Ensayos de premunición con el Trypanosoma equinum (Mal de caderas) en caballos.

Por ROBERTO L. DIOS y MIGUEL KÜHN

En nuestros largos años de experimentación con el T. equinum conservado en ratas blancas adultas (Dios y Bonacci), nunca hemos tenido oportunidad de observar la aparición de síntomas nerviosos durante el curso de la infestación experimental en estos animales.

La cuantiosa y prematura invasión de la sangre por los flagelados, es siempre un fenómeno constante que se termina fatalmente — con nuestra cepa —, por la muerte de las ratas en período variable entre 4 y 6 días a partir del momento de la inoculación.

No sería aventurado imaginar que la muerte de los animales es la consecuencia de una verdadera septicemia tripanosómica, de marcha agudísima, acompañada de lesiones de tipo congestivo, hemorrágico y degenerativo, que invade varios sistemas del organismo, pero que en su rápido desarrollo no alcanza a comprometer seriamente el sistema nervioso de estos animales, así parece confirmarlo los estudios contenidos en otra de nuestras publicaciones (Dios y Kühn).

La ausencia constante de síntomas aparentes por parte del sistema nervioso aún en los primeros pasajes de las cepas aisladas directamente de equinos con infestación de la naturaleza (Barbará y Dios) a ratas blancas adultas y de mediana edad, parece indicar que en esta especie de roedores tan sensibles a la infección experimental, no existe o por lo menos no tiene tiempo de manifestarse la localización del virus en el sistema nervioso y sus inmediatas consecuencias, que se traducen en paresias y parálisis del tren posterior, como características casi podemos decir constantes en las infecciones naturales y experimentales de los équidos.

Los desórdenes de la movilidad iniciados por tambaleo en la marcha por la incoordinación de los movimientos, y luego la aparición gradual de los fenómenos paralíticos, son los caracteres de desorden

Entregado para publicarse en junio de 1943.

nervioso funcional que han originado con tanta precisión la denominación vulgar de « mal de caderas de los equinos » a la enfermedad producida por el T. equinum.

Los animales atacados por este tripanosoma presentan en los últimos períodos de la enfermedad paresias y parálisis de los miembros posteriores y mueren generalmente en el mismo lugar en que han caído, dejando sobre el terreno las huellas bien marcadas de sus esfuerzos por incorporarse.

La opinión de algunos autores sobre la constancia de desórdenes nerviosos en los caballos en el « mal de caderas natural y experimental », no ha sido siempre concordante. Así Sívori y Lecler, en la observación de 20 caballos inoculados no observaron ni paresias, ni parálisis. En la enfermedad natural en casos observados en el territorio de Formosa el año 1902, comprobaron la forma que ellos denominaron « Anemia progresiva », predominando sobre las formas medulares. Estos mismos autores llegan a la conclusión siguiente: « ese año no vieron ningún caso de parálisis o paresias, y al contrario verificaron numerosos casos de anemia progresiva a Trypanosomas ». Para otros autores como Zabala, Malbrán y Voges, Rosenbusch, etc., los fenómenos de alteración del sistema nervioso, son mucho más constantes en los caballos con enfermedad natural y experimental.

Nuestra experiencia (Barbará y Dios) obtenida a raíz de la comprobación de animales enfermos de « Mal de caderas », en caballos contaminados en el Chaco y observados con posterioridad en Gualeguay el año 1919, nos permitió verificar en todos los animales sin excepción, los síntomas característicos de parálisis y paresias de los miembros posteriores, más o menos acentuados.

Otras especies animales y especialmente los carpinchos: Capybara capybara, sinonimia: Hidrochoerus capybara, con enfermedad natural y experimental, presentan desórdenes nerviosos bien acentuados de la movilidad, como lo atestigua Migone en sus estudios sobre la epizootía de Salado del año 1910, cuando dice: « la parálisis casi completa del tren posterior, los carpinchos sólo se sostienen sobre las patas delanteras y no pudiendo permanecer en el agua, se refugian en lugares secos, donde sucumben » (Laveran y Mesnil).

Elmassian comparte la opinión de Migone en este mismo sentido en sus investigaciones. Conviene señalar que la enfermedad experimental en los carpinchos, tiene como período de incubación 10 días y como duración de 1 a 2 meses. Lignières afirma que otra especie, los denominados « coati », Nassua nassua, son también sen-

sibles a la infestación, con una duración de 47 días en un caso y de 20 en el otro, y aparición de paresias en las extremidades posteriores. Elmassian dice que en estos animales la duración de la enfermedad hasta la muerte de los sujetos de experimentación, es más prolongada (Laveran y Mesnil). En los perros que pueden también adquirir la infección experimental, la duración de vida es de 36 días, y en ciertos casos de evolución menos rápida, en el último período aparece la paresia del tren posterior (Laveran y Mesnil).

