-suramina tuvo que ser administrado en sol. acuosa, debido a su baja solubilidad; dosis de 5 a 10 mgrs. por kilo, subcutáneo o i. m. en el cuello, dieron buena protección con poca o ninguna toxicidad general, pero las reacciones locales fueron severas, lo cual impide su uso en el campo. Cuando se administró solubilizada en aceite, en dosis no mayores de 5 mgrs. por kilo como una implantación en la papada, las reacciones fueron de menor severidad. Se observaron muy in-

tensas luégo de la aplicación subcutánea, menos i. m. y aun menor si se dividió la dosis; en condiciones de infección natural fuerte, la protección fue de 6 a 12 meses. Las probabilidades de esta droga están enormemente limitadas por su toxicidad, independientemente del modo de administración y por las severas reacciones locales¹⁷¹.

Se hizo una encuesta en ganado Cebú infectado con *T. Vivax*, en cuanto a la actividad profiláctica de los compuestos de Suramina, Antrycide, Bromuro de Etidio, Berenil, Protidium, R. D. 2902. Parece que los compuestos de Etidio son los más promisorios; el mínimo período protectorio fue de 216 a 385 días, con dosis de 5 a 10 mgrs./k., con reacciones locales. El Protidium a 2 mgrs./k. protegió por 144 días. El R. D. 2902, 280 días. El Antrycide Metil Sulfato complejo protegió de 137 a 162 días, a dosis rata de 20 a 40 mgrs. por kilo; son más recomendables los complejos, por el hecho de ser menos tóxicos, y en este aspecto se portó mejor el Antrycide que el Bromuro de Etidio.

Sobre la droga-resistencia en cepas de tripanosomas en contacto con los animales tratados con los compuestos, se observó que animales vueltos atrás en el tratamiento con dosis originales de compuestos de Etidio, se curaron rápidamente, mientras que aquellos vueltos a tratar con doble dosis original de Antrycide, sufrieron recaídas⁴³.

Fiennes en 52⁵⁶ revisó los trabajos respecto de la aplicación del Antrycide en el control de la tripanosomiasis en el ganado; se observó que la profilaxis producida por esta droga no fue una inmunidad infructuosa, sino una supresión de la enfermedad. Podría ser inducida la resistencia al Antrycide en los tripanosomas *Vivax* y *Congolense*, pero la desaparición

de la enfermedad hizo remoto el peligro de divulgación; el autor hace referencia a un experimento en el cual se indujo resistencia natural a la enfermedad, por permanecer las madres próximas a parir en zonas de insectos protegidas con Antrycide.

El doctor Gonzalo Luque Forero recomienda: aislamiento de los enfermos y fumigaciones periódicas, con el fin de preservar los animales de los insectos y destruir los vectores; también eliminar los portadores crónicos. Ford y col.⁵², en el 48, sostienen la tesis de que hay tres rutas de primordial importancia a seguir en el problema de la Tripanosomiasis para su seguro control y erradicación:

1. A través del organismo causal.
2. A través del vector, moscas y artrópodos.
3. A través del amplio sistema ecológico, buscando modificar en forma total el medio ambiente, en tal forma que llegue a ser hostil a la continuación de la enfermedad.

La conclusión pone de relieve la importancia de la coordinación del trabajo en todos los tres sistemas, lo cual es esencial para la resolución del problema.

Según Guyaux y col.⁶⁹, la incidencia de la enfermedad fue alta en épocas de escaso pastaje y poca facilidad para la correcta alimentación del ganado, observándose una notoria disminución en períodos de abundancia.

Animales expuestos constantemente a la infección, adquieren resistencia a la enfermedad, sobre todo si esa exposición ocurre durante su juventud; esta condición es importante reforzarla con la administración de drogas profilácticas de reconocida efectividad⁵⁸.

En Inglaterra se hizo un ensayo sometiendo pupas de *Glossina Morsitans* a gama-radiaciones, con la intención de

buscar un método eficaz práctico para eliminar los vectores de la tripanosomiasis. No hubo evidencia de un aumento en la mortalidad de la pupa que tenía más de 1/3 de desarrollo; en cambio, sí lo hubo en las más jóvenes y débiles; la longitud de vida de los machos salidos de pupas tratadas, fue de la mitad más o menos, pero no sufrió la habilidad de apareamiento. No se efectuó una completa esterilización de los machos por las irradiaciones, pero la fertilidad residual fue del 20%, y la de las hembras apareadas con estos machos fue más o menos la mitad de la de aquellas apareadas con machos normales. La fertilidad residual de las hembras salidas de pupas irradiadas fue cerca del 16%, y la proporción capaz de producir vástagos vivos puede no alcanzar a la mitad¹³⁸.

1) TERAPIA:

Son muchos los medicamentos que han sido ensayados con miras a la curación y a la profilaxis de la tripanosomiasis de las distintas especies animales, causada también por diferentes géneros de parásitos: Para mayor comodidad y claridad en la exposición, los dividiremos en grupos, según su afinidad química unos, y otros según su conducta como tripanocidas.

Grupo de las Quinaldinas.—*Antrycide*: En actual experimentación, Thienpont y col.¹⁷³ lo ensayaron en bovinos infectados con tripanosomiasis, durante 6 meses; en general, los resultados fueron satisfactorios; sin embargo, la droga parece tener mayor acción contra el T. Congolense que contra el Vivax, frente al cual se presentaron varias recaídas. El Antrycide determina una reacción local dolorosa y marcada, sin formación de abscesos ni repercusión en el estado general;

en algunos casos puede provocar síntomas de foto-sensibilización; en caso de dermatitis, la curación es fácil con un tratamiento local a base de mercurio cromo e inyecciones de insulina.

En 1951, Pellegrini y col.¹³⁵ hicieron ensayos de laboratorio en alta escala, al igual que en el campo sobre ganado, camellos, perros, gatos, mulas, caballos previamente infectados; el Antrycide-metil-sulfato tuvo actividad terapéutica contra todos los tripanosomas prevalentes: Congolense, Vivax, Evansi, Simiae y Brucei; el Antrycide pro-salt (mezcla de metil-sulfato y cloruro), usado como profiláctico, protegió ganado contra la tripanosomiasis por un máximo de seis meses.

Se observaron síntomas semejantes a los del proceso de la fotosensibilización después de la administración de Dimidium Bromide y de Antrycide⁹⁰; los autores sostienen que las lesiones son manifestaciones cutáneas de una infección latente coincidental de Theileria o Babesia. Bovinos expuestos a la infección con T. Vivax fueron tratados con dosis ascendentes de 5, 7.5 y 10 mgrs. por kilo; luego la cepa se inoculó en ovejas en las cuales la infección fue controlada con una dosis de 7.5 mgrs./k.¹⁸³

Pruebas efectuadas en diferentes laboratorios demostraron que el sulfato de Quinapiramina (Antrycide metil-sulfato), en una o dos dosis de 2 a 3 grs., fue efectiva durante un período de más de 250 días en la prevención del desarrollo de la tripanosomiasis después de la infección artificial con T. Equinum; pruebas curativas con la misma dosis también tuvieron éxito, y se toleraron hasta 10 grs. de sustancia¹⁴⁰.

Según Ray y col. en el 53¹⁴⁵, tanto el sulfato como el cloruro de Quinapiramina curaron infecciones de T. Evansi en bovinos y caballos sin efectos tóxicos; y

una dosis de 3 mgrs. por kilo se consideró como efectiva e inocua en novillos que habían sido positivos a la Fijación de Complemento, y que aparecieron negativos a los tres meses después del tratamiento. En un área fuertemente infectada se comparó la duración de protección conferida en ganado Cebú por sales de Metamidio, Protidium y Quinapiramina como profilácticos; los resultados fueron:

M y B 4427, en fina suspensión, 10 mgrs./k., 21 semanas.

Cloruro hidrocloreuro de metamidio, 4 mgrs./k., 18 semanas.

M y B 4427, en suspensión tosca, 10 mgrs./k., 17 semanas.

Protidium, 4 mgrs./k., 15 semanas.

Quinapiramina Prof., 11.7 mgrs./k., 10 semanas.

Con las preparaciones de Metamidio, la reacción local en el sitio de la aplicación i. m. en el cuello, fue peor que la observada con Protidium y Quinapiramina subcutáneamente en la papada¹⁶⁵.

Grupo de las Phenantridinas: El Phenantridinum 897 fue ensayado en bovinos afectados con T. Vivax y Congolense, por vías i. venosa o i. muscular¹²; se obtuvieron mejores resultados con la segunda forma de aplicación y se observaron ventajas sobre los antimoniales. En 1953, Thienpont y col.¹⁷⁴ inyectaron con 621 C47, 25 bovinos infectados naturalmente con T. Vivax a una dosis de 2 mgrs./k. (2:7 diamino 9 thyenil 10 metilphenantridinum Bromide); inyecciones i. m. y subcutáneas produjeron reacciones locales; todos los casos fueron negativos después de 24 horas, pero se presentaron 8 recaídas; los autores no conceden a la droga gran valor práctico.

Derivados del Arsénico: Braga ensayó la actividad terapéutica del Arsenobenzozo-

le¹⁵ y del Naganol (un compuesto de urea), en conejos, perros y caballos artificialmente infectados con *T. Evansi*; las drogas fueron administradas subcutáneamente luégo de la aparición de los parásitos en la sangre y del comienzo de los síntomas clínicos; el Arzenobenzole dio resultados negativos, mientras que con el Naganol fueron de mayor positividad.

Otros derivados del Arsénico ensayados como tripanocidas: ácido arsenioso y arseniato de sodio, trisulfuro de arsénico, Atoxyl, Triparsamide, Stovarsol, Acetilársan, Orsanina, Novarsenobenzol, Sulfase-nol, etc. El Atoxyl (para-amino-phenilarseniato), no parece tener ninguna acción tripanolítica, pero tiene un efecto tónico general sobre el sistema nervioso y es provechoso para mantener en condiciones un animal afectado. El triparsamide es muy efectivo contra las formas nerviosas de tripanosomiasis, pero es necesario tener el dato para aplicar un año más tarde esta droga asociada al Antry-pol. Inyecciones combinadas de Tártaro Emético y Antrypol, cinco días después del tratamiento con Triparsamide, son fatales, aunque por analogía con la medicina humana, un proceder contrario puede ser seguro.

Otros Tripanocidas: En 1958, Hawking y col.⁹¹, estudiaron la acción del Berenil sobre los tripanosomas, incluyendo cepas resistentes al Antrycide y a la Stilbami-dina; esa sustancia (pp'-diaminodiaz-aminobencenediacetato), mató cepas de laboratorio de *T. Rhodesiense*, *Equiperdum* y *Congolense* in vitro, en una concentración de uno a dos millones a 35 grados C. en 20 horas; cuando se inyectó vía i. m. en conejos, el plasma fue tripanocida luégo de seis horas, pero no después de 24. En ratones fue más activo frente a *T. Congolense* que al *Equiperdum*. La acción tripanocida tardó en apa-

recer 6 a 48 horas, de acuerdo con la dosis, y durante este período se preservó la infectividad de los tripanosomas para ratones jóvenes.

Una cepa Antrycide resistente de *T. Equiperdum* fue altamente sensible al Berenil, pero una resistente a la Stilbami-dina de *T. Rhodesiense* fue completamente resistente. Fueron investigadas las reacciones de estas cepas frente a otras drogas, y se llegó a la conclusión de que la acción tripanocida del Berenil es semejante a la de otros compuestos diaminídicos a los cuales también es similar en cuanto a estructura química.

Mulligan H. W. trabajó en 1954¹²¹ con Chloride 528 (un derivado cinnolinium); la droga fue ineficaz contra *T. Vivax*, y se afirma que tiene efecto curativo contra *T. Congolense*; el Bromuro de Etidio fue probado contra *T. Vivax*, y parece tener una acción curativa sin toxicidad, pero produce reacciones locales; la Tetraciclina se ensayó en animales de laboratorio, con resultados de interés académico.

Pruebas de campo sobre el control de la Tripanosomiasis Bovina con Bromuro de Dimidio (2:7 diamino 9 phenil-10-methyl-phenantridinum-bromide), fueron hechas por Blommaert y col.¹⁰ sobre un total de 11 animales con infecciones de *T. Vivax* y *Congolense*; la concentración de la droga varió de 0.5 a 3%, y las dosis fueron normalmente de 1 a 2 mgrs./k. por vía i. v.; dosis más altas pueden ser peligrosas, y la aplicación subcutánea tiende a producir una aguda reacción local; puede presentarse fotosensibilización en animales de piel depigmentada. Las recaídas fueron raras y las drogas se mostraron más efectivas contra el *T. Vivax* que contra el *Congolense*.

En ganado, equinos y asnales se presentó una alta incidencia de Tripanoso-

miasis causada por *T. Vivax* y *Congolense* en el Congo; Jussiant sumarió los resultados de experimentos de control con tártaro emético y Antrypol (Suramina); fue necesario utilizar menos de 0.5 grs. de tártaro emético, porque dosis superiores fueron fatales para el ganado; la toxicidad de la droga parece resultar de su acción tripanolítica, más bien que de la susceptibilidad individual y con animales altamente infectados no es recomendable exceder los 0.3 grs. La detoxicación puede hacerse con asociaciones de glucosa y 4 grs. de hiposulfito de sodio por vía i. v. Una asociación de 0.3 grs. de tártaro emético más 3 de Antrypol es superior al Antrypol solo para la tripanosomiasis en equinos, y una combinación semejante se recomienda para el ganado ⁹⁶.

Mudaliar obtuvo buenos resultados con Suramina ¹¹⁸, y también recomienda el tártaro emético en los casos aquellos en que el número de organismos en la sangre periférica es pequeño. Se han discutido como activos para la prevención y cura de la enfermedad los Arsenicales, Antimoniales, sales de Urea y Bismuto, Diamidinas, Fenantreno y derivados de la Quinaldina. Según Marshall y col. ¹¹⁵, los efectos de los tripanocidas indican que los arsenicales trivalentes inhiben la reacción de la hexodinasa en los tripanosomas; que los pentavalentes son inactivos, excepto cuando son reducidos al estado trivalente; que proporcionalmente al número de diamidinas, inhiben parcialmente el sistema de dehidrogenasas, y esas diamidinas aromáticas, stilbamidina, probablemente inhiben la descarboxilación del ácido pirúvico. La Nitrofurazona, a dosis de 0.1 a 0.2 grs./k. en conejos y ratones, dando tres dosis diarias, produjo una recuperación del 93%; en animales grandes, 0.1 a 0.15 grs./k. La Pyraldina en equinos, vía subcutánea, sol. acuosa

1:10, 1:20, 1 a 1.5 grs./k. durante cinco días, también fue efectiva.

