

**Dr. JOSE JULIO MONTEYERDE**

Académico de Número

**Enfermedades anemizantes de los equinos:  
Anemia Infecciosa y Piroplasmosis**

COMUNICACION - SESION DEL 9 DE AGOSTO DE 1972

Señor Presidente.

Señores Académicos:

En cumplimiento de obligaciones como miembro de esta honorable corporación vengo hoy a tratar, en forma sintética, un tema de actualidad en el que, como es de vuestro conocimiento quien les habla ha tenido directa intervención.

Cuando en 1964 se tuvo la evidencia de la existencia de la anemia infecciosa equina (AIE) en la República Argentina se hizo la denuncia escrita ante la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y la autoridad sanitaria (\*\*), la comunicación pública (\* \* \*) y la publicación <sup>1</sup>, actuaciones que dieron origen, como era

(\*) Profesor Regular Titular de Microbiología y Director del Departamento de Etiología y Patología en la Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad de Buenos Aires. Académico en la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Buenos Aires.

(\*\*) Monteverde, J. J.; G. V. Garbers y Moran, B. L.: Notas al Decano de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y al Director General de Sanidad Animal de la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación. Buenos Aires. 7/XI/1964. (Expte. 4381/64. F.A.V.).

(\*\*\*) Monteverde, J. J.; Garbers G. V. y Moran B. L.: "Anemia Infecciosa equina. Su descubrimiento en la República Argentina". Reunión Científica, 8/XII/1964. Cátedra de Microbiología. Fac. Agr. y Vet. de Buenos Aires.

1. Monteverde, J. J.; Morán, B. L. y Garbers, G. V.: "Anemia infecciosa equina. 'Comunicación previa'". Rev. Med. Vet. Bs. As., 30 (1968) 431-434.

previsible, a variados comentarios. Más tarde otros colegas argentinos, después de realizar trabajos experimentales,<sup>2-3</sup> confirmaron el hallazgo, aceptándose actualmente que la AIE no sólo existe en el país, sino que preocupa seriamente ya que, con alta probabilidad, es una de las principales enfermedades anemizantes de los equinos que, en nuestro medio y hasta ahora, tiene predilecta incidencia en los animales de la raza sangre pura de carrera (SPC).

La anemia infecciosa equina, llamada también fiebre de los pantanos, se conoce desde el año 1834 siendo Vallée y Carré quienes en 1904 afirmaron que era debida a un virus filtrable (Ver Apéndice j) 4, 5, 7, le, q<sub>Uc</sub> t<sub>aca</sub> a }<sub>os</sub> équidos de toda edad, sin distinción de sexo o raza, produciendo una enfermedad muy grave y sumamente interesante sobre la que aún queda mucho por investigar ya que, entre otras cosas, no se conoce un tratamiento que haga desaparecer el virus de un animal infectado, ni se dispone de un método efectivo de prevención específica, aún cuando se han hecho algunos intentos aparentemente alentadores<sup>8</sup>.

Los enfermos presentan a veces cuadros agudos a consecuencia de los cuales pueden morir o recuperarse para repetir el ataque o los ataques; se presentan así cursos subagudos o crónicos y en este

2. Ibañez, E. A.; Moretti, O. F. y Resosagli, E.: "Grave virosis equina". Gac. Vet. Bs. As. 30 (1968) 256-260 y "Contribución al estudio de la anemia infecciosa equina". Gac. Vet. Bs. As. 30 (1968) 220.
3. Abadie, G. J.; Masselin, J. N.; Zuloaga, G. G.; Rivenson, S.; Durrieu, F.; Cifolelli, A.; Durrieu, J.; Orliacq, C. y Lerena, G.: "Estudio de la anemia infecciosa equina en la República Argentina". Rev. Med. Vet. Bs. As. 50, 2 (1969) 89 - 120.
4. Stein, C. D': "Infectious anemia (Swamp fever) of horses, mules and donkeys". USBA Farmer's Bulletin (1955) 2099.
5. Hyslop, G.: "Equine infectious anemia (Swamp fever): a Review". Vet. Rec. 78, 25 (1966) 858-863.
6. Johnson, A. W.: "Equine infectious anemia: an annotation". Vet. Bull. 36 (1966) 465-469.
7. Ishii, S.: "Equine infectious anemia or Swamp fever". Adv. Vet. Sc. 8 (1963) 263-298.
8. Kono, Y.; Kobayashi, K. y Fukunaga, Y.: "Immunization of horse against equine infectious anemia (EIA) virus with an attenuated EIA virus". Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. 10 (1970) 113-122.