En los ratones blancos, según los autores citados anteriormente, aparecen síntomas paralíticos, que nosotros no hemos tenido oportunidad de observar. En muy contados perros de los muchos utilizados como sujetos de pasajes de nuestra cepa desde hace muchos años, pudimos observar paresias de los miembros posteriores, que hemos atribuído sin mayor seguridad a los efectos de la inoculación, pero en la gran mayoría de los animales de esta especie, no hemos notado en ningún momento de la evolución de la infestación la aparición de tales síntomas.

Sívori y Lecler no comprobaron paresias en las pruebas positivas de inoculación en perros. Los ovinos ,caprinos y porcinos, son generalmente animales poco sensibles al T. equinum, y como dice Laveran y Mesnil, « toman el tripanosoma, pero la enfermedad en ellos adquiere una forma atenuada y se termina casi siempre por la curación, y además la investigación de los parásitos de la sangre es regularmente negativa y sólo la inoculación a otros animales sensibles puede servir para ponerlos en evidencia. Además los animales que han resistido el « Mal de caderas » gozan de inmunidad para esta enfermedad, se les puede inocular dosis muy grandes de virus sin lograr nuevamente infestarlos ».

La clasificación que hacen Sívori y Lecler se caracteriza por la discriminación que realizan al considerar la sintomatología de la enfermedad en los caballos: « 1º: Una anemia progresiva sin fenómenos medulares. Si éstos aparecen es solamente pocos días antes de la muerte. 2º: Una forma con diversos grados de parálisis que puede limitarse a una simple incoordinación de movimientos del tren posterior o hacerse más completa ». Recuerdan estos investigadores las opiniones de Lacerda y Rebaurgeon sobre los trastornos nerviosos en la enfermedad natural en los équidos y trascriben el pensamiento de Elmassian, tanto en la enfermedad natural como experimental, en estos términos: « Entre los síntomas de la enfermedad uno sólo se distingue de una manera particular y domina el cuadro clínico, es la aparición de una fuerte parexia en los miem-

bros posteriores que pierden el equilibrio ». Los mismos autores se refieren también a los trabajos de Zabala, Malbrán y Voges, quienes verificaron paresias y parálisis en caballos con infestación experimental.

Como vemos por la fragmentaria reseña bibliográfica que acabamos de relatar, a la que faltaría agregar las interesantes investigaciones de Rosenbusch, Acosta y otros autores, puede decirse que, salvo muy raras excepciones, existe un acuerdo general en cuanto a la existencia de los desórdenes de la movilidad en el « Mal de caderas » de la naturaleza, así como en la forma experimental.

Hemos dado con justificado propósito una exagerada amplitud a la consideración de los disturbios nerviosos en esta tripanosomosis, para así dar mayores bases de sostén a nuestra hipótesis sobre la posible pérdida de la calidad neurótropa de la cepa empleada en nuestros experimentos.

Por otra parte y como obligado corolario de la compulsa bibliográfica, surge una conclusión de indudable importancia, cual es la que sigue: todas aquellas especies animales sensibles a la infección natural y experimental en quienes la evolución de la enfermedad reviste características de variable lentitud, son las que presentan con mayor frecuencia en la observación clínica, los signos evidentes de paresias y parálisis de las extremidades posteriores. Parecería que la localización del virus en la substancia nerviosa, impone como condición necesaria, una prolongada permanencia de los tripanosomas en el organismo de los animales sensibles, antes de que éstos sucumban a los efectos mortales de la infestación. Todas o por lo menos la inmensa mayoría de las especies receptoras, en quienes la multiplicación del T. equinum, se produce en forma tumultuosa y con carácter creciente, casi podríamos decir en forma septicémica hasta el momento de la muerte y con muy corto período de supervivencia, no presentan fenómenos nerviosos revelables a la observación y este concepto quizá pueda generalizarse a otras especies de tripanosomas que generalmente se conservan en los pequeños animales del laboratorio.

En otra comunicación hemos hecho referencia a esta circunstancia para nosotros tan importante, en nuestros estudios sobre la evolución de la infestación del T. equinum en las ratas blancas, al referirnos a las lesiones del sistema nervioso en estos animales. Lamentaríamos que esta observación hubiera sido señalada con anterioridad por otros autores como características del « Mal de caderas » experimental en ésta y otras especies de pequeños animales recep-

tivas, en cuyo caso cargamos desde ya con el involuntario error de nuestra ignorancia de la literatura.

Es natural que no pretendemos negar la posibilidad de encontrar lesiones de cierto grado en la substancia nerviosa de las ratas blancas, pero por nuestra experiencia (trabajo de Dios y Kühn), no parecen revestirse de la suficiente intensidad para originar lesiones de tipo paresiante y paralítico en estos roedores. Nos arriesgamos a formular nuestra sugestión, diciendo que dada la rapidez del proceso de multiplicación de los tripanosomas, otros aparatos son los más directamente afectados y los animales mueren por efectos de las lesiones de extrema agudez, sin dar lugar a la localización nerviosa y a su obligada consecuencia que se traduce en paresias y parálisis de los miembros posteriores. Esta hipótesis se refiere especialmente a nuestra cepa de T. equinum y a su experimentación en las ratas blancas de los criaderos del Instituto.