No hubo reacción tisular a continuación de la aplicación i. m. de sol. acuosa de Suramina al 10%, adicionada de hialuronidasa en la proporción de dos unidades por cada 3 grs. de Suramina. Los dos componentes fueron disueltos en agua, separadamente, y mezclados justamente antes de su aplicación. La adición de la enzima no aumentó las propiedades terapéuticas ni tóxicas de la droga, ni tampoco estimuló su difusión a través de la barrera sangre-encéfalo ⁸.

Godfrey y col. ⁷⁴ hicieron un ensayo sobre la influencia de la dieta de aceite de hígado de bacalao sobre los tripanosomas *Congolense*, *Vivax* y *Brucei*; observaron que el tripanosoma *Congolense* se multiplicaba en forma más lenta en ratones sometidos a dieta compuesta de caseína, sucrosa, levadura seca, sales, margarina y aceite de hígado de bacalao, que en ratones con dieta normal. Esto de acuerdo con la publicación de Keppie (Vet. Bull. 24, 1057), excepto que en el presente trabajo no se observó un alto grado de supresión. Así, pues, el aceite de hígado de bacalao, dado en dietas adecuadas y solubilizado en el agua con vitaminas, suprimió la multiplicación del *T. Congolense*, efecto que fue revocado por la Vit. E. Un efecto similar se obtuvo frente al *T. Vivax* con una dieta adicionada en un 5%, lo cual fue completamente invertido por la Vit. E.

Es interesante anotar las publicaciones hechas por Thomas y Hewitt en 1957 ¹¹⁷, acerca de los ensayos con un nuevo antibiótico en el tratamiento de la tripanosomiasis; la primera vez que se habló de un antibiótico aislado del *Streptomyces Calvus*, lo hicieron Thomas y col.; la fórmula empírica fue C11 H16 O8 S; fue activo in vitro frente a un amplio número de

bacterias, pero fue de mayor interés a causa de su alta actividad frente a los tripanosomas. Se logró la curación de la tripanosomiasis producida por *T. Equiperdum* en ratones, administrando una dosis de 0.2 a 0.05 mgrs./k., vía parenteral, o 0.6 mgrs. k., vía oral, en el espacio de pocas horas después de la infección. Una inyección i. m. de la droga protegió ratones con infección de menos de 24 horas; administrada parenteralmente, la Nucleocidina fue 40 veces más activa que el Antrycide o la Suramina y 4.000 veces más que la Tetraciclina; infortunadamente, la toxicidad fue regularmente alta para el ganado (dosis sobre 0.01 mg./k). En el tratamiento de la Surra, parece haber dado resultado la Pyraldina, sal blanca cristalina, poco soluble en agua e insoluble en alcohol y éter; es análogo de la Quinapiramina.

Stephen y col., en 1960, consideran ¹⁶⁶ que el antibiótico Nucleocidinapa parece tener una considerable actividad contra algunas infecciones por *T. Vivax* en ganado Cebú; una aplicación simple i. m. de 0.025 mgrs./k. limpió la sangre periférica de tripanosomas en el curso de 20 horas; sin embargo, la infección no fue curada y hubo recaídas a los 18, 24 y 36 días después del tratamiento en los tres animales usados en el experimento.

En el tratamiento del Mal de Cadcras, Boehringer y col., en el 59 ¹⁴, ensayaron el Ganaseg, también llamado Berenil; utilizaron animales de laboratorio, infectados, y tres caballos; una dosis simple de 3 mgrs./k. i. m. produjo una recuperación temporal con recaída, después de 8 a 10 días del tratamiento.

En un tratamiento tendiente a la curación de la tripanosomiasis, es necesario tener en cuenta varios factores: es importante la asociación medicamentosa; en muchas ocasiones un medicamento

solo es inactivo, pero no así en asociación con otro. La quimio-resistencia es también un factor que ha merecido mucho estudio, sin que hasta el momento se tengan conclusiones más o menos definitivas al respecto: puede ser espontánea, lo cual se ha observado en algunas razas de parásitos; y la adquirida, más frecuente, es el resultado de la aplicación de un medicamento dado; generalmente es estable y hereditaria.

Un trabajo sobre droga-resistencia, elaborado por Williamson y col. ¹⁰⁴, pone de manifiesto el comportamiento de ocho cepas de *T. Rhodesiense*, resistentes respectivamente al Atoxyl, Butarsen, Acridina, Stilbamidina, Surfen C., Suramina y Pontamina Azul 5BX; dichas cepas fueron examinadas en cuanto a la resistencia cruzada frente a 9 grupos estructuralmente disímiles de tripanocidas; la resistencia cruzada no es enteramente explicable sobre bases iónicas, y los resultados sugieren que los cambios estructurales estercospecíficos, asociados con droga inicial elevada, ocurren en los tripanosomas resistentes. Se demostró reversión selectiva de la acción tripanocida de los arsenicales Carboxilados, por ácido para-amino-benzoico y de Arsenicales Melaminyl y diamidinados por Melanina; estas reversiones reflejan la forma de la resistencia cruzada, conducta que sugiere que las estructuras celulares asociadas con una droga estereo-específica reversible, tienen una fase de absorción modificada durante el desarrollo de la resistencia.

Sojty relacionó el efecto de la inmunidad en el ganado con la quimioterapia ¹⁶², y llegó a la conclusión de que cepas que habían sido resistentes a los inmuno-cuerpos luégo de pases por conejo, fueron más resistentes a la Suramina que las variantes anticuerpo-sensibles de la misma cepa. Sin embargo, los tripano-

somas pueden hacerse resistentes a las drogas sin que necesariamente tengan que ser anticuerpo-resistentes; sin embargo, se sugirió que, bajo condiciones naturales, cepas resistentes a las drogas en animales y hombre se desarrollan de cepas anti-anticuerpo-resistentes; en conclusión: tripanosomas expuestos por algún tiempo a anticuerpos y que llegan a hacerse resistentes, podrían ser usados en todas las pruebas para la eficiencia de drogas quimioterapéuticas.

Una gran variedad de inhibidores metabólicos probados "in vitro" para la actividad tripanocida sobre cepas normales y droga-resistentes de *T. Rhodesiense*, no mostraron relación entre la droga-resistencia adquirida ni cambios en las funciones específicas enzimáticas. El potencial de óxido-reducción es un factor importante en la acción tripanocida, pero no es obviamente relativo al desarrollo de resistencia. La dependencia sobre el pH de la acción tripanocida, de drogas ionizadas frente a tripanosomas resistentes y normales, alimenta la idea de que el desarrollo de la resistencia conlleva cambios físicos en estructuras celulares asociadas con la elevación de la droga.

Las drogas básicas tripanocidas: Berenil, Antrycide, Dimetil-sulfato, Etidio y Pentamidina, precipitaron del 50 al 65% de la proteína presente en células libres de extractos de tripanosomas; el precipitado fue un complejo de droga ligada a la proteína. La Suramina y la Triparsamida no precipitaron la proteína tripanosómica. Bajas concentraciones de Berenil precipitaron más proteínas de una cepa Berenil-resistente que de una Berenil-sensible; las fracciones electroforéticas de la proteína tripanosómica desnaturalizada por compuestos básicos, fue detenidamente estudiada. El complejo tripanosó-

mico proteína-droga, tiene actividad profiláctica ⁴⁴.

Las phenantridinas, Diamidinas y Antrycide (los cuales están química y estructuralmente relacionados), producen droga-resistencia en el campo, y se consideró que sería mejor encaminar los esfuerzos en lo relacionado con la síntesis de los compuestos activos basados en otras estructuras tales como drogas órgano-metálicas del tipo tártaro emético. Otros aspectos incluyen la asociación entre la quimioterapia y la droga-resistencia de tripanosomas transmitidos por moscas y por inoculación; lo mismo que la relación entre tripanosomas anticuerpo-resistentes y droga-resistentes ²⁰⁰.

El doctor Gonzalo Luque Forero recomienda alternar las drogas aparentemente más efectivas, debido a que hasta el momento no existe ningún medicamento de eficacia absolutamente comprobada. En el caso de la Tripanosomiasis Equina: Naganol, 1 a 2 grs./k., sol. al 10% i. m., con intervalos de 8 días, en los estados iniciales de la enfermedad.

Antrycide-metil-sulfato: vía subcutánea o i. m. profunda, sol. al 10%, 5 mgrs./k.; 1 gr., 1.5 o 2/k., si el animal sube 150, 200 o 350 kilos, respectivamente; dejar en reposo 12 horas después del tratamiento.

Cloruro de Antrycide: 1.5 partes de Antrycide M. S. y 2 de Cloruro de Antrycide, vía subcutánea, a intervalos de dos a tres meses, como tratamiento preventivo.

Lomidine: Pentamidina, p-p'-diamidino-diphenoxypentano, sol. al 5%, 10 c. c., para animales grandes; y la 2.5% para pequeños; aplicación i. m., porque la subcutánea es dolorosa, en varios sitios. Dosis de 3 mgrs./k., y repetir, si es necesario, a las 48 horas.

En caso de la enfermedad en bovinos: Antrycide, Lomidine, Bromuro de Etidio, 1 mgr./k., vía intramuscular profunda.

J) TRIPANOSOMIASIS EXPERIMENTAL:

T. Vivax: Se anotan datos sobre una infección en animales de laboratorio: ratas, cerdos, hamsters y monos; las ratas y los hamsters sufren una infección subaguda que termina con la muerte; en cerdos la enfermedad fue similar, pero no necesariamente fatal; en monos la enfermedad fue crónica con la aparición de los parásitos, solamente en forma ocasional, sin mayores disturbios en la salud¹⁸.

Desowitz y col.³¹ trataron de establecer la patogenicidad del *T. Vivax* en el laboratorio, sobre ratas blancas; la cepa se aisló de una oveja infectada naturalmente y fue mantenida en oveja por transmisión cíclica por *Glossina*; se inocularon 69 ratas con cantidades relativamente altas de sangre infectada y se logró infectar a todas, menos a una. Las infecciones variaron considerablemente en intensidad, no solamente en forma individual, sino principalmente en grupos; de manera regular los tripanosomas aparecieron en la sangre periférica a los dos días después de la inoculación, incrementándose en un período de 3 a 7, hasta llegar a un máximo, y entonces declinar más o menos rápidamente, hasta desaparecer; un tiempo después no se evidenció la infección, que fue detectada en la mayoría de las ratas, pero se presentaron algunas recaídas de considerable intensidad; los animales enfermos manifestaron indisposición, pero no hubo casos de mortalidad; el *T. Vivax* permaneció con su morfología y características típicas. Las infecciones que se hicieron por subpases de rata a rata fueron más moderadas

que las observadas en ratas inoculadas con sangre de oveja.

Una línea suplementada de *T. Vivax* cesó de depender del suero suplemento de oveja; y una no suplementada se logró aislar de un control; esta línea produjo una mortalidad del 25%. La esplenotomía no afectó el curso de la infección; y la adaptación de la cepa a la rata se perdió cuando se volvió a oveja. La morfología del parásito fue bastante constante durante estos experimentos³⁵.

Una cepa de *T. Vivax*, aislada de una infección natural en un caballo, y subsecuentemente sometida a pases en sucesivas series de 4 ovejas y un buey, fue capaz de infectar ratones por inoculación directa de sangre de un bovino infectado; una infección natural en ratón por esta cepa no pudo ser mantenida por más de 5 pases o de 7 cuando se adicionó sangre de bovino. Sin embargo, en un ratón esplenetomizado se pudo mantener por 13 pases; así las infecciones obtenidas en ratones esplenetomizados fueron superiores en intensidad y duración, y en riesgo de recaídas. En esta forma se puede observar la importancia que puede llegar a tomar el bazo en cuanto a las defensas orgánicas contra organismos extraños se refiere¹⁸⁴.

Mulligan y col.¹²¹ establecieron en ratones una cepa de *T. Vivax* para valorar las drogas tripanocidas y considerar el grado de resistencia a las drogas de dicha cepa.

En el año 55 fue estudiada la influencia de la temperatura en la duración del desarrollo cíclico del *T. Vivax* en la *Glossina Palpalis*⁴⁰: En dípteros salidos de la pupa a 26 grados, infectados e introducidos en una incubadora a 29 grados, el parásito completó su ciclo en cinco días; en aquellos salidos a la misma temperatura, infectados pero guardados a 22 gra-

dos, el ciclo se completó en 12 a 13 días. Este es indudablemente un dato interesante de tener en cuenta, sobre todo cuando se trate de organizar un plan o campaña de profilaxis contra la enfermedad en las zonas tropicales en donde abundan los dípteros.

Trager y col.¹⁷⁹ lograron cultivos continuos de *T. Vivax*, Congolense y Brucei, mantenidos en cultivos de canal alimenticio y glándulas salivares de *Glossina*; los de *T. Vivax* solamente se obtuvieron por inoculación de sangre de oveja con infección crónica, a cultivos de tejidos de dos días e incubándolos a 30-32 grados. Fueron efectuadas dos transmisiones sucesivas de cultivos a ovejas, pero como las infecciones desarrolladas fueron muy leves, se cree posible la inmunización frente al parásito por inoculación de tejidos atenuados.

T. Evansi: Ray y col.¹⁴⁴ observaron que en infecciones experimentales en ratas, aquellos animales con dieta deficiente en ácido pantoténico, desarrollaron una infección de mayor intensidad y murieron luego de un corto intervalo. Estos datos pueden tener un margen de asociación con deficiencias similares en equinos y bovinos atacados por la Surra; los autores sugieren de primera intención que el ácido pantoténico ejerce influencia sobre el porcentaje de multiplicación en ratas, aunque finalmente el huésped termina abatido. En muchas ocasiones la Surra es una infección asintomática crónica y en otras puede ser fatal; se especula sobre la posible relación de los disturbios en el ácido pantoténico con casos de brotes fatales.