Es de mucho riesgo emitir opiniones sobre el mecanismo de acción patógeno de los Trypanosomidae, y como dice Peruzzi, refiriéndose a los trabajos de Wolbach y Binger: « Estas observaciones han modificado sensiblemente la concepción patogénica de las tripanosomiasis y sugerido analogías con otras enfermedades a protozoarios, particularmente con la sífilis. Sin embargo numerosas incertidumbres oscurecen todavía el mecanismo de la patogenia, especialmente en lo que concierne a la causa determinante de la muerte por tripanosomiasis ». Peruzzi. Comisión Internacional para el estudio de la E. del sueño. C. de la L. de las Naciones. Rapport Final. Año 1928.

HISTORIA DE NUESTRA CEPA DE TRYPANOSOMA EQUINUM

El año 1919 por disposición del Departamento Nacional de Higiene y a pedido del Ministerio de la Guerra, nuestro Director el Profesor R. Kraus, dispuso el envío a Gualeguay (Entre Ríos) de una comisión integrada por los Dres. B. Barbará y R. L. Dios, para estudiar una enfermedad de los caballos del regimiento destacado en esa ciudad, y que había sido enviado al Chaco para sofocar una levantamiento de indios. Las tropas enviadas tuvieron que atravetar una extensa zona de esteros y muchos caballos, después de cierto tiempo, padecieron de una grave enfermedad, que posteriormente los imposibilitaba para la marcha. Una buena parte de esos caballos murieron en el Chaco y con anterioridad presentaron casi constantemente paresias y finalmente parálisis de las extremidades posteriores.

Las tropas de caballería regresaron después de unos meses y se vieron obligadas a atravesar nuevamente las zonas de esteros. Muchos caballos tuvieron que quedar abandonados en esos lugares y algunos que aún se mantenían en buenas condiciones de salud, aparentemente sanos, enfermeron paulatinamente a su regreso a Gualeguay.

A nuestra llegada al regimiento pudimos comprobar por la observación clínica, corroborada por los exámenes parasitológicos de sangre, que estos animales estaban parasitados por el T. equinum Durante nuestra estada en Gualeguay murieron varios caballos, presentando todos paresias y parálisis del tren posterior.

Las investigaciones parasitológicas de la sangre demostraron en muchos animales una acentuada disminución de parásitos en los días anteriores a la muerte. Intentamos practicar el tratamiento con el tártaro emético, con resultados iniciales relativamente alentadores, pero que luego no se confirmaron, aun aumentando gradualmente las cantidades de medicamento.

A nuestro regreso trajimos varios caballos que no habían sido tratados y que estaban todavía en relativas buenas condiciones como para resistir el transporte por ferrocarril hasta Buenos Aires. De este lote fueron muriendo animales con intervalos espaciados, presentando todos antes de la muerte los signos nerviosos tan característicos de la enfermedad.

Esta cepa fué conservada durante cinco años consecutivos en caballos cuya duración de vida, muy variable y siempre en estrecha relación con el vigor de los sujetos, puede estimarse como término medio entre 3 y 5 meses y con aparición constante de paresias y parálisis.

El año 1924 iniciamos bajo la dirección de nuestro maestro el Prof. P. Mühlens una experiencia a pedido del Ministerio de Guerra, con el objeto de probar sobre el terreno la eficacia del tratamiento preventivo con Bayer 205 y con anterioridad realizamos estos mismos ensayos de tratamiento preventivo y curativo en el Instituto, en caballos infestados experimentalmente con la cepa originaria del Chaco, y sus resultados fueron publicados posteriormente. En ese mismo año y antes de iniciar esas experiencias hicimos pasajes a ratas blancas y cavias y desde entonces hasta la iniciación de los estudios que motivan esta publicación, es decir 14 años consecutivos hemos mantenido nuestra cepa de T. equinum siempre en ratas blancas.

Conviene señalar que desde hace muchos años esta cepa exigió

siempre su pasaje a nuevos lotes de ratas blancas, en período variables entre 5 y 6 días. Todos los pasajes siempre por vía peritoneal se realizaban en el momento en que había enorme cantidad de tripanosomas, pero con muy poca cantidad de sangre (2 ó 3 gotas diluidas en 10 cc. de sol. de citrato de sodio al 3 %) y en cantidad de 1 a 1 ½ cc. por animal. De no haberse llenado esta condición la infestación hubiera sido mucho más rápida y por consiguiente mucho menor los espacios de tiempo entre cada pasaje, hecho que tenemos perfectamente documentado (Dios y Bonacci). Todos los posajes se realizaron en ratas adultas de edad más o menos igual.