En 1950, Nani y col.¹²⁸ completaron un estudio referente a las diferentes relaciones huésped-parásito, con el *T. Evansi* en varios animales: los tejidos de una rata sacrificada en el estadio final de la

enfermedad se emulsionaron e inocularon a un perro; luego se hicieron 7 pases por perro, por inoculación de sangre; luego a ovejas, cabras, curies, conejos, ratas, ratones, palomas y pollos; solamente las aves se mostraron resistentes. No hubo diferencias muy marcadas en lo descrito anteriormente por otros autores, ni en cuanto a curso de la infección, síntomas y cuadro sanguíneo, y hallazgos post-mortem. Lo único son las variaciones morfológicas demostradas por los parásitos en los diferentes huéspedes.

Se inocularon 12 embriones con *T. Evansi* sobre el 15º día de incubación; cinco pollitos nacieron aparentemente sanos; sin embargo, los parásitos fueron demostrados en frotis sanguíneos húmedos, una semana después del nacimiento. Tiempo después la infección fue demostrable solamente por inoculación a ratón. Se pudo reproducir en pollitos de dos días por inoculación subcutánea de sangre tomada en el punto máximo de la infección⁷.

Un nuevo trabajo de Alwar sobre la transmisión experimental del *T. Evansi*⁷ trata de su cultivo en cerdos y en embriones de pato; en los últimos se observó la infección en las siguientes 48 a 72 horas, y una tercera parte de las aves procedentes de embriones inoculados, albergaban la infección. Se lograron transmisiones sucesivas de *T. Evansi* con sangre parasitada de mamíferos portadores, inoculando embriones frescos incubados o pichones de palomas, paticos y pavitos; los flagelados fueron encontrados en la sangre después de un mínimo de cinco días, y persistieron por un máximo de 24; la infección de las palomas fue también transmitida a otros pichones; la virulencia del organismo se conservó inalterable durante el pase en patos y pavos, pero en ratas blancas inoculadas con ce-

pas de las palomas, hubo una notoria atenuación de la virulencia.

Sen y col.¹⁷² describieron los cambios ocurridos en tejidos de ratas infectadas con *T. Evansi*; macroscópicamente fueron: esplenomegalia durante la infección aguda (cerca de tres veces el tamaño normal), congestión, focos bronco-neumónicos en los pulmones. Microscópicamente: congestión, actividad eritropoyética del bazo, inflamación difusa en los túbulos renales y reacción eritroblástica en las células medulares; los demás órganos no mostraron ninguna marcada anomalía.

Una cepa de *T. Evansi* fue conservada en pollitos de 3 días por 6 pasajes de sangre inyectada subcutáneamente; los flagelados pudieron ser detectados en la sangre en 8 de los 12 animales inyectados, mientras que tres de los demás dieron pruebas biológicas positivas en ratones. Los demás animales parece que mantuvieron los tripanosomas por un máximo período de 25 días, y crecieron luego hasta llegar a adultos aparentemente sanos.

T. Equiperdum: Hood y col.⁸⁴ hicieron ensayos con infecciones de *T. Equiperdum*, *Brucei* e *Hippicum*: en ratas blancas, ratones blancos, conejos, hamsters y curies; el inóculo fue standard, y se observó que las tres cepas produjeron los mismos síntomas generales en cada huésped experimental; pero la enfermedad en ratas blancas, ratones blancos y hamsters fue aguda y fatal, acompañada por un aumento uniforme de los parásitos sanguíneos; cuando todas las condiciones diferenciales fueron standarizadas, el número de parásitos sanguíneos en cada estadio fue definido; así en esta forma sugirió el autor este método "in vivo" para ensayos de compuestos tripanocidas.

Fueron infectados ratones con *T. Equiperdum*, y un día después o a las pocas horas expuestos a la acción de rayos X (250 a 500 radiaciones); la parasitemia se redujo, sin afectar el tiempo de la muerte; cepas obtenidas de ratones irradiados causaron infecciones recidivantes, las cuales aparecieron en forma fluctuante durante 31 pasajes en ratón; la irradiación de los ratones antes de la inoculación también disminuyó la parasitemia y no se desarrolló la infección en 7 de 16 ratones, los cuales recibieron un inóculo normalmente fatal inmediatamente después de expuestos a 200 radiaciones. In vitro, 5.000 a 10.000 radiaciones, redujeron la capacidad infectiva en la forma de un aumento del período de latencia; los ratones que permanecieron sanos fueron sucesivamente re infectados, lo cual indica que no hubo respuesta inmunitaria¹⁶⁸.

Werner trató de comprobar la transmisión de la infección tripanosómica a través de la placenta materna o de la leche, con resultados negativos, luego de la inoculación i. peritoneal de ratones, hamsters, ratas y cerdas preñadas, con cepas de *T. Equiperdum*, *Gambiense*, *Congolense* y *Cruzi*. Tampoco hubo transferencia de anticuerpos¹⁹³. Un trabajo similar en el 54, también dio resultados negativos al examinar sangre de cabritos, conejos, ratones blancos y gatos nacidos de padres con tripanosomiasis comprobada¹³⁶.

La tripanosomiasis experimental en conejos ha sido motivo de diversos estudios, entre los cuales se cuenta uno de Angelloff y col.⁶ sobre la actividad electrofóretica del suero luego de una infección con *T. Equiperdum*: Durante los primeros 90 días, la fracción albumínica del suero decreció gradualmente, y la globulínica se incrementó; cerca del nonagés-

simo día, cuando usualmente se presentó la muerte, hubo una reducción de la fracción globulínica. La fracción gama-globulínica aumentó considerablemente entre el sexagésimo y nonagésimo día.

La última causa de la muerte en la tripanosomiasis experimental ha sido motivo de controversia; alguien sugirió como causa primaria la elevación observada en el nivel del potasio del plasma; esta posibilidad fue investigada usando ratas con tolerancia al potasio, inducida previamente. Desde entonces se creyó comprender el porqué algunas ratas pudieran ser inusualmente resistentes al *T. Equiperdum*. No se observó, sin embargo, mayor variación en la resistencia entre las ratas normales y las resistentes al potasio¹⁵⁷.

En curies, Lippi y col.¹¹³ observaron gránulos al parecer tóxicos en los leucocitos neutrófilos de sangre periférica de ocho curies experimentalmente infectados, cuyos frotis fueron estudiados por tres métodos diferentes de coloración. El índice de degeneración se basó en los promedios obtenidos.

K) IMPORTANCIA COMO ZOONOSIS:

Anon hace relación a una anécdota de interés histórico⁴, que en abril de 1912 ocurrió al Profesor Lafranchi mientras estudiaba los tripanosomas animales Brucei y Evansi; al pipetear sangre de un curí infectado, se aflojó el tapón de la pipeta y el material alcanzó la boca; es de tener en cuenta que de tiempo atrás sufría de una úlcera en la tonsila izquierda. Confiando en que el tripanosoma que trabajaba no era patógeno para el hombre, continuó su trabajo; más tarde hizo gargarismos. Pasado algún tiempo, comenzó a sufrir de accesos de fiebre (al comienzo se creyó que como consecuen-

cia de la tonsilitis), y sudores tan intensos que se convertían en una verdadero baño; insomnios, taquicardia (de carácter paroxismal); hepatomegalia; esplenomegalia e hipertrofia de los ganglios linfáticos; pérdida de la memoria en cuanto a sucesos recientes; dolor tan agudo en los antebrazos y pulgares, sobre todo al lado derecho, que le era imposible utilizar la mano. En un frotis de sangre fueron hallados los tripanosomas, que fueron estudiados por el Profesor Mesnil; luego de compararlos con los causantes de la Enfermedad del Sueño y de mediciones y pruebas serológicas, se concluyó que el causante de la infección había sido el *T. Evansi*; este trabajo se denominó Castellanos.

Es de tener en cuenta la descripción de este caso por las posibilidades de verse enfrentado a uno similar sin recursos, por la ignorancia acerca de una posibilidad semejante, en regiones en donde este tripanosoma es de tan frecuente aparición, no solamente en equinos sino en bovinos, ovinos y animales de caza. El tratamiento fue a base de Atoxyl, hasta su curación.

Hoare y col.⁸¹ opinan que los animales son reservorios de los tripanosomas humanos: *Rhodesiense* y *Gambiense*, así como del causante de la Tripanosomiasis Americana: *Cruzi*. Los anteriores son considerados por él como estrechamente relacionados y probablemente idénticos, los cuales sólo pueden ser diferenciados del Brucei por inoculación de humanos voluntarios. Se ha demostrado que tanto el *Rhodesiense* como el *Gambiense* pueden ser mantenidos en animales domésticos y salvajes durante muchos años sin perder su transmisibilidad para el hombre; probablemente aquellos se originaron del Brucei, pero hay más enzootias de Brucei en donde no se han visto casos

humanos, y el *T. Rhodesiense* no retrocedió a Brucei cuando fue conservado por transmisión cíclica en rumiantes. En cuanto al *T. Cruzi*, en varias ocasiones se ha confirmado su presencia, tanto en perros, gatos y demás animales domésticos, como en unos cuantos de bosques y llanuras, siendo en esta forma los animales vehículo de infección para los humanos.

De Fiestas y col.³⁶ tratan de una encuesta hecha en un número determinado de casas y haciendas seleccionadas alrededor de Campo Florido, tanto sobre perros como sobre gatos; los primeros fueron examinados por Xenodiagnóstico y (o) Fijación de Complemento, y los gatos por el primero solamente. De 68 casas, 22 tuvieron como mínimo un animal infectado con *T. Cruzi*, en la siguiente forma:

De 307 perros examinados, positivos hubo 33.

De 47 gatos examinados, positivos hubo 12.

De 621 triatomas recolectados, 61 presentaron el tripanosoma.

Los autores revisaron estudios anteriores sobre los procesos locales a desarrollarse cuando los dípteros pican al huésped. Usando tripanosomas del grupo Brucei, observaron la ruta seguida luego de su localización en los tejidos, y su aparición en la circulación general en ratas, cobayos y conejos. Los experimentos dependían del intervalo entre las inoculaciones de las formas metacíclicas y la aparición de los tripanosomas en la sangre. Las formas sanguíneas del *T. Rhodesiense* o del Brucei, inoculadas subcutánea o intradérmicamente a ratas, no se multiplicaron en el sitio de la inoculación; aparecieron en la circulación general al final del tercer día y persistieron después de la inoculación i. dérmica

a conejos, los parásitos persistieron y se multiplicaron en el sitio de la inoculación, produciendo un chancro. También aparecieron en la circulación general durante el período de incubación y persistieron.

Cuando las formas sanguíneas de *T. Brucei* obtenidas: de sangre de corazón, tejidos locales y tejidos de un sitio alejado, fueron inoculadas vía intra-dérmica en ratas diariamente a lo largo del período de incubación, solamente se obtuvieron tres resultados positivos: de sangre del corazón sobre el tercero y cuarto día, y de tejidos locales al tercer día.

Willet y col.¹⁹⁷ concluyeron que el proceso de migración y desarrollo de tripanosomas del grupo Brucei en los huéspedes mamíferos durante el período de incubación, son fundamentalmente los mismos, sea que formas metacíclicas o sanguíneas sean inoculadas en animales que presenten o no reacción local. Ellos no encontraron ningún proceso o ciclo de desarrollo ni de las formas metacíclicas de los parásitos ni de las sanguíneas, y su subsecuente multiplicación por fisión binaria.

L) HISTORIA EN COLOMBIA:

En tan pocas publicaciones que se han hecho en nuestro país acerca de la Tripanosomiasis, especialmente bovina, se puede contar una de la *Revista de Medicina Veterinaria* de la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria de Bogotá, del año 1932. Se trata del informe presentado por el doctor F. Virviescas¹⁹² sobre la lucha contra la Tripanosomiasis en la Costa Atlántica. El autor recorrió dicha zona y pudo observar como sintomatología general en los vacunos examinados, aparentemente sospechosos: Elevaciones térmicas que alcanzaron a 41.8 en los ac-

cesos fuertes, y que bajó a 39 después de algunos días de contraída la enfermedad; secreción purulenta por la nariz; en los casos agudos, enterorragias y debilitamiento. En algunas ocasiones hubo obstrucción de los conductos que comunican las cavidades frontales con las fosas nasales, dando como resultado la acumulación de materia. En general, enflaquecimiento extremo con anemia acentuada y lenta emaciación del animal. En ocasiones conjuntivitis, queratitis y finalmente ceguera; algunos casos presentaron intensas alteraciones del aparato locomotor.

En las vacas hubo casi total supresión de algunas funciones, como la lactación; y en las preñadas, aborto al poco tiempo; cuando la preñez estaba muy avanzada, los terneros nacieron tan raquíticos que les fue imposible levantarse. Se hizo un examen para Brucellosis, buscando la causa de los abortos, pero fue negativo. Los terneros pequeños que enfermaban, murieron a los pocos días.

Al examen microscópico de frotis sanguíneos remitidos al laboratorio y coloreados por el método de May-Grunnwal-Giemsa, se encontró un tripanosoma, el cual fue catalogado como *Cazalboui*. La pérdida de ganado, a consecuencia de esta enfermedad, ascendió a un 30%, cifra que disminuyó notoriamente al recibir los animales un tratamiento a base de Atoxyl, Tártaro Emético y Cacodilato de Sodio como coadyuvante. Parece que la enfermedad apareció en la Costa alrededor del año 29, y desde entonces se ha extendido con extraordinaria rapidez.

El doctor Alberto Abondano Herrera¹, en su interés en llegar a una conclusión satisfactoria acerca de la efectividad de las diferentes drogas usadas como tripanocidas, publicó sus experiencias sobre ratones, hechas en el Instituto Sero-terápico de Milán. Basado en la eficiencia

de la Tripaflavina en las infecciones hematozoáricas, resolvió experimentar el ácido pícrico como tratamiento en ratones experimentalmente infectados con *T. Brucei*: primero determinó la dosis mínima total y luego procedió a su aplicación i. venosa o subcutánea en los ratones; a pesar de que la actividad tripanocida del ácido pícrico "in vitro" fue excelente, no demostró resultados en verdad halagadores en el organismo. Asociados con los Arsenobenzoles, aumentó la toxicidad del producto, y tampoco dio buenos resultados en la terapia.