EXPERIMENTACIÓN EN CABALLOS. PROTOCOLO DEL CABALLO Nº 5614

El día 13 de Octubre de 1937 se inocula por vía subcutánea con 3 cc. de sangre diluída al tercio en solución de citrato de sodio de un lote de ratas blancas con gran cantidad de tripanosomas. A los cinco días es positivo, presentando un parásito cada cinco campos en gotas gruesas. El día 10 de Noviembre se observan de 1 á 2 triponosomas por campo; desde esa fecha que corresponde a los 27 días después de la inoculación, la cantidad de flagelados va descendiendo, para luego aumentar considerablemente a los 46 días de la infección experimental, época en que la cantidad se eleva a 12-15 por campo en gg.; desde entonces la caída numérica de tripanosomas es cada vez mayor, y a partir del 30 de Diciembre, es decir transcurridos 60 días, todos los resultados de las gotas examinadas son negativos. Esta situación se siguió manteniendo en idénticas condiciones hasta el mes de Abril del año 1938, en que el animal es trasladado por sus propios medios al campo experimental del Instituto en el partido de Marcos Paz. Como vemos, los exámenes de sangre se mantuvieron negativos durante cuatro meses, y con posterioridad hasta pasados los nueve meses siguientes al día de la inoculación experimental.

Si bien los preparados de sangre no demuestran presencia de tripanosomas, en cambio las inoculaciones de sangre a ratas blancas son positivas en un lote de 12 animales de esa especie, inoculados por vía peritoneal y subcutánea, pero los períodos de incubación se alargan considerablemente, así como también la duración de la vida de las ratas. Esta primera prueba positiva se realizó el 5 de Abril del año 1938; en cambio todas las inoculaciones posteriores realizadas con la sangre del caballo Nº 5641 y repetidas con intervalos de 20 a 25 días hasta pasados los nueve meses de la inocula-

ción del caballo, fueron siempre negativas, no obstante la prolongada observación de las ratas testigos, que en algunos lotes llegó a los dos meses y medio. Idénticas pruebas y con los mismos resultados se hicieron utilizando perros en lugar de ratas blancas.

Con el objeto de investigar la acción que el trabajo pudiera tener sobre el aparente estado de buena salud del animal y por otra parte por la posibilidad que el ejercicio determinara una recidiva de tripanosomas, hicimos someter diariamente a este animal a los trabajos del campo. Después de varios meses de prueba, sin presentar aparición de parásitos ni desórdenes nerviosos; durante el trabajo sufrió una caída violenta que le produjo una seria fractura del tercio medio del fémur. A consecuencia de este accidente el caballo experimentó un descenso de peso, del que paulatinamente se fué recuperando y finalmente después de una consolidación parcial y defectuosa de la fractura, siguió viviendo en buen estado de salud y murió a los dos años y siete meses de su primera inoculación experimental, por efectos de un fuerte ciclón que produjo graves perjuicios en el campo experimental del Instituto.

Más adelante nos ocuparemos de comentar las variaciones experimentadas por nuestra cepa de T. equinum al pasar nuevamente desde el caballo N° 5614 a las ratas blancas.

De las observaciones que acabamos de citar, se desprende un hecho por demás interesante cuál es la comprobada desaparición de los flagelados en la sangre del caballo, desaparición que se inició por una disminución gradual de los parásitos hasta el punto de hacerse imposible su comprobación, primero en las gotas gruesas de sangre y luego en las pruebas seriadas de inoculación a ratas blancas.

Esta aparente desaparición de parásitos de la sangre del caballo N° 5614 — no puede sino calificarse de esa manera —, puesto que es imposible admitir la desaparición total, y así nos lo demuestra de manera concluyente el pasaje de sangre realizado el día 5 de Julio al caballo N° 5843. Este animal fué inoculado con 300 cc. por vía endovenosa y 300 cc. en inyección subcutánea procedentes de una abundante extracción de casi 2 litros y medio de sangre sobre citrato de sodio al 3 %. El primer examen positivo de este animal se comprueba recién a los 36 días de inoculado con un número muy exíguo de parásitos: 1 cada 25 campos; a los cincuenta días se observa un incremento de parásitos: 1 cada 5 campos, y posteriormente, cuando se llega a los 56 días, la infección sanguínea se hace intensa, con 35 tripanosomas por campo microscópico en gg. La muerte de ese caballo se produce en forma repentina a los 72 días de inoculado.

Con el mismo material y en esa fecha se inocula un lote numeroso de ratas que después de ser positivas con variable período de incubación, 4-11 días, mueren entre los 6 y 15.