Cinco de seis experimentos hechos por Dunn⁴⁷ prueban que el Vampiro *Desmodus Rotundus* es capaz de transmitir el *T. Hippicum*, agente etiológico de la Murrina; los murciélagos se infectan por la ingestión de sangre contaminada, y lo transmiten por mordisco. Todos sucumben a la infección, que tiene un período de incubación de 6 a 8 días, presentándose la muerte en un intervalo de 9 a 27 días.

En frotis sanguíneos de animales en estudio de hematozoarios, provenientes del Valle del Cauca, se halló en 1934 un tripanosoma¹⁹⁰ de grandes dimensiones, extremo posterior prolongado y terminado en un filete agudo, blefaroplasto fuertemente teñido; núcleo ovoide con granulaciones cromáticas, flagelo con una porción libre bien teñida, y nacimiento cerca al centrosoma; gran número de vacuolas en el protoplasma. Este parásito fue clasificado como *T. Theileri*, el cual aparece con frecuencia asociado a infecciones por anaplasma y Babesia; aun cuando se lo considera apatógeno, produce infartos ganglionares fáciles de ver en ganado de matadero de las regiones en donde el flagelo es frecuente.

Virviescas hace un comentario, tanto de la Tripanosomiasis como de la Ana-

plasmosis en el ganado bovino ¹⁹¹, como infecciones por hematozoarios bastante relacionados entre sí; a pesar de ser la primera generalmente de las zonas cálidas y la segunda de toda región con garrapatas, presentan una sintomatología similar: elevación térmica, anemia profunda, enflaquecimiento progresivo, secreción nasal, decaimiento y trastornos digestivos en la gran mayoría de los casos; los ganaderos las denominan "Huequeras". Ambas enfermedades actúan sobre los glóbulos rojos, pero tienen diferentes transmisores: los insectos chupadores y las garrapatas, respectivamente; además, en los frotis, los tripanosomas aparecen fuera de los glóbulos por su mayor tamaño, y los anaplasmas dentro, marginales. También se han observado asociaciones v. gr. del T. Theileri con la Babesia y el anaplasma; el T. Cazalbouvi con el anaplasma y formas atípicas de piroplasma.

En 1936 aparece un artículo en la Revista de la Facultad, acerca de la presentación en la Costa (Bolívar), de casos crónicos de una enfermedad causada por un tripanosoma similar al Brucei; con núcleo oval, centrosoma terminal y flagelo anterior; en el mismo año fue tal la epizootia en Sinú y Sabanas, que prácticamente terminó con la población equina de la región.

Se caracterizó la enfermedad por temperatura de 42 grados, congestión intensa de las mucosas, decaimiento, anorexia y pulso acelerado. Una vez pasada la fiebre, el animal aparentemente se recupera, pero poco a poco se desarrollan tumefacciones edematosas en las regiones declives del cuerpo y en los labios; encías de color blanco; anemia y enflaquecimiento progresivo, de donde se deriva el nombre de Secadera. También se observan petequias en las mucosas, sangre acuosa

y tinte ictérico; no hay parálisis en el tren posterior, como en el Mal de Caderas. El tratamiento se hizo a base de Tártaro Emético; sin embargo, lo verdaderamente importante es la profilaxis, o sea aislamiento de los enfermos, tratar de exterminar los insectos vectores y adicionar la ración con arsénico y flor de azufre ²⁰⁴.

El doctor Luis V. Ariza, en su tesis de grado para optar al título de Médico Veterinario y Zootecnista, nos presenta una serie de historias clínicas por medio de las cuales pone en evidencia la presencia del T. Evansi, como agente etiológico de infecciones, tanto en caninos como en equinos infectados por él en la Sabana de Bogotá, con una cepa hallada en frotis sanguíneos de una perra cazadora proveniente de Cumaral, en los Llanos Orientales; este animal fue traído a la Facultad en el año 1952, con el objeto de someterlo a examen clínico. El mencionado profesional hace un análisis detallado del proceso de presentación de la sintomatología, de los cambios hematólogicos observados, de las variaciones tanto en temperatura, pulso, respiración, como en peso, y aparición o desaparición de los hemoparásitos en la sangre; la primera coincidió siempre con los altos índices de temperatura. También se nos expone en este trabajo el proceso efectuado en los animales enfermos al ser sometidos al tratamiento con una sustancia derivada de la Diamidina, expendida en el comercio bajo el nombre de Lomidine, de laboratorios Specia; esta droga mostró bastante efectividad, tanto en equinos como en caninos, a la dosis de 2.5 a 3 mgrs. por kilo y de 4, respectivamente; se observó que su toxicidad sólo era patente a una dosis superior al doble de la indicada. La aplicación se

hizo por vía intramuscular, generalmente tres dosis a intervalos de un día.

Actualmente en nuestro país la enfermedad tiene una amplia difusión en las regiones de climas medios y cálidos, en donde abundan los dípteros responsables de la transmisión del parásito.

SEGUNDA PARTE

EXPERIENCIAS

FINALIDAD

La finalidad de estas experiencias es la de aprovechar las posibles reacciones cruzadas que pudieran presentarse entre anticuerpos presentes en sueros bovinos frente a un antígeno preparado a base de un género de tripanosoma diferente al que normalmente causa la infección en los vacunos; en esta forma las reacciones positivas obtenidas no son específicas sino de grupo.

Los sueros empleados en el trabajo tienen diferentes procedencias, pero se prefieren siempre los de aquellas zonas en las cuales había sido comprobada la tripanosomiasis; generalmente localizadas en los climas cálidos y medios.

La encuesta sobre 1.770 sueros, presenta una positividad del 3%, lo cual puede conducirnos a pensar que perfeccionando el sistema se podría adelantar una campaña masiva en el diagnóstico precoz de la infección, ya que la Fijación de Complemento es un método que se presta para trabajos en gran escala.

Con el objeto de tratar de probar la efectividad del antígeno delante de anticuerpos producidos por la acción de tripanosomas diferentes, quise ponerlo en contacto con sueros bovinos de casos

comprobados; desafortunadamente, sólo pude conseguir diez casos de animales que habían presentado el tripanosoma en frotis sanguíneos, pero sin que se hubiera determinado con exactitud el género. Dichos casos procedían de una ganadería de Valledupar, en el Departamento del Magdalena; los resultados fueron todos positivos a la dilución 1:5 del suero correspondiente.

Como complemento a lo anterior, se tomaron sueros de 50 ovejas parasitadas con *Melophagus Ovinus*, y al someterlas a la prueba de la Fijación de Complemento, todas dieron resultados positivos a la reacción: Cuatro cruces a la dilución 1:5.

Las garrapatas fueron previamente sometidas a examen del contenido intestinal por medio de frotis, los cuales, coloreados con azul de metileno, permitieron apreciar un buen número de tripanosomas del grupo denominado *Melophagium*.

A) MATERIALES Y METODOS:

Se trabajaron 1.770 sueros de las regiones de: Cundinamarca, Tolima, Llanos Orientales, Valle del Cauca, Santander del Sur, Magdalena, Caquetá, Huila. Un total de 596 sueros provenientes de clima frío, y de 1.774 de climas cálidos y medios. Muchos de dichos sueros llegaron a nuestro laboratorio para el diagnóstico serológico de Brucellosis; otros fueron enviados por los diferentes Centros de Diagnóstico o por Veterinarios particulares.

La prueba se efectuó de acuerdo con la técnica de Kolmer, en caliente, como se describe en el Cuadro N^o 4.

Para obtener los sueros, la sangre permaneció primero 15 minutos en la estufa, a 37 grados C., y luego 15 minutos

en la nevera, después de haber roto el coágulo. Se centrifugó, y el material lo grado se inactivó a 55-56 grados C. en baño maria, durante 30 minutos.

Como diluyente, tanto de los sueros como del Antígeno, Complemento, Glóbulos rojos, Hemolisina, se utilizó sol. salina fisiológica al 0.85% con pH 6.8 a 7.

La preparación de la Hemolisina se hace como sigue: Se inoculan conejos cada cuatro días por vía intravenosa con glóbulos rojos de carnero en suspensión al 10% en sol. salina fis., hasta completar 5 c. c. de inóculo por conejo, o sea cinco inoculaciones por animal, puesto que se debe comenzar con la aplicación de 0.5 a 1 c. c. Se debe aspirar por este procedimiento a lograr un título satisfactorio (1:2.000), calculado según la dilución más alta de Hemolisina que determina hemólisis completa de una suspensión de glóbulos rojos al 2.5% (Cuadro N° 10).

Para la titulación de la Hemolisina, el suero obtenido de los conejos se inactiva primero a 57 grados C. durante 30 minutos, al baño maria. Luégo se procede a hacer diluciones sucesivas en sol. salina fis., a partir de 1:1.000, generalmente hasta 1:5.000; con estas diluciones se preparan Sistemas Hemolíticos, los cuales se controlan enfrentándolos con salina fis., con el objeto de apreciar su poder auto-hemolítico. El Complemento se utiliza generalmente a diferentes diluciones a partir de 1%, con el fin de calibrar en forma exacta la actividad de la Hemolisina.

El Complemento se obtuvo reuniendo el suero de 10 a 20 curies machos, sanos, sangrados luégo de 24 horas de ayuno; ese suero solamente es utilizado después de permanecer 48 horas en congelación, con el fin de lograr su estabilización.

La Titulación de Complemento se controla periódicamente enfrentando dife-

rentes porcentajes de Complemento con un sistema Hemolítico normal, considerándose como título aquella dilución a la cual se logre hemólisis total; como título práctico se emplean dos unidades más, así: si hemolizó al 2%, se emplea al 4%. (Cuadro N° 6).

Con el objeto de obtener los glóbulos rojos, se sangraron carneros y se recolectó la sangre estérilmente en Alsever; se defibrinó con perlas de vidrio igualmente estériles, y el residuo se lavó varias veces con sol. salina fis. y se centrifugó, hasta obtener un sobrenadante libre de hemoglobina. Los glóbulos se conservaron en nevera, y para la prueba se usaron en sol. al 2.5%.

Los sueros sometidos a la prueba únicamente se trabajaron a la dilución 1:5 y se consideraron positivos aquellos que fijaron en un 100%, o sea los que presentaron una inhibición completa de la hemólisis (cuatro cruces); siempre se controlaron tanto los sueros como el Antígeno.

Dimos como positivo ese título en el suero, siguiendo las experiencias de la Escuela de Salud Pública, en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional, la cual, para el diagnóstico de la Tripanosomiasis Americana, emplea únicamente esa cifra (1:5) como punto de referencia, con miras solamente a determinar en qué casos existen anticuerpos frente al Antígeno correspondiente.

La prueba efectuada se hizo en caliente, con dos incubaciones a 37 grados al baño maria, como se anota en el Cuadro N° 4.

B) OBTENCION Y CULTIVO DEL TRIPANOSOMA CRUZI

La cepa de Tripanosoma Cruzi, empleada en la preparación del Antígeno a

usar en las pruebas, me fue suministrada por los doctores Ucrós y Montaña, de la Escuela de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional.

Medios: Los medios utilizados de preferencia fueron preparados según técnica de la Escuela de Salud Pública, y fueron los siguientes:

Sólido: Agar al 3%	1.000 c.c.
Peptona (Prot. Pep. N° 2)	20 grs.
Glucosa	20 grs.
Sangre al 20%	200 c.c.
pH 7.2-7.4	

Se disuelve al autoclave a una atmósfera durante 20 minutos y luégo se versa en fiolas en pequeñas cantidades. Para esterilizarlo es llevado nuevamente al autoclave a una atmósfera por 15 minutos, cuidando de evitar la caramelización de la Glucosa. Se lleva luégo a control de esterilidad a la estufa a 37 grados durante 24 horas.

Líquido: Tiene la misma composición empleando el Caldo Bovino en lugar del Agar al 3%. - pH 7.2-7.4.

Se envasa en frascos de 100 c. c. y se esteriliza al autoclave a una atmósfera de presión durante 20 minutos. Llevar a la estufa a control de esterilidad.

En los cultivos destinados a la producción de Antígeno, se decidió eliminar la sangre debido a la fácil contaminación en presencia de este elemento y a la subsecuente imposibilidad de lograr un material puro.

A los medios anteriormente expuestos en ocasiones se les adicionó extracto de corazón y cerebro.

Otros medios ensayados: El medio N.N.N, ya descrito.

y . . . :

Infusión de sangre	1.000 c.c.
Proteosa peptona N° 2	20 grs.
Glucosa	20 grs.
Infuso de corazón y cerebro	37.5 grs.

Mezclar en un pyrex y disolver a baño maría. Envasar en frascos de 50 a 100 c.c. y esterilizar a baño maría durante tres días consecutivos.

Para preparar el infuso de sangre: Se toman 500 c. c. de Alsever (no es necesario que esté estéril); y sobre él se toman 500 c. c. de sangre de cordero; se agita para evitar que se coagule; luégo se adicionan 500 c. c. de sol. salina fis. y se coloca el pyrex a baño maría durante 1 hora. A medida que se va evaporando el agua, se repone el vol. inicial con sol. salina. Al cabo de 1 hora se filtra por gaza y por papel de filtro para clarificarlo bien; una vez obtenido el infuso, se añaden los demás ingredientes.

Con estos medios no se lograron mejores resultados que con los mencionados en primer término.

Cultivos: A partir de fiolas con la cepa lo más pura posible, se procedió a sembrarla. El método seguido fue el siguiente:

Se lavaron los cultivos con el medio líquido en proporción de 50 c. c. de medio por cada fiola; agitar para desprender bien el material de la superficie del medio sólido. Verter ese medio líquido de lavado en las fiolas con el medio base ya listo y controlado, en cantidad de 5 c. c. más o menos, por cada una.

Se llevan en seguida a incubar a la estufa, a una temperatura de 24 a 48 grados C., después de haberlas tapado cuidadosamente con tapones de algodón y papel, para evitar la evaporación en lo posible.