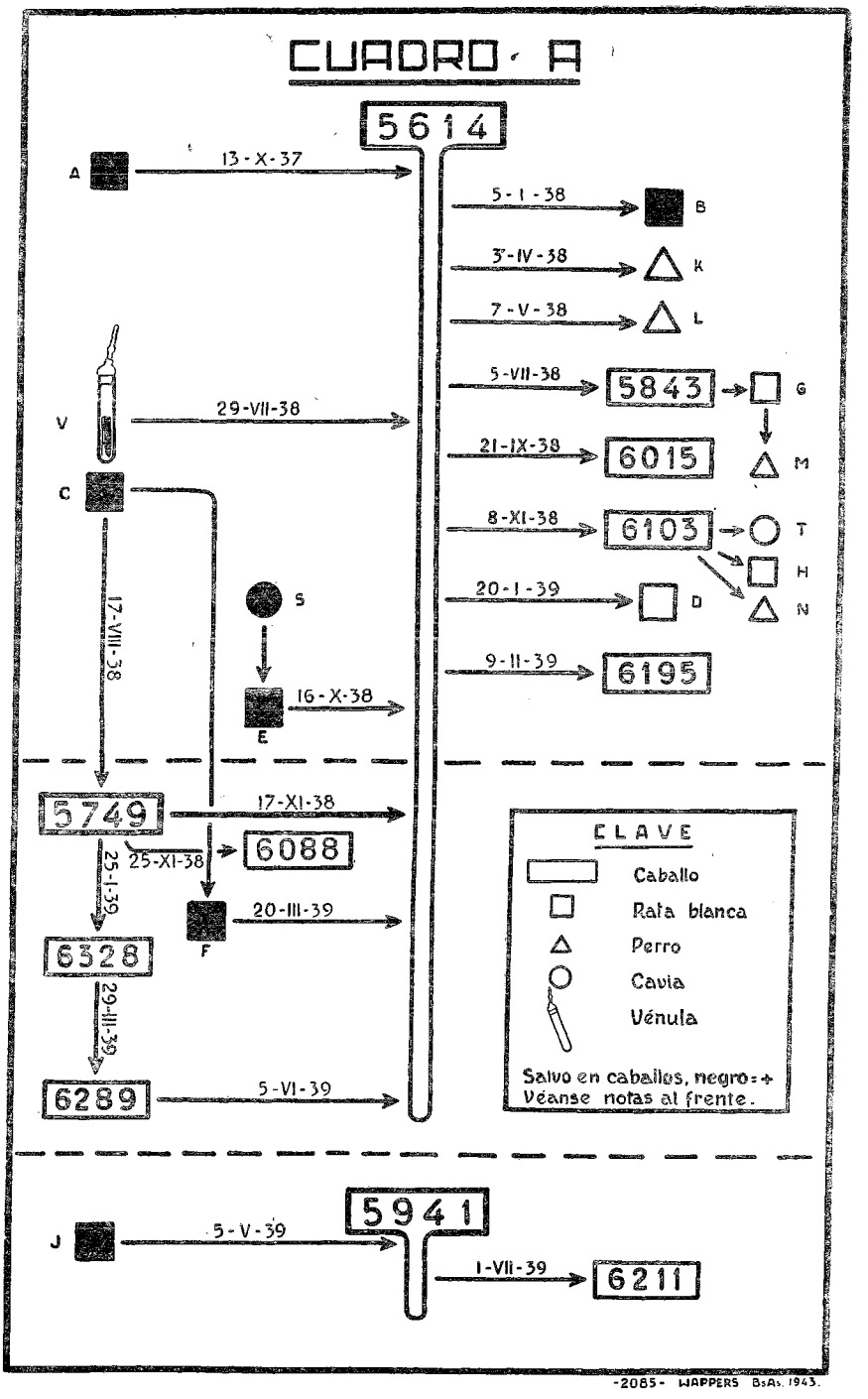
Resulta un poco paradógica la muerte prematura del caballo Nº 5843, que quizá pueda explicarse teniendo en cuenta que se trataba de un animal en muy malas condiciones de nutrición y de mucha edad.

El día 29 de Julio de 1938, recibimos por la amistosa y amable intervención del Dr. C. Romaña, una vénula con sangre citratada — que en oportunidad solicitamos —, procedente de un caballo con infección de « Mal de caderas » de Colonia Benítez (Chaco) de origen infección natural.

La primera prueba de reinoculación del caballo Nº 5614, se realizó utilizando una pequeña cantidad de la sangre con tripanosomas remitida en vénula procedente de Colonia Benítez; esta inoculación produjo un acceso parasitario y térmico. La repetición de la experiencia con el mismo virus previo pasaje por ratas se hizo a los dos meses del primero, con nuevo material del mismo origen conservado en cavia y pasado por ratas que dieron una enorme infección de tripanosomas. En esta reinoculación volvió a comprobarse nuevo acceso parasitario y térmico, aunque de mayor intensidad.