Examinar microscópicamente al cabo de 7 días de incubación y eliminar las fiolas contaminadas notoriamente por hongos, bacterias, etc. El crecimiento más completo se obtiene generalmente entre el noveno y undécimo día, época en la cual se puede proceder a clasificar aquellas fiolas destinadas a recoger para Antígeno, o a sembrar para conservar la cepa, o a eliminar.

C) ANTIGENO:

La técnica a seguir es la siguiente:

1. El cultivo que se obtiene de las fiolas se recoge y se pasa por algodón, con el fin de eliminar las impurezas del medio.

2. Lo que se obtiene se lava con sol. salina fisiológica, por lo menos tres veces, por medio de la centrifugación, a 3.000 revoluciones por minuto, eliminando el sobrenadante.

3. El sedimento se suspende en agua destilada estéril, en proporción de 1:10; 10 c. c. de agua destilada por cada c. c. de sedimento.

4. Congelar y descongelar sucesivamente, por lo menos durante 8 o 10 veces.

La congelación en una hora a -25 grados C., y la descongelación puede ser a temperatura ambiente o al baño maría a 37 grados por 2 minutos. Luégo de cada una de estas operaciones, se agita muy bien el material, por lo menos durante 15 minutos.

5. Centrifugar.

6. Recoger el sobrenadante y agregarle sol. salina 10 veces hipertónica en la proporción 1/10; es decir, por cada c. c. de salina se adicionan 10 c. c. del sobrenadante; 0.8 c. c. de salina para 8 c. c. de sobrenadante. La sol. salina 10 veces hipertónica se prepara agregando 8.5 grs.

de cloruro de sodio a 100 c. c. de agua destilada.

7. El líquido así obtenido viene a constituir el Antígeno, el cual debe ser conservado en nevera.

Tanto la conservación como la duración es necesario tenerlas en cuenta de manera especialísima; en el caso de este tipo de Antígeno, solamente conserva una buena actividad antigénica durante un máximo de tres o cuatro semanas. Datos complementarios sobre este tópico están expuestos en la Primera Parte de este trabajo, al referirme a los parásitos en sí: Conservación en Dimetil-sulfóxido más glicerol a 5 y 10%, respectivamente; Congelación y Cultivos. En el Cuadro N^o 11 se anotan datos referentes al mejor método de conservación del Antígeno utilizado en estas pruebas investigativas.

Titulación del poder fijante: Para titular el Antígeno se utilizaron sueros positivos suministrados por la Escuela de Salud Pública, de títulos conocidos. También en algunas ocasiones se emplearon sueros liofilizados de perros infectados que se encontraban en la Cava del Instituto; de estos últimos, una buena cantidad manifestó poder anti-complementario.

La técnica seguida para la titulación consistió en poner en contacto el suero positivo a diferentes diluciones, con distintas diluciones del Antígeno; admitiendo como título la mayor dilución de Antígeno capaz de fijar el Complemento al título dado del suero. En resumen, se trata de una serie de Fijaciones de Complemento. En el Cuadro N^o 1 se hace una relación de las titulaciones de los seis lotes de Antígeno que se utilizaron en el presente trabajo; se prepararon XI lotes, pero fueron eliminados cinco por presentar un bajo título o por tener poder anticomplementario, como aparece en los

Cuadros Nos. 7 y 8. Los lotes usados se titularon con una periodicidad de 5 días, para comprobar y controlar su efectividad.

Poder anticomplementario del Antígeno: Con miras a determinar el poder anticomplementario, se pusieron en contacto diferentes diluciones de Antígeno, comenzando por un tubo con el elemento sin diluir, 1:2, 1:4, etc. con Complemento al título utilizado (4% por lo general). En el Cuadro N^o 2 se anotan los resultados sobre los seis lotes empleados.

Investigación del poder hemolítico: Diferentes diluciones del Antígeno se enfrentaron a una suspensión al 2.5% de glóbulos rojos de cerro; ninguno de los lotes presentó poder hemolítico, como se expresa en el Cuadro N^o 3.

Investigación de la eficiencia: 1. Sueros de bovinos cuya infección con Tripanosoma se comprobó por frotis sanguíneos, coloreados con azul de metileno o con la coloración de Wright, fueron sometidos a la Fijación de Complemento con el Antígeno preparado en nuestro laboratorio.

Se apreció una considerable inhibición de la Hemólisis, cuatro cruces, por parte de los diez casos, a una dilución 1:5; dichos sueros provenían de una hacienda de Valledupar, en el Departamento del Magdalena.

2. De ovejas infectadas con Melophagus Ovinus, se tomaron sueros con los cuales se hicieron las pruebas de Fijación de Complemento con nuestro Antígeno. La presencia del tripanosoma Melophagium fue comprobada en las garrapatas por frotis del contenido intestinal o de la mucosa, coloreado simplemente con azul de metileno o por el método de Wright; microscópicamente se observaron las siguientes características: cinetónúcleo no terminal, extremidad posterior delgada y puntuda, cuerpo incurvado.

El total de sueros trabajados con esta intención fue de cincuenta, y de ellos todos presentaron una completa inhibición de la Hemólisis a la dilución 1:5. Las ovejas procedían todas de la Sabana de Bogotá.

D) ENSAYOS CON TRIPANOSOMA MELOPHAGIUM:

Estos ensayos fueron hechos con miras a tratar de obtener un Antígeno a partir de una especie de tripanosoma más ligada a las reacciones de los diferentes animales susceptibles a la infección, o quizá con mejores posibilidades de aplicación en el diagnóstico de la enfermedad en el campo de la Veterinaria.

En primer lugar, se procedió a recoger Melophagus Ovinus de una serie de ovejas infestadas; estos parásitos fueron abiertos y se procedió a hacer frotis del contenido intestinal con el fin de comprobar microscópicamente la presencia del parásito en sus huéspedes habituales; se utilizaron la coloración simple con azul de metileno y la coloración de Wright como sigue: El frotis, luego de hecho, se deja secar al aire. Se cubre con el colorante por 5 minutos. Agregar agua destilada en cantidad doble al colorante, sin botar éste, por 5 minutos. Lavar con agua corriente hasta que se obtenga un color rosado; durante la coloración hay que cubrir la lámina con una caja, para evitar la evaporación del alcohol metílico.

Se comprobó la presencia del tripanosoma y luego se trató de sembrar para estudiar la posibilidad de purificarlo. Se empleó el medio de cultivo utilizado para el Tripanozoma Cruzi, y con el objeto de evitar un tanto la contaminación, se adicionó con antibióticos solos o en asociación: Penicilina, Streptomina, Aurcomicina, Tetraciclina, Neomicina.

A pesar de los repetidos ensayos hechos, no se consiguió adaptar el parásito, ni se logró terminar con la contaminación fuerte y constante, si no en bacterias, en hongos.

E) RESULTADOS Y DISCUSION:

Sobre 1.770 sueros trabajados, se encontraron 53 positivos a la dilución 1:5, o sea un porcentaje del 3% (Cuadro Nº 5).

De las ocho zonas del país investigadas (Cundinamarca, Tolima, Valle, Llanos Orientales, Santander del Sur, Magdalena, Caquetá, Huila), solamente apareció libre de reactores Santander, pero es digno de tenerse en cuenta el escaso número de sueros que nos llegaron.

Es interesante el hecho de que en regiones frías se obtuvo un total de positividad del 0.39%, lo cual puede deberse a tratarse de zonas en las cuales hay gran cantidad de ganado de tránsito, en venta para levante o para matadero, como pueden ser los casos de Ubaté y Facatativá, sitios a los cuales con mucha frecuencia hay afluencia de bovinos procedentes de los Llanos Orientales y Huila principalmente, con el objeto de satisfacer la demanda de carne en el mercado.

El porcentaje más alto de reactores es el correspondiente a los Llanos Orientales: 5.2%, seguido del de Magdalena, 5%; lo cual nos demuestra que el mayor número de reactores se encuentra en las zonas geográficas y climáticas en las cuales la infección ha sido comprobada clínicamente y por medio de frotis sanguíneos.

Por lo menos 200 sueros fueron eliminados y no fueron tenidos en cuenta, por haber presentado poder anti-complementario en gran escala; probablemente por haber soportado altas temperaturas, tan-

to antes como durante el viaje, y por no haber sido ideales las condiciones en que fueron remitidos. Estos casos fueron frecuentes únicamente en lotes enviados de zonas muy ardientes.

De los once lotes de Antígeno preparados, se eliminaron 5 por bajos títulos, o por haber presentado poder anticomplementario, como se anota en los Cuadros Nos. 7, 8 y 9.

En cuanto a la intención de probar la eficiencia del Antígeno, es lamentable no haber podido conseguir un mayor número de casos clínicamente comprobados, ya por clásica sintomatología, o en el laboratorio mediante frotis sanguíneos coloreados con los métodos especiales para hemoflagelados. Pero ello se debió a la distancia de las zonas afectadas y a la imposibilidad de un viaje con miras a lograr ese objetivo.

F) CONCLUSIONES:

1. Por primera vez se hace en Colombia una encuesta epidemiológica sobre tripanosomiasis bovina, por medio de la Fijación de Complemento, y utilizando como Antígeno cepas de *Schizotripanium Cruzi*.

2. Se ha comprobado por primera vez en nuestro país la presencia de bovinos reactores serológicos positivos a dicha enfermedad, principalmente en los Llanos Orientales y Magdalena.

3. Teniendo en cuenta que se sospecha en el país (Guajira), la presencia del Mal del Coito o Durina, ocasionada por el *Tripanosoma Equiperdum*, sería interesante seguir el ejemplo de países como el Canadá, los cuales, por medio de la Fijación de Complemento, han trabajado intensamente en el diagnóstico precoz y luego en la erradicación de una enfermedad de tan graves consecuencias para los equinos.

C U A D R O N ° 4
TECNICA PARA LA FIJACION DE COMPLEMENTO

Tubos N°	Suero	Antigeno	Complemento	S. salina	S. hemolítico
1	0.25 c. c. dil. 1:5	0.25 c. c.	0.25 c. c.	0.00 c. c.	0.50 c. c.
CONTROL PODER ANTICOMPLEMENTARIO DEL SUERO					
2	0.25 c. c. dil. 1:5	0.00 c. c.	0.25 c. c.	0.25 c. c.	0.50 c. c.
CONTROL PODER ANTICOMPLEMENTARIO DEL ANTIGENO					
3	0.00 c. c.	0.25 c. c.	0.25 c. c.	0.25 c. c.	0.50 c. c.
CONTROL PODER HEMOLITICO DEL ANTIGENO					
4	0.00 c. c.	0.25 c. c.	0.00 c. c.	0.50 c. c.	0.50 c. c.

LECTURA: SE HACE DESPUES DE UNA INCUBACION DE 30 MINUTOS A 37 GRADOS C. AL BAÑO MARIA.

INCUBAR DURANTE 30 MINUTOS AL BAÑO MARIA A 37 GRADOS C.

C U A D R O N ° 5
RESULTADOS DE LA FIJACION DE COMPLEMENTO SOBRE 1.770 SUEROS BOVINOS

Departamentos	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS				Total
	Positivos	%	Negativos	%	
Cundinamarca	33	3.3	1.053	96.7	1.089
Tolima	1	1.14	86	98.86	87
Llanos Orientales	5	5.2	91	94.8	96
Valle del Cauca	3	1.36	217	98.64	220
Santander del Sur	0	0	21	100	21
Magdalena	5	5	94	95	99
Caquetá	2	2.9	67	98.9	69
Huila	1	1.12	88	98.88	89
Total	53	3	1.717	97	1.770
Clima frío	22	0.39	574	99.61	596
Climas medio y cálido	31	2.72	1.143	97.28	1.174
Total	53	3	1.717	97	1.770

C U A D R O N ° 6
TÍTULACION DEL COMPLEMENTO PARA LA PRUEBA

Dilución del Complemento	1%	2%	3%	4%	5%	6%
Complemento	0.25 c. c.					
Sol. salina	0.50 c. c.					
INCUBACION A BAÑO MARIA A 37 GRADOS DURANTE 30 MINUTOS						
Sistema hemolítico	0.50 c. c.					
INCUBACION A BAÑO MARIA A 37 GRADOS DURANTE 30 MINUTOS						

LECTURA: SE CONSIDERA COMO TITULO AQUELLA DILUCION MINIMA CAPAZ DE HEMOLISAR UNA SUSPENSION DE GLOBULOS ROJOS AL 2.5%. PARA SU EMPLEO PRACTICO SE CONCENTRA GENERALMENTE DOS UNIDADES MAS; SI EL TITULO ES DE 2%, SE UTILIZA AL 4%.

CUADRO N° 7
PODER FIJANTE DE LOS CINCO LOTES DE ANTIGENO ELIMINADOS

Lote	DILUCIONES DE ANTIGENO									
	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	1:55	1:60	1:65	1:70	1:75
7	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—
8	++++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
9	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—	—	—
10	++++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
11	++++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—

CUADRO N° 8
PODER ANTICOMPLEMENTARIO DE LOS CINCO LOTES DE ANTIGENO ELIMINADOS

Lote	DILUCIONES DE ANTIGENO									
	Puro	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	
7	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	—	—	
8	++++	++++	+++	++	—	—	—	—	—	
9	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	—	—	
10	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—	—	
11	++++	++++	+	—	—	—	—	—	—	

CUADRO N° 9
PODER HEMOLITICO DE LOS CINCO LOTES DE ANTIGENO ELIMINADOS

Lote	DILUCIONES DE ANTIGENO									
	Puro	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
9	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
11	++++	+++	+	—	—	—	—	—	—	

CUADRO N° 10
TITULACION DE LA HEMOLISINA PARA LA PRUEBA

Tubos N°	1	2	3	4	5
Complemento 3%	0.25 c. c.				
Sol. salina	0.50 c. c.				
INCUBAR A 37 GRADOS C. A BAÑO MARIA DURANTE 30 MINUTOS					
Sistema hemolítico	0.50 c. c.				
INCUBAR A 37 GRADOS C. A BAÑO MARIA DURANTE 30 MINUTOS					
Dilu. Hemolisina	1:1.000	1:2.000	1:3.000	1:4.000	1:5.000

LECTURA: SE CONSIDERA COMO TITULO LA MAXIMA DILUCION CAPAZ DE DETERMINAR HEMOLISIS DE UNA SUSPENSION DE GLOBULOS ROJOS AL 2.5%, FRENTE A UN COMPLEMENTO RECIENTEMENTE TITULADO. EN LA PRACTICA, LA HEMOLISINA SE UTILIZA A UN TITULO DOS UNIDADES INFERIOR AL DADO POR LA PRUEBA: SI SE LEE 1:4.000, SE UTILIZA 1:2.000.