Con este material y previo un pasaje en ratas que dieron enorme infección, inoculamos al equino Nº 5749 y asi mismo un lote de roedores jóvenes (5 a 7 días de edad). La observación del equino permitió comprobar tripanosomas y a los tres meses de inoculado y presentando más de 15 parásitos por campo en preparados en fresco, lo sangramos para reinocular el equino Nº 5614 con 30 cc. por vía venosa. A los siete días aparecen en una gota cinco flagelados y en otra tres; siete exámenes posteriores todos positivos, desde la cantidad de 7 en un campo hasta 1 en 65. La reacción fué acompañada en ciertos días de elevación térmica hasta 39°8, que luego desapareció; no así los tripanosomas que se mantuvieron con oscilaciones numéricas durante un mes y con posterioridad una pequeña recaída parasitaria de dos por campo y uno cada 55 respectivamente. Una vez pasada esa crisis los flagelados desaparecen en apariencia de la circulación periférica hasta los 70 días de observación.

Esta reación debe considerarse como un verdadero acceso parasitario y un leve acceso térmico, tan característico de los estados de premunición; tal es para nosotros la interpretación razonable que se desprende de esta observación. Todas las inoculaciones que hemos


CUADRO A
5614
A
13-X-37
5-I-38
B
3-IV-38
K
7-V-38
L
5-VII-38
5843
G
V
29-VII-38
21-IX-38
6015
M
C
8-XI-38
6103
T
H
20-I-39
D
N
17-VIII-38
S
9-II-39
6195
16-X-38
E
5749
17-XI-38
6088
25-XI-38
25-I-39
20-III-39
F
6328
29-III-39
6289
5-VI-39
CLAVE
Caballo
Rata blanca
Perro
Cavia
Vénula
Salvo en caballos, negro = +
Véanse notas al frente.
5941
J
5-V-39
1-VII-39
6211
-2085- WAPPERS BsAs. 1943.

realizado, con posterioridad a esa fecha, tanto en ratas blancas como en perros, fueron negativas; situación que no excluye la segura presencia de tripanosomas en la sangre y órganos del caballo reinoculado, cuya exigüidad puede haber sido la causa de su falta de identificación en los pequeños animales testigos, especialmente si se toma en cuenta el poco volumen de sangre extraída del caballo y la reducida cantidad que de ese material se utilizó para inocular a las ratas y perros adultos.

Los tres pasajes posteriores del virus del caballo Nº 5614 a los equinos números 6015, 6103 y 6195, dieron resultados muy variables, así el primero después de larga incubación fué positivo y muere al mes y medio; el segundo siempre se conservó negativo durante los dos años y dos meses de su vida, y el tercero positivo de variable intensidad de infección, murió a los 9 meses y 13 días.

El caso del caballo Nº 6103 es sumamente interesante por haber sido negativo de tripanosomas en los repetidos exámenes de sangre en gg. y además porque en diferentes ocasiones el pasaje de sangre de este caballo, tanto a ratas, cavias y perros jóvenes no determinó en ningún momento la aparición de tripanosomas en estos animales. Durante los dos años y dos meses de duración de la vida del caballo en experimentación, no se observó ningún síntoma de enfermedad y su estado de salud fué siempre inmejorable; idéntica circunstancia surge de la observación de los caballos números 5943, 6015 y 6195.

En realidad, la explicación de esta aparente discordancia, puede encontrar su explicación, si se considera que las épocas en que se realizaron los pasajes del caballo Nº 5614 a los otros animales de la misma especie fueron distintas y pudieron haber coincidido o no con la presencia de parásitos en el caballo dador, desde Julio de 1938 en que se hace el primer pasaje, hasta Febrero de 1939 en que se ejecutó el último.

Ahora bien, si los dos primeros accesos en el caballo Nº 5614, parasitarias y térmicos fueron de menor intensidad en comparación con el último, no debemos olvidar que el material infeccioso de esta segunda prueba procedía de un animal de la misma especie, extraído en momentos en que la multiplicación de tripanosomas era enorme, y si esto no fuera suficiente para explicar la diversidad del fenómeno, la gran cantidad de sangre empleada (200 cc. subcutáneos y 50 endovenosos) que utilizamos en la tercera prueba, justificar la más acentuada intensidad de los accesos, sin que esto signifique disminución en la capacidad premunitiva lograda en el caballo Nº 5614.

Para nosotros la tercera reinoculación de virus tripanosómico es muy demostrativa, por la calidad patógena del virus utilizado, de gran actividad infestante, como atestiguan los tres pasajes posteriores del caballo Nº 5749 a los números 6088, 6328 y 6289. Estos tres animales presentaron una intensa infeción tripanosómica, muriendo por efectos de la infestación; el primero a los dos meses y el segundo y tercero al mes y dos meses y medio, respectivamente.

Durante el curso de la enfermedad, tanto del caballo Nº 5749 como de los otros tres animales de pasaje del virus, presentaron los síntomas de paresias, parálisis y edemas tan característicos de la enfermedad.

No hemos podido sinó repetir a medias la primera experiencia realizada con el caballo Nº 5614, utilizando la misma cepa de T. equinum conservada en ratas blancas y que pasamos a relatar: el 25 de Mayo de 1939 inoculamos el equino Nº 5941; este animal reveló presencia de tripanosomas a los cinco días de la infección experimental, sin presentar en ninguno de los exámenes practicados hasta la muerte un parasitismo abundante, y sucumbir a los 58 días de la inoculación. No obstante la breve duración de la vida de este caballo, no se observaron edemas y alteraciones nerviosos, pero sí una disminución muy apreciable del peso. Conviene señalar que las condiciones físicas del animal en el momento de la inoculación experimental, eran muy deficientes y además era de mucha edad, con signos evidentes de pronunciado « surmenage » físico.

La deficientes condiciones del sujeto de experimentación deben tenerse muy en cuenta en éste como en cualquier otro caso, y son más que suficientes para explicar la falta de resistencia y la prematura muerte del animal. El pasaje realizado unas horas antes de la muerte al equino Nº 6211 con sangre muy parasitada, dió resultado positivo a los 6 días y luego toda una serie de oscilaciones en la cantidad de parásitos hasta los cuatro meses de observación, en que los exámenes de sangre en gotas gruesas empiezan a ser negativos; en esta época se interrumpen nuestros estudios. El caballo Nº 6211, vive actualmente, no obstante haber transcurrido casi cuatro años del momento de la inoculación. No hemos observado los síntomas clínicos de la enfermedad, ni edemas, así como tampoco paresias y parálisis, su estado de salud en la actualidad es inmejorable.

Antes de terminar nuestro relato, deseamos dar a conocer un hecho que conceptuamos de interés y que se refiere a los cambios experimentados por nuestra cepa de T. equinum, mantenida en ratas

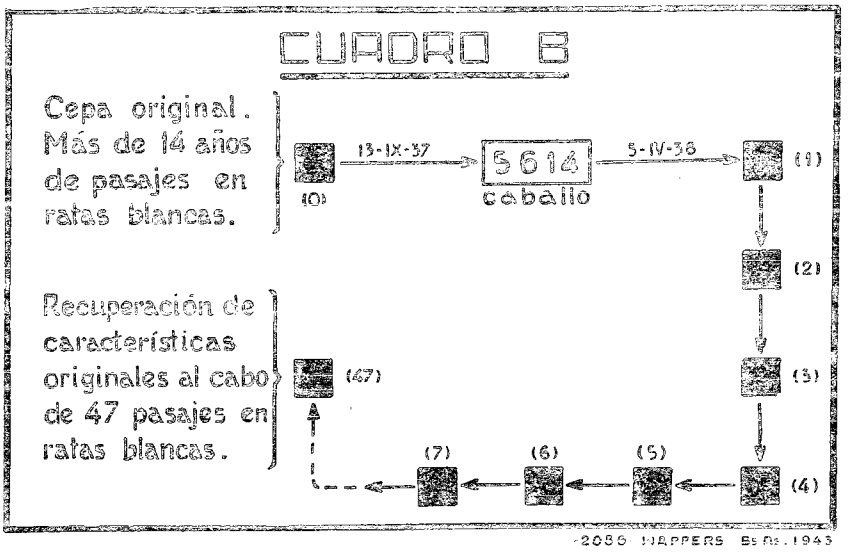
blancas, durante 14 años después de su primer pasaje por caballo. El primer lote de 10 ratas blancas fué inoculado el 5 de Abril de 1938, con sangre del caballo N° 5614, en la prpoporción de 17 cc. diluídos en 3 cc. de solución de citrato de sodio al 3 %, inoculando ocho ratas con 2 cc. por vía subcutánea y dos con la misma cantidad por vía peritoneal. Los animales inoculados a través de la piel son positivos en fresco recién a los 16 días y mueren a los 19, 20, 21 y 22 días; los otros dos presentan triganosomas después de 16 y 20 días, y mueren entre los 26 y 27 días.

El segundo pasaje con una de las ratas más positivas a un nuevo lote (II) de cuatro animales, demuestra una disminución muy grande en el período de incubación, que es de siete días, y la sobrevivencia llega como máximo a trece días. El tercer pasaje da más o menos los mismos resultados que el anterior, pero en el cuarto, quinto y sexto repique, la incubación se acorta a cuatro días, y en el último todos los animales mueren a los ocho días. A partir del séptimo pasaje la incubación llega sólo a tres días y la muerte como tiempo máximo se produce a los diez días. Desde el octavo pasaje hasta el vigésimo, los parásitos se hacen presentes en la sangre a los cuatro días de la inoculación, pero en algunos de ellos la duración de la vida de las ratas se extiende a un máximo hasta de quince días.

A medida que aumenta el número de pasajes, la extensión del período de incubación va haciéndose más corto y así en el 35° pasaje, sólo llega a tres días y la vida de los animales positivos es término medio de ocho días. En los repiques posteriores hasta el N° 47, la incubación no alcanza a los tres días y los animales mueren entre el sexto y séptimo día.