CUADRO N° 11

COMPARACION ENTRE LA CONSERVACION DEL ANTIGENO EN NEVERA Y EN CONGELACION

Lote N°	Suero +	Tit. inicial	8 días		15 días		21 días		30 días	
			N.	C.	N.	C.	N.	C.	N.	C.
1	1:20	1:50	1:50	1:50	1:50	1:40	1:50	1:40	1:30	1:10
2	1:20	1:30	1:30	1:30	1:30	1:10	1:20	1:10	1:20	—
3	1:20	1:65	1:65	1:60	1:65	1:25	1:65	1:20	1:65	1:20
4	1:20	1:55	1:55	1:55	1:50	1:20	1:50	1:20	1:30	—
5	1:20	1:40	1:40	1:40	1:40	1:10	1:30	1:10	1:20	—
6	1:20	1:30	1:30	1:30	1:20	1:20	1:20	1:20	1:10	1:10

TRIPANOSOMAS PATOGENOS PARA LOS MAMIFEROS EN COLOMBIA

GENERO	VIVAX	EVANSI
Distribución geográfica ...	Africa tropical y América ...	Asia, Norte de Australia, Madagascar y América.
Descubridor ...	Ziemann, 1905 ...	Evans, 1880.
Mamíferos domésticos ...	Équidos y rumiantes (ovinos y bovinos) ...	Équidos, rumiantes y perros.
Animales salvajes ...	Mamíferos, reservorios los de caza.	Búfalos de agua. Rumiantes, elefantes. Reservorios los de caza.
Morfología. — Características ...	La mitad posterior del cuerpo tiene una apariencia combada y es más ancha. Flagelo más recto. Membrana menos desarrollada ...	Cuerpo alargado, extremos alargados incurvados en forma de media luna. Flagelo largo móvil. Más uniforme que los africanos.
Tamaño en micras ...	18 a 26 ...	18 a 34.
Patogenia. — Enfermedad ...	Tripanosomiasis bovina principalmente ...	"Surra".
Localización ...	En los ganglios linfáticos. Menos a menudo en la sangre ...	En la sangre.
Patología. — Síntomas ...	Enfermedad debilitante crónica con fotofobia, edemas, anemia y debilitamiento ...	Fiebre irregular, emaciación, anemia, equimosis. Invariablemente fatal.
Animales de laboratorio ...	Moderadamente virulento. Susceptibles los conejos. Refractarios perros, curies, ratas, ratones ...	Altamente virulento para todos. Especialmente ratas y ratones; menos conejos y cobayos.

TERCERA PARTE

BIBLIOGRAFIA

¹ ABONDANO HERRERA (1933). — Contribución al Estudio Quimioterápico de las Tripanosomiasis. *Rev. Med. Vet. de la Escuela Nal. de Med. Vet.* N° 44, pp. 724-731.

² ARIZA LUIS (1952). — Contribución al Estudio de la Patología Tropical. *Rev. Med. Fac. de Med. Vet. y Zootecnia*, N° 106, pp. 18-41; N° 107, pp. 63-102; N° 108, pp. 126-146.

³ ALVAR V. S. (1962). — Series de pases de Tripanosoma Evansi en Aves. *Indian Vet. Journal*, 39, 557-559.

⁴ ANON L. (1946-47). — Descrizione de la prima infezione contracta in laboratorio da Tripanosoma Evansi. *Mem. Academ. Sci. Ist. Bologna*, Ser. 104, pp. 1-19; 1-600.

⁵ ALVAR V. S. y RAMANUJACHARI G. (1953). — Observaciones sobre el comportamiento y transmisibilidad del T. Evansi en pollitos

- nacidos de huevos inoculados. *Indian Vet. Journal* 29, 383-387.
- 6 ANGELOFF S., GALABOFF y NIKOLOFF P. (1957).—Estudio Electroforético del curso de la Tripanosomiasis experimental en conejos. *Vet. Bull.* Vol. 28 N° 5, 1.400.
 - 7 ALWAR V. S. (1958).—Transmisión Experimental del T. Evansi. *Indian Vet. Journal* 35, 412-415.
 - 8 ADIWINATA R. T. (1958).—Investigaciones en el uso de una combinación de Suramina y Hialurodinasa en el Control de la Surra. *Vet. Bull.* Vol. 28, N° 9, 2805.
 - 9 BELL F. R. y JONES E. R. (1946).—Carbohydrate Metabolism in Bovine Tripanosomiasis. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 40, 199-208.
 - 10 BLOMMAERT M. (1948).—Dimidium Bromide in Treatment of Bovine Tripanosomiasis. *Vet. Bull.* Vol. 19 N° 12, 2911.
 - 11 BORDING A. (1948).—Inmunization Experiments against T. Equiperdum. *Vet. Bull.* Vol. 19 N° 4, 928.
 - 12 BORNNETT S. F. (1947).—Bovine Tripanosomiasis with special reference to its treatment with Phenanthridium 897. *Vet. Rec.* 59, 459-462.
 - 13 BAKER J. R. (1956).—Estudios sobre T. Avium, Dawleswisky 1.885: I. Incidencia en algunas aves de Hertfordshire. II. Transmisión por Ornithorya Avicularia. III. Ciclo de vida de los huéspedes vertebrados e invertebrados. *Parasitology* 46, 308-320; 321-334; 335-352.
 - 14 BOEHRINGER E. G., FOMARI O. E. y BOEHRINGER I. K. (1959).—Tratamiento del Mal de Caderas con Ganaseg. *Rev. Invest. Canad.* N° 6, pp. 139-150.
 - 15 BRAGA P. C. (1957).—Tratamiento Experimental para la Tripanosomiasis. *Zooprofilaxis* 12, 552-558.
 - 16 BOEHRINGER E. G. y BOEHRINGER I. K. (1960).—Susceptibilidad de los Cerdos al T. Equinum. *Vet. Bull.* Vol. 31 N° 1, 85.
 - 17 BOEHRINGER E. G. (1961).—Infestación Natural del Vacuno con T. Equinum. *Rev. Med. Invest. Canad.* N° 11, pp. 63-68.
 - 18 CURASSON G. y MORNET P. (1942).—Tripanosoma Vivax Infection in Laboratory animals. *Bull. Service Zootech. Epiz.* A. O. F. 5, 9-15.
 - 19 CARMICHAEL (1948).—Discussion: The Epidemiology of Tripanosomiasis in man and animals. *Proc. R. Soc. Med.* 41, 551-558.
 - 20 CORSON J. F. (1946).—Heterogeneity of strains of Polimorphic Tripanosomes: Its relations to natural and experimental transmission. *Trop. Dis. Bull.* 43, 169-176.
 - 21 CABRERA D. J. y LIN T. J. (1956).—Indice de cambios nucleares y otras variaciones hematológicas en la Surra. *Amer. Vet. J. Res.* 17, 615-625.
 - 22 CRAIG (1945).—Laboratory Diagnosis of Protozoan Diseases. Chapter XVI. Diagnóstico Serológico de las Tripanosomiasis, p. 201.
 - 23 CANTRELL W. (1960).—La forma de Variaciones Antigénicas en el T. Equiperdum. *J. Infect. Dis.* 107, 29-33.
 - 24 CURASSON (1943).—Traité de Protozoologie Vétérinaire et Comparée. Tome I.
 - 25 CANTRELL W. (1958).—Resistencia a los anticuerpos del T. Equiperdum. *Fed. Proc.* 17, 356.
 - 26 CASTILLO A. M. y JOAQUÍN Z. B. (1955).—Estudios sobre la Surra: I. Nivel de azúcar sanguíneo y efecto de las inyecciones de glucosa en ratas infectadas con T. Evansi. *Philipp. J. Anim. Ind.* 16, 189-196.
 - 27 CHANDLER A. C. (1958).—Algunas consideraciones relativas a la Naturaleza de la Inmunidad en las infecciones por T. Lewisi. *J. Parasit.* 44, 129-135.
 - 28 CEBE J. (1951).—Quimioterapia de la Tripanosomiasis en los animales. *Vet. Bull.* Vol. 22 N° 9, 2779.
 - 29 DOMANSKY (1948).—Complement Fixation in diagnosis of Dourine. *Bull. Off. Internat. Epiz.* 29, 7-11.
 - 30 DODIN A., FROMENTIN H. y GLEYE M. (1962).—Antígeno inmunizante en el plasma de ratones experimentalmente infectados con varias especies de Tripanosomas. *Bull. Soc. Pat. Exot.* 55, 291-299.
 - 31 DESOWITZ y WATSON (1951).—Estudios sobre el T. Vivax. Susceptibilidad de ratas blancas a la infección. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 45, 207-219.
 - 32 DE JESÚS Z., CABRERA D. J. y GONZÁLEZ F. Z. (1949).—Studies on the control of Surra: an effective and economical method of curative treatment of equine Surra. *Natural appl. Sci. Bull.* 11, 191-207.
 - 33 DE JESÚS Z. (1951).—Studies in the control of Surra. V. Experiments on Surra transmission. *Natural Appl. Sci. Bull.* 11, 253-272.

- 34 DESOWITZ R. S. y WATSON H. J. C. (1953). Estudios de *T. Vivax*. Aparición de anticuerpos en el suero infectado de ovejas y de ratas blancas, y su influencia en el curso de la infección en ratas blancas. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 47, 247-257.
- 35 DESOWITZ R. S. y WATSON H. J. C. (1953). Studies on *T. Vivax*. The maintenance of a strain in white rats without sheep serum supplement. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 47, 62-67.
- 36 DE FIESTAS J. L. P., ROCHA V. G., VÁSQUEZ J. A. Z. y T. N. (1952).—Preliminary inquiry about *T. Cruzi* infection in domestic dogs and cats in Campo Florido, Minas Gerais, Brazil. *Rev. Fac. Med. Vet. Sao Paulo* 4, 545-551.
- 37 DHILLON H. S. (1953).—Un caso latente de Surra Bovina diagnosticado por la prueba M. B. 744 de Ray. *Indian Vet. J.* 29, 242-243.
- 38 DIAMOND L. S. y RUBY N. R. (1956).—Susceptibilidad de los animales domésticos a la infección con *T. Cruzi* del Mapache. *J. Parasit.* 42, Nº 4, sec. 2 (suppl. pp. 21).
- 39 DICKMANS G., MANTHEI C. A. y FRANK A. H. (1957).—Demostración del *T. Theileri* en el estómago de un feto bovino abortado. *Cornell Vet.* 47, 344-353.
- 40 DESOWITZ R. S. y FAIRBAIRN H. (1955). The influence of temperature on the length of the developmental cycle of *T. Vivax* in *Glossina Palpalis*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 49, 161-163.
- 41 DIAMOND L. S. y RUBIN R. (1958).—Infección experimental de ciertos mamíferos con una cepa norteamericana de *T. Cruzi* del Mapache. *Vet. Bull.* Vol. 29 Nº 1, 58.
- 42 DESOWITZ R. S. (1959).—Estudios sobre inmunidad y relación parásito-huésped: I. Respuesta inmunológica de resistencia y susceptibilidad de razas bovinas a la Tripanosomiasis. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 53, 293-313.
- 43 DESOWITZ R. S. (1957).—Complejos de Suramina: Actividad profiláctica frente al *T. Vivax* en el ganado. *Ibid.* 457-463.
- 44 DESOWITZ R. S. (1960).—Efecto desnaturalizante de drogas básicas tripanocidas, sobre la proteína de células libres de extractos tripanosómicos. *Vet. Bull.* Vol. 31 Nº 1, 86.
- 45 DESOWITZ R. S. (1961).—Investigaciones sobre la Inmunología Tripanosómica. *Vet. Bull.* Vol. 32 Nº 3, 734.
- 46 DE JESÚS Z. (1962).—Resistencia del *Tripanosoma Evansi*, determinada por su relativa viabilidad en sangre y carne. *Philipp. J. Vet. Med.* 1, 3-9.
- 47 DUNN L. H. (1932). Experiments in the transmission of *T. Hippicum* with the *Desmodus Rotundus*. *Rev. Med. Vet. Escuela Nal. de Med. Vet.* Nº 49, pp. 876.
- 48 EDWARDS (1948).—Discussion: The Epidemiology of Tripanosomiasis in man and animals. *Proc. R. Sos. Med.* 41, 551-558.
- 49 EVENS y SCHOENAERS F. y KAECHENBEECK (1953).—Un método para el mejoramiento en el rendimiento de la preparación de antígeno tripanosoma obtenido de ratas. *Ann. Soc. Med. Belg. Trop.* 33, 217-219.
- 50 EDWARDS E. D., JUDD J. M., SQUIRE F. A. (1956).—Observaciones sobre la Tripanosomiasis en animales domésticos. I. Índice diario de infección y valores hematológicos semanales en cabras y ovejas infectadas con *T. Vivax*, Congolense y Brucei. II. Efecto sobre la rata de sedimentación de los eritrocitos, proteína plasmática, Bilirrubina, azúcar sanguíneo, fragilidad osmótica de las células rojas, peso corporal y temperatura en cabras inoculadas con *T. Vivax*, Congolense y Brucei. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 50, 223-241; 242-251.
- 51 FAIRBAIRN H., CULWICK A. T. (1946).—A new approach to Tripanosomiasis. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 40, 421-452.
- 52 FORD J., WHITESIDE E. F. y CULWICK (1948).—The Tripanosomiasis problem E. *Afr. Agr. F.* 13, 187-194.
- 53 FIENNES R. N. T. W. (1950).—The cattle tripanosomiasis; some considerations of pathology and immunity. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 44, 42-54.
- 54 FAIRBAIRN H. y CULWICK (1950).—Distribution of tripanosomes in blood films. *Vet. Bull.* Vol. 22 Nº 1, 76.
- 55 FIENNES R. N. T. W. (1950).—Tripanosomiasis en el ganado; Tripanosomiasis secreta. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 44, 222-237.
- 56 FIENNES R. N. T. W. (1952).—Antrycide y el futuro de la tripanosomiasis en el ganado. *Vet. Bull.* Vol. 22 Nº 12, 3668.
- 57 FIASSON R., MAYER M. y PIFANO E. (1948). *Odocoileus gymnotis*, a carrier of tripanosoma *Vivax* in Venezuela. *Bull. Soc. Path. Exot.* 41, 206-208.