Nuestra cepa original de T. equinum conservada desde hace muchos años en ratas blancas, se caracterizaba antes de su inoculación al caballo N° 5614, por ser positiva de tripanosomas dentro de las 48-50 horas de su inoculación a las ratas y éstas sobrevivían un tiempo variable entre cinco y seis días como máximo. Tomando en consideración las características de nuestra cepa mencionadas anteriormente, fácil resulta demostrar la indudable influencia determinada por su pasaje a otra especie animal; cambio que se tradujo en un considerable aumento del período de incubación, así como la prolongación del período de vida de las ratas inoculadas en los primeross pasajes. Este fenómeno tan interesante, no fué siempre de regular constancia, como puede verse en las oscilaciones comprobadas en repiques bastante alejados del primero.

En el pasaje Nº 35 ya se nota una disminución, tanto de la incubación de la infección, cuanto de la duración de vida de las ratas y finalmente en los últimos, la cepa ha llegado a recuperar casi podemos decir sus características primitivas. Como vemos, el retorno a las calidades originales de la cepa, ha exigido una prolongada permanencia en el organismo de las ratas, como condición necesaria para neutralizar el brusco cambio originado por su repentino pasaje a caballo — no obstante tratarse por su sensibilidad de la especie tipo —, para el desarrollo del T. equinum. Por otra parte, esta circunstancia no ha motivado la recuperación de las calidades neurótropas del virus para los equinos, perdidas seguramente por su larga permanencia en ratas blancas. Esta interesante



comprobación se robustece en la repetición de la experiencia realizada en el caballo Nº 5941 y así como en su inmediato pasaje al Nº 6211, el que, no obstante el largo tiempo transcurrido desde su inoculación en Julio de 1939, vive actualmente sin haber presentado en ningún momento, síntomas de desórdenes del sistema nervioso.

De estas comprobaciones, que si bien pueden considerarse exiguas en número — no así de los aparentes elementos de prueba que surgen de su consideración —, nos permitimos concebir muchas esperanzas con respecto a la posibilidad de obtener experimentalmente un estado de premunción en caballos con nuestra cepa de T. equinum.

Deseamos manifestar nuestro reconocimiento al señor H. Bonacci

y al señor Juan Pisauri, así como al personal de la sección, a quien agradecemos su cooperación tan eficiente en la realización de estas experiencias.

CONCLUSIONES

1º — Partiendo de una cepa de T. equinum de origen infección natural aislada el año 1919 y conservada durante los cinco primeros años en caballos y luego pasada a ratas blancas de mediana edad durante 14 años, hemos infestado experimentalmente el caballo Nº 5614.

2º — Este animal sufrió una infestación tripanosómica moderada y en ningún momento se hicieron presentes los síntomas nerviosos característicos del « Mal de caderas ». Tampoco se observaron edemas.

3º — Los tripanosomas observados en la sangre del caballo Nº 5614 desaparecieron en apariencia (negativos en gotas gruesas) y fueron positivos en inoculaciones a ratas blancas. Después de un cierto tiempo tanto los exámenes de sangre como las inoculaciones a ratas blancas y perros fueron negativos.

4º — La primera reinoculación del caballo Nº 5614 con virus de infección natural (Chaco) produjo acceso parasitario y térmico muy moderado. La segunda reinfestación tiene más o menos las mismas características. Posteriores inoculaciones de prueba confirman cada vez más el supuesto estado de premunición del caballo Nº 5614.

5º — Los autores de este trabajo abrigan fundadas esperanzas de conseguir crear un estado de premunición en Mal de Caderas T. equinum) en caballos, utilizando cepas como las empleadas en esta investigación.

6º — Atribuimos a la pérdida de la calidad neurótropa de nuestra cepa por efecto de su prolongada conservación en ratas blancas, la condición necesaria para intentar ensayos de premunición con el Trypanosoma equinum.

SUMMARY

1º — Beginning with a strain of equinum isolated in 1919 from a natural infection, preserved in horses during the first five years, and passed afterwards to middle-aged white rats throughout 14 years, we have infested experimentally the horse Nr. 5614.

2º — This animal suffered moderate trypanosomic infestation, and in no moment the characteristic nervous symptoms of « Mal de Caderas » appeared, neither were edemas observed.

3º — The trypanosomes observed in the blood of the horse Nr. 5614 disappeared apparently (negative in thick drops) and were positive in inoculations to white rats. After a certain time both the blood analysis and the white rat and dog inoculations resulted negative.

4º —— The first reinoculation of horse Nº 5614 with virus of natural infection (Chaco), produced a very moderate parasitic and thermic access. The second reinfestation had more or less the same character.

5º — Further proof-inoculations have confirmed more and more the supposed premunition-state of horse Nº 5614. The authors of the present research have great hope of developing in horses a premunition-state for « Mal de Caderas » (T. equinum) using strains such as those employed in this investigation.

6º — We impute to the loss of the neurotropic quality of the strains used-due to ist long preservation in white rats, the necesary condition for attempting experiments in premunition with Trypanosoma equinum.