- 58 FIENNES R. N. T. W. (1948).—Control of cattle tripanosomiasis. *Nature. Lond.* 161, 602-603.
- 59 FAIRBAIRN H. (1954).—The prevalence in Nigeria and the morphology of tripanosoma Vivax. *Proc. 5th. Meet. Int. Sci. Trip. Res.* 1954 B. P. I. T. T., publ. N° 206, pp. 158-169.
- 60 FIENNES R. N. T. W. (1952).—Pigment in trip. in cattle. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 46, 462-463.
- 61 FIENNES R. N. T. W. (1953).—Trip. en el ganado; experimentos con permanencia de ganado en zonas de insectos, luego de profilaxis a base de drogas. *Vet. Bull. Vol.* 24 N° 2, 380.
- 62 FIENNES R. N. T. W. (1953).—Los resultados de autopsias de ganado infectado con tripanosomiasis. *Brit. Vet. J.* 109, 511-520.
- 63 FAIRBARN H. (1953).—Studies on T. Vivax—Morphological differences in strains and their relation to pathogenicity. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 47, 394-405.
- 64 FIENNES R. N. T. W. (1954).—Haematological studies in tripanosomiasis of cattle. *Vet. Rec.* 66-423-434.
- 65 FIENNES R. N. T. W. (1951).—Inspecciones ocultas de Tripanosomiasis en el ganado. *Vet. Bull. Vol.* 22 N° 12, 3666.
- 66 GOLAZEWISKI (1947).—Control de la Durina. *Vet. Bull. Vol.* 19 N° 1, 49.
- 67 GRUNERT Z. (1948).—Comparative Studies upon the value of serological methods in the diagnosis of dourine. *Vet. Bull. Vol.* 19 N° 8, 17, 75.
- 68 GUYAUX R. (1948).—Clinical observations on cattle treated for Trip. with Dimidium Bromide. *Vet. Bull. Vol.* 19 N° 12, 2911.
- 69 GUYAUX R. (1948).—Epidemiology of Bovine Trip. *Vet. Bull. Vol.* 21 N° 5, 1302.
- 70 GUYAUX R. (1951).—Tripanosomiasis latente e inmunización contra la Morriña con virus Cabra. *Vet. Bull. Vol.* 22 N° 6, 1653.
- 71 GANAPATI P. N. (1948).—Cultivation of T. Cruzi in the developing chickembryo. *Nature. Lond.* 162, 963-964.
- 72 GRIFFITHS B. L. (1958).—La reacción de la Goma Coloidal en la Tripanosomiasis Bovina y de otros animales. *Nature. Lond.* 186, 1058-1059.
- 73 GRAY A. R. (1960).—Anticuerpos precipitantes en la Tripanosomiasis Bovina y de otros animales. *Vet. Bull. Vol.* 29 N° 2, 362.
- 74 GODFREY D. G. (1958).—Influencia de la dieta de Aceite de Hígado de Bacalao sobre los tripanosomas Congolense, Cruzi, Vivax y Brucei. *Exp. Parasit.* 7, 255-268.
- 75 GRAY A. R. (1961).—Antígenos solubles de T. Vivax y de otros tripanosomas. *Immunology* 4, 253-261.
- 76 GRANT P. T., SARGENT, RYLEY J. F. (1961).—Sistema Respiratorio en los Tripanosomidae. *Biochem. J.* 81, 200-206.
- 77 HORNBY H. E. (1949).—Electrical charge of tripanosomes. *Vet. Bull. Vol.* 20, N° 1, 78.
- 78 HAWKING F. (1962).—Una cepa de T. Vivax. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 56, 222-224.
- 79 HOARE (1948).—Discussion: The Epidemiology of Tripanosomiasis in man and animals. *Proc. R. Soc. Med.* 41, 551-558.
- 80 HOARE C. A. (1949).—Akinetoplastic strains of T. Evansi and the status of allied T. in America. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 10, 81-90.
- 81 HOARE (1948).—La relación de los Hemoflagelados. *Vet. Bull. Vol.* 22 N° 1, 77.
- 82 HADJU S. (1949).—Preparation of T. Equiperdum Antigen. *Cas. Ceskolovensk. Vet.* 4, 393-403.
- 83 HARVEY S. C. (1949).—El Metabolismo Carbohidratado del T. Hippicum. *J. Biolog. Chem.* 179, 435-453.
- 84 HOOD M. N. (1949).—Infecciones con T. Equiperdum, Hippicum y Brucei en animales de laboratorio.
- 85 HOARE C. A. (1952).—El Polimorfismo del T. Evansi. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 46, 367-368.
- 86 HOOLO A. (1953).—Preparación del Antígeno tripanosoma de alto título, obtenido de perros. *Acta Vet. Hung.* 3, 135-142.
- 87 HOARE C. A. (1954).—Pérdida del quinetoplasto en los tripanosomas, con especial referencia al Evansi. *J. Protozoolog.* 1, 28-33.
- 88 HOLZ J. y TAUDJUND R. (1956).—Administración intramuscular o subcutánea de Suramina, combinada con Hialuronidasa, en la profilaxis de la Surra en el ganado. *Vet. Bull. Vol.* 27, N° 4, 1072.
- 89 HEWITT R. I., GRUMBLE A. R., TAYLOR L. A., WALLACE W. S. (1957).—Actividad de un nuevo antibiótico, la Nucleocidina, en infecciones experimentales con T. Equiperdum. *Vet. Bull. Vol.* 27, N° 8, 2358.

- ⁹⁰ HERUN V. y THIENPONT D. (1954).—Contribución al estudio de los accidentes tóxicos consecutivos a la administración de ciertos tripanocidas. *Ann. Soc. Med. Belg. Trop.* 34, 433-445.
- ⁹¹ HAWKING (1958).—La acción del Berenil sobre los tripanosomas, incluyendo cepas resistentes al Antrycide y la Stilbamidina. *J. Comp. Path.* 68, 259-299.
- ⁹² HERBERT I. V. (1961).—Tripanosomiasis Bovina debida a *Tripanosoma Theileri*. *Irish. Vet.* 15, 230-236.
- ⁹³ IYER A. R. (1948).—Surra en Bovinos; algunos síntomas poco conocidos. *Indian. Vet. Journal* 24, 298-299.
- ⁹⁴ ILUKEUITSCH A. (1954).—Tripanosome *Venezuelensi* infection in horses and donkeys in Venezuela. English and french summaries. Abs. from English summary. *Vet. Bull.* Vol. 25, 3993.
- ⁹⁵ INGRAM D. G. y SOLTYS M. A. (1960).—Inmunidad en la Tripanosomiasis. IV. Inmunoconglutininas en animales con tripanosomiasis. *Parasitology* 50, 231-239.
- ⁹⁶ JUSSANT (1948).—Tratamiento de las infecciones con *Tripanosomas Vivax* y *Congolense*. *Vet. Bull.* Vol. 19 N° 12, 2912.
- ⁹⁷ JOHNSON (1946).—Efecto del tiempo y temperatura de inactivación sobre la actividad de ciertos sueros bovinos a la Fijación de Complemento. *Vet. Bull.* Vol. 24 N° 9, 2603.
- ⁹⁸ JAROSLOW B. N. (1960).—Factores asociados con la iniciación de la respuesta inmunitaria. *Vet. Bull.* Vol. 31, N° 1, 138.
- ⁹⁹ KRANEVELD F. C. y MANSJOER M. (1947).—Surra in pigs. *Vet. Bull.* Vol. 19, N° 10, 2420.
- ¹⁰⁰ KRANEVELD y DJAENOEDIN (1949).—Inmunización contra la infección con *Tripanosoma Evansi*. *Vet. Bull.* Vol. 22, N° 5, 1281.
- ¹⁰¹ KLEINSCHMIDT (1951).—Estructura de los *Tripanosomas*. *Vet. Bull.* Vol. 22, N° 5, 1284.
- ¹⁰² KAPLAN M. M. (1949).—Antígeno liofilizado para la prueba de la Fijación de Complemento en la Durina. *F. A. O. Agric. Studies* N° 10, 189-1991.
- ¹⁰³ KLEINSCHMIDT y SCHEICH (1951).—Estructura de los tripanosomas: Flagelo. *Vet. Bull.* Vol. 22, N° 11, 3315.
- ¹⁰⁴ KRANEVELD F. C. y MANSJOER M. (1949).—La viabilidad del *Tripanosoma Evansi* en sangre citratada con 0.5% de fenol. *Hemera Zoa.* 56, 286-295.
- ¹⁰⁵ KRANEVELD F. C., HOWINK A. L. y KEYDEL H. J. W. (1951).—Microscopio electrónico en la investigación de los tripanosomas. *Vet. Bull.* Vol. 23, N° 1, 77.
- ¹⁰⁶ KALTENBACH A. (1954).—Fórmula leucocitaria en la Surra natural y experimental. *Z. Tropp. u. Parasit.* 5, 96-108.
- ¹⁰⁷ KRANEVELD F. C. y MANSJOER M. (1954).—Infección intra-uterina en la Surra. *Hemera Zoa.* 61, 97-108.
- ¹⁰⁸ KASANSKY I. I. (1958).—Control de la Durina y la Surra en Rusia. *Bull. Off. Internat. Epiz.* 49 bis, números 11 y 12, pp. 142-156.
- ¹⁰⁹ LIHOVEROL y PHILIPPE (1947).—Notas morfológicas sobre el *Tripanosoma Suis*. *Vet. Bull.* Vol. 19, 50.
- ¹¹⁰ LANNON y DAUZIER (1944).—Formation de anticorps dans les tripanosomes expérimentales et rôle de la rate. *Cr. Soc. Biol. Paris*, 799-801.
- ¹¹¹ LEWIS E. A. (1954).—Notas sobre el *Tripanosoma Vivax*. *Proc. 5th. Mect. int. Sci. Comm. Trip. Rs. 1954, BPITT.* public. N° 206, 85-89.
- ¹¹² LEVINE N. D., WATRACH A. M., KANTOR S. y KARDENBROOK H. J. (1956).—Un caso de tripanosomiasis bovina debida a *Tripanosoma Theileri* en Illinois. *J. Parasit.* 42, 553.
- ¹¹³ LIPPI M. y GRIMALDI S. (1958).—Granulación tóxica de los leucocitos neutrófilos en la tripanosomiasis experimental en curries. *Arch. Ital. Sci. Med. Trop.* 39, 201-205.
- ¹¹⁴ LUNDHOLM B. D., STORZ J. y MCKERCHER D. G. (1959).—*Tripanosoma Theileri* como una contaminación de cultivos de tejidos de fetos bovinos, células renales in vitro. *Virology* 8, 394-396.
- ¹¹⁵ MARSHALL P. B. (1948).—The Glucose Metabolism of *Tripanosome Evansi*, and the action of tripanocides. *Brit. F. Pharmacolog.* 3, 8-14.
- ¹¹⁶ MITSRLERLICH y SAENBERLICH (1950).—Serological test for diagnosis of Dourine. *Vet. Bull.* Vol. 21, N° 9, 2540.
- ¹¹⁷ MURLIE Z. (1946).—New method for preparing dourine antigen. *Vet. Bull.* Vol. 21, N° 3, 688.
- ¹¹⁸ MUDALIAR y RAY (1947).—Estudios sobre Surra. Surra en bovinos y algunos proble-

- mas relacionados con la enfermedad. *Indian Vet. J.* 23, 281-289.
- 119 MONNET y BAYLET (1951).—Colesterinemia en la Tripanosomiasis. *Vet. Bull.* Vol. 22, N° 8, 2441.
- 120 MONNET, SALANE y CISSOKO (1951).—Profilaxis de la Tripanosomiasis Bovina por agentes terapéuticos. *Bull. Serv. Elev. Industry An. FAO.* 4, N° 2, 37-16.
- 121 MULLIGAN H. W. (1954).—Nig. W. Afr. Inst. for Trip. Res. *Annual Report 1953*, p. 64.
- 122 MULLER J. (1949).—Fijación de Complemento para la Durina en caballos daneses. *Nord. Vet.* 1, 895-904.
- 123 MUNIZ J. y DOS SANTOS, M. C. F. (1950).—Técnica de la Hemólisis Condicionada aplicada en el diagnóstico de la Tripanosomiasis Americana. *Hosp. Río de Janeiro*, 38, 617-620.
- 124 MEYERS W. M. y LIPENKO M. G. (1953).—Effect of sodium salicylate treatment on antibody titers in rats infected with *Tripanosoma Theileri*. *Proc. Soc. Exp. Biolog.* N. V. 84, 97-98.
- 125 MENOLASINA N. J. y HARTMAN (1954).—Inmunología y Serología de algunos parásitos protozoarios flagelados. II. *Leishmania* y *Tripanosoma Cruzi*. *J. Protozool.* 1, 11-113.
- 126 MACLENNAN K. J. R. (1957).—Una técnica de coloración para la identificación de tripanosomas en frotis gruesos. *Trans. Soc. R. Trop. Med. Hyg.* 51, 301-302.
- 127 MEYER H. y PORTER K. R. (1954).—A study of *Tripanosoma Cruzi* with the electron microscope. *Parasitology* 44, 16-23.
- 128 NANI S. y VERGATI A. (1950).—Contribución al estudio de la infección experimental con *Tripanosoma Evansi*. *Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.* 4, 710-726.
- 129 NELSON W. A. (1956).—Mortalidad en la garrapata de las ovejas: *Melophagus Ovinus*, causada por el *Tripanosoma Melophagium*. *Nature. Lond.* 178.
- 130 NELSON W. A. (1961).—Eliminación Experimental del *Tripanosoma melophagium* en sus huéspedes, la oveja y la garrapata *Melophagus Ovinus*. *Nature. Lond.* 190, 739.
- 131 ORMEROD W. E. (1958).—Un estudio comparativo de inclusiones citoplasmáticas (gránulos de volutina), en diferentes especies de tripanosomas. *J. Gen. Micro-Biol.* 19, 271-288.
- 132 ORMEROD W. E. (1961).—Estudio de gránulos de volutina en los tripanosomas. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.* 55, 313-327.
- 133 PANTRIZEL R., DURET J. y RIPERT C. (1962).—Evolución de diferentes anticuerpos durante infecciones tripanosómicas experimentales en conejos. *Rev. Immunol.* 26, 157-166.
- 134 PACKANIAN A. (1948).—The fate of some pathogenic tripanosomes in triatoma and ornithodoros. *Amer. J. Trop. Med.* 28, 541-543.
- 135 PELLEGRINI y BONELLI (1951).—Tratamiento y prevención de la Tripanosomiasis con Antrycide. *Vet. Bull.* Vol. 22, N° 9, 2780.
- 136 PEEL E. y CHARDOME M. (1954).—Una posible tripanosomiasis hereditaria en los animales. *Ann. Soc. Med. Belg. Trop.* 34, 367-369.
- 137 POLGEC. y SOLTYS M. A. (1957).—Preservación de los tripanosomas congelados. *Trans. Soc. R. Trop. Med. G. Hyg.* 51, 7-8.
- 138 POTTS W. H. (1958).—Esterilización de la *Glossina Morsitans* por irradiaciones Gamma. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 52, 484-499.
- 139 PARR H. C. M. (1959).—Estudios sobre *Stomoxys Calcitrans*. *Bull. Ent. Rest.* 50, 165-169.
- 140 QUEVEDO J. M., MENDI R. M., BARDI S. J., FEDERMÁN J., TROVATO O. A., ROVEDA R. J., DÍAZ COLODRERO O., BOERO J. J., DE LA VEGA H. A., URRUTIA A., D'ANGELO E., ORLIACO C., VAGNI O. (1945).—Observaciones sobre la Tripanosomiasis Equina. *Rev. Vet. Milit. B. Aires* 2, 291-308.
- 141 ROBINSON E. M. (1948).—Notes on serological test carried out on equine species infected with dourine. *Onderspoort F. Vet. Sci.* 23, 33-38.
- 142 ROBINSON E. M. (1948).—Dourine infection in young equines. *Onderspoort F. Vet. Sci.* 23, 39-40.
- 143 ROMAÑA C. y G. I. J. (1947).—Artificial Xenodiagnosis of *T. Cruzi* infection. *An. Inst. Med. Regional* 2, 57-60.
- 144 RAY H. N. y HARBANS S. (1948).—Effect of pantothenic acid on the infection of *T. Vivax* in rats. *Nature. Lond.* 162-849.
- 145 RAY H. N., SHORT G. V., SHIVNANI G. A., HAWKINGS P. A. (1953).—Therapy and profilaxis of indian equine and bovine tri-

- panosomiasis by antrycide formulations. *Indian Vet. J.* 29, 469-477.
- 146 RAY H. N., DAS GUPTA N. N., D. E. L. M. y GUHA H. (1955).—A new structure observed in *T. Evansi*. *Nature. Lond.* 175, 392-393.
- 147 RAFALOVICH E. M. (1949).—Aglutination reaction for diagnosis of latente Surra. *Veterinarian moscow* 26, Nº 6, pp. 41-45.
- 148 ROUBAUD (1950).—Trompe de Glossine infectée par *T. Vivax*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 43, 133-134.
- 149 RAY H. N. y BHASKARAN R. (1953).—Pruebas químicas en la Surra Bovina. *Indian Vet. J.* 30, 236-240.
- 150 RISTIC M. y TRAGER W. (1958).—Cultivos de *Tripanosoma Theileri*, a 37 grados C. de vacas con disminuida producción de leche. *J. Prot.* 5, 146-148.
- 151 RAFFEL SIDNEY (1961).—Inmunity, 2ª edición.
- 152 RAY H. N. y MALHOTIA M. N. (1960).—Una cepa de *T. Evansi* akinetoplástica producida por *Prothidium*. *Vet. Bull.* Vol. 31, Nº 6, 1770.
- 153 RENGIFO SALCEDO, S. GROOT y URIBE PIEDRAHITA (1949).—Contribución al estudio de tripanosomas humanos y animales en Colombia. *Rev. Hig. Bogotá*, 24, 3-95.
- 154 STEPHEN L. E. (1962).—Un tripanosoma inidentificado encontrado en la sangre de una cabra infectada por el piquete de una mosca. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 56, 442-425.
- 155 SPRENT J. F. A. (1959).—Parasitismo, inmunidad y evolución. *Vet. Bull.* Vol. 33, Nº 8, 2813.
- 156 STIRNIMANN J. (1947).—Infection in a cow in Switzerland with *T. Theileri*. *Vet. Bull.* Vol. 19, Nº 2, 241.
- 157 SCHEFF G. J. y THATCHER J. S. (1949).—The ole of potassium as cause of death in experimental tripanosomiasis. *F. Parasit.* 35, 35-40.
- 158 SASAKI y NISHII (1950).—On tripanosoma *Theileri* in cattle. *Vet. Bull.* Vol. 22, Nº 2, 364.
- 159 STEWART J. L. (1947).—Porcine Tripanosomiasis. *Vet. Rec.* 59, 648.
- 160 SÉNECA H., HENDERSON E. y HARVEY M. (1949).—Purification of hemoflagellate cultures with antibiotics. *Amer. J. Trop. Med.* 29, 41.
- 161 SCHNITZER, R. J. y KELLY D. R. (1950).—Comparison of two different antagonists as inhibitors of acriflavine fastness of tripanosomes. *J. Immunol.* 64, 95-99.
- 162 SOLTYS M. A. (1958).—Inmunidad en la Tripanosomiasis y su efecto sobre la quimioterapia. *Vet. Rec.* 70, 657-660.
- 163 STEPHEN L. E. y MACKENZIE C. P. (1959).—Infección experimental con *T. Vivax* en equinos. *Vet. Rec.* 71, 527-530 y 531.
- 164 SOLTYS M. A. (1959).—Inmunidad en la Tripanosomiasis. III. Sensibilidad de cepas anticuerpo-resistentes a drogas quimioterapéuticas. *Parasitology* 49, 132-152.
- 165 SMITH I. N. y BROWN K. N. (1960).—Quimio-profilaxis contra la tripanosomiasis bovina. II. Duración de la protección conferida por preparaciones de Metamidio, Prothidium y Antrycide. *J. Comp Path.* 70, 161-175.
- 166 STEPHEN L. E. y GRAY A. R. (1960).—Acción tripanocida de la Nucleocidina contra el *T. Vivax* en el ganado bovino. *J. Parasit.* 46, 509-514.
- 167 SOLTYS M. A. (1957).—Inmunidad en la tripanosomiasis. I. Reacción de la Neutralización. II. Reacción de Aglutinación con Tripanosomas Africanos. *Parasitology* 47, 375-389 y 390-395.
- 168 STUBBS R. K., BOBALIK G. y ERCOLI N. (1958).—Efecto de los rayos X sobre el *T. Equiperdum* in vivo e in vitro. *J. Infect. Dis.* 102, 35-43.
- 169 SÉNECA H., SANG J. B. y TRAC O. K. (1958).—Una pauta electroforética de las sero-proteínas en infecciones experimentales por hemoflagelados. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.* 52, 230-234.
- 170 STEPHEN L. E. y MACKENZIE C. P. (1958).—Infección por *T. Vivax* en una yegua: tratamiento con Bromuro de Etidio. *Vet. Rec.* 70, 293-294.
- 171 SAUVEL R. y THOMÉ M. (1961).—Toxicidad del Etidio-Suramina, de sus compuestos y su uso profiláctico en la Tripanosomiasis Bovina. *Rev. Eleve* 14, 165-166.
- 172 SEN H. C., MUKHERJEE A. M. y RAY H. N. (1959).—Patología de la infección por *T. Evansi* en ratas. *Indian Vet. J. Sci.* 29, Nos. 2 y 3, pp. 108-112.
- 173 THIENPONT D. (1950).—Antrycide treatment of *T. Infections* in cattle. *Vet. Bull.* Vol. 21, Nº 2, 339.

- 174 THIENPONT D. (1953).—Acción curativa del 621 C47 en infecciones por *T. Vivax* en bovinos. *Vet. Bull.* Vol. 24, Nº 3, 370.
- 175 THOMAS S. O., SINGLETON V. L., LOWERY J. A., SHARP R. W., PRUESS L. M., PORTER J. N., MOWAT J. A. (1957).—Nucleocidina, un nuevo antibiótico con actividad contra los tripanosomas. *Vet. Bull.* Vol. 27, Nº 8, 2557.
- 176 TERRY R. J. (1957).—Anticuerpos frente a *T. Vivax*, presentes en suero normal de rata. *Exp. Parasit.* 6, 404-411.
- 177 TRUMIE P. y TURUBATOVIC. R. (1957).—Inmunología de la Durina. *Vet. Bull.* Vol. 29, Nº 1, 55.
- 178 THURSTON J. P. (1958).—El efecto del inmunosuero sobre la respiración del *T. Brucei* in vitro. *Parasitology* 48, 463-467.
- 179 TRAGER W. (1959).—Desarrollo del *T. Vivax* al estado infectivo en cultivos de tejidos de moscas. *Nature. Lond.* 184, 30-31.
- 180 TRAGER W. (1959).—Cultivos tisulares de moscas y desarrollo de tripanosomas al estado infectivo. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 53, 473-491.
- 181 TERRY R. J. (1958).—Inmunidad natural frente a la Tripanosomiasis. Anticuerpos frente a *T. Vivax* presentes en el suero normal de ratas blancas. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 52, 23.
- 182 THURSTON J. P. (1958).—El Oxígeno tomado del *Tripanosoma Lewisi* y *Equiperdum* con referencia especial al oxígeno consumido en presencia de amino-ácidos. *Parasitology* 48, 149-164.
- 183 THURSTON J. P. (1958).—El efecto de algunos inhibidores metabólicos sobre la toma de oxígeno de los tripanosomas *Lewisi* y *Equiperdum*. *Ibid.* 165-183.
- 184 UNSWORTH K. (1953).—Estudios sobre *T. Vivax*; mantenimiento de una cepa en ratón con observaciones sobre los efectos de la esplecnetomía. *Vet. Bull.* Vol. 24, Nº 2, 383.
- 185 UNSWORTH K. (1954).—Observaciones respecto a la acción del Antrycide sobre cepas de tripanosomas Congolense y *Vivax*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 48, 178-182.
- 186 VERGANI F. (1952).—Estudios sobre la veción de tripanosomas por medio de dípteros no vulnerantes, pp. vit. 223 Lond.: Sir Isaac Pitman Lond. Ltda. 21S.
- 187 VON BRAND T. y TOBIE E. J. (1948).—Further observations on the influence of Cyanide on some tripanosomes. *J. Cell. Comp. Physiol.* 31, 49-68.
- 188 VOGEL SANG y DE ARMAS (1946).—Experiments with tripanosome equine and venezuelense. *Rev. Med. Vet. Parasit. Caracas* 5, 39-43.
- 189 VAN OYE y PEEL (1951).—Estudio del líquido cerebro-espinal en la infección tripanosómica. *Acta Trop.* 8, 18-31.
- 190 VIRVIESCAS FRANCISCO (1934).—Trip. theileri y babesia en bovinos del Valle del Cauca. *Rev. Med. Vet. Escuela Nal. de Med. Vet.*, Nº 51, pp. 898-900.
- 191 VIRVIESCAS FRANCISCO (1936).—Tripanosomiasis y anaplasmosis en el ganado bovino. *Rev. Med. Vet. Escuela Nal. de Med. Vet.*, Nº 67, pp. 87-88.
- 192 VIRVIESCAS FRANCISCO (1932).—Lucha contra la tripanosomiasis bovina en la Costa Atlántica. *Rev. Med. Vet. Escuela Nal. de Med. Vet.*, Bogotá, Nº 28, pp. 315-326.
- 193 WERNER H. (1954).—Infección con tripanosoma a través de la placenta; transmisión de los anticuerpos y parásitos, por medio de la leche. *Z. Tropenmed. u. Parasit.* 5, 422-442.
- 194 WILLIAMSON J. y ROLLO I. M. (1959).—Droga-resistencia en los tripanosomas. I. Análisis de la resistencia cruzada. *Brit. J. Pharmacolog.* 14, 423-430.
- 195 WILLIAMSON J. (1959).—II. Interferencia selectiva con la acción tripanocida. III. Efectos de inhibidores metabólicos, pH y potencial de óxido-reducción sobre tripanosomas rhodesiense resistentes y normales. *Ibid.* 431-442; 443-445.
- 196 WEINMAN D. (1957).—Cultivo de los tripanosomas. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 51, 560-561.
- 197 WILLET K. C. y GORDON R. M. (1957).—Estudios sobre acumulación, migración y desarrollo de las formas sanguíneas de tripanosomas. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 51, 471-492.
- 198 WEITZ B. G. F. (1960).—Un antígeno protector soluble de tripanosoma Brucei. *Nature. Lond. Parasit.* 185, 788-789.
- 199 WALKER P. J. y ASHWORTH SMITH M. J. (1961).—Dimetil-sulfóxido alternado con glicerol para la conservación de tripanoso-

- mas a baja temperatura. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 55, 93-96.
- ²⁰⁰ WILLIAMSON J. (1961).—Algunos problemas en la droga-resistencia tripanocídica. *Ibid.*, pp. 163-169.
- ²⁰¹ YEAGER R. G. (1960).—Un método de aislamiento de tripanosomas de la sangre. *J. Parasit.* 46, 288.
- ²⁰² ZARNIC I. (1948).—Prueba de la Fijación de Complemento para el diagnóstico de la Durina y el Muermo. *Vet. Archiv.* 18, 121-127.
- ²⁰³ ZARNOWSKI E. (1949).—Estudios sobre la transmisión de la Durina por insectos. *Med. Weteyn.* 5, 178-181.
- ²⁰⁴ ZAPATA ANTONIO M. (1936).—Secadera en los équidos. Tripanosomiasis. *Rev. Med. Vet. Escuela Nal. de Med. Vet.* 1939, N° 74, pp. 276-277.