ultimo caso con sobrevidas relativamente prolongadas. En ocasiones y después de presentarse un ataque clínicamente revelable o no, pasan al estado de portadores inaparentes. es decir parecen clínicamente sanos. En estas condiciones pueden cumplir las actividades para las que se los destina, pero en su organismo el virus sigue vivo y con materiales procedentes de estos animales se consigue infectar equinos sanos. Debe tenerse presente que los animales portadores pueden serlo por varios años, a veces más de 10.

En la College Station en Texas (\*), donde se iniciaron nuestros trabajos sobre diagnóstico serológico de la AIE, había un ponie lunarejo de aspecto muy saludable y vivaz; en este equino aplicando la prueba precipitante, que por ese entonces investigaban Moore y col.<sup>9</sup> y Livingston y col.<sup>10</sup>, los alumnos del curso de veterinaria al ensayar sueros procedentes de equinos descubrieron que este animal era positivo, resultando un portador inaparente cuya sangre, al ser inoculada en equinos susceptibles, originaba cuadros típicos de la enfermedad. El método serológico demostró así la posibilidad de poder poner en evidencia a un animal peligroso que los clínicos más avezados no podían revelar.

Varios investigadores trabajaron sobre métodos indirectos de diagnóstico de AIE utilizando pruebas de fijación de complemento, de hemaglutinación, de interferencia, pero fueron las pruebas precipitantes las que demostraron más eficacia. Las preconizadas por Moore y Livingston *{loe. cit.}* fueron repetidas y luego modificadas en

(\*) Viaje de estudio relacionado con el perfeccionamiento e intercambio de conocimientos sobre anemia infecciosa y piroplasmosis equina, realizado por el autor juntamente con el Prof. B. L. Moran en EE. UIJ. y Europa durante el año 1965 y que fue subvencionado por la Universidad de Buenos Aires. Este viaje dio motivo a un informe presentado en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y a una reunión pública en la citada Facultad donde se mencionó el aporte de datos a favor de la existencia de la AIE en el país, procedentes de Boca Raton, U. S. A. (Dr. V. Saurino), Kissimmee, U.S.A. (Dr. W. L. Sippel y Dr. J. H. Gainer); Texas, U.S.A. (Dr. Moore, R. W. y Dr. Livingston. C. W.) y Hannover, Alemania (Prof. Corst).

9. Moore, R. W.; Livingston, C. W. y Redmond, H. E.: "Studies on equine infectious anemia. I. Studies of a precipitin test for equine infectious anemia (IEIA). South Western Vet. 19 1966) 187-191.

10. Livingston, C. W.; Moore, R. W. and Redmond, H. E.: "A diagnostic precipitin test for equine infectious anemia". The South Western Vet. Spring 19 (1966) 221-222.

Cuenos Aires; estos trabajos permanecen inéditos como así también los correspondientes al empleo de antígeno de bazo equino. Durante el año 1970 se ha hecho referencia a estudios de precipitación en gel de agar, para el diagnóstico de AIE utilizando antígenos procedentes del bazo de equinos infectados experimentalmente<sup>11</sup> o de cultivos celulares conteniendo virus<sup>12</sup>; en estas pruebas el antígeno actúa frente al suero sanguíneo de los animales sospechosos y hasta ahora se considera que estos procedimientos diagnósticos son bastante seguros cuando se los usa e interpreta adecuadamente.

Aún admitiendo ciertas limitaciones al método indirecto, lo cierto es que existe desde hace tiempo y ayuda a identificar la enfermedad.

También merece recordarse que con fines diagnósticos, es factible apelar a la inoculación experimental de equinos sanos, a la biopsia hepática para apreciar las alteraciones histopatológicas<sup>13</sup> producidas por el virus, al estudio hematológico<sup>14</sup>, a la prueba de siderocitos circulantes<sup>15</sup>, al aumento de lípidos en el suero, al cuadro clínico-epizootológico<sup>1</sup> al aumento de la transaminasa glutámico-oxalacética y a la dehidrogenasa láctica en el suero sanguíneo<sup>16</sup>.

Tanto en vida como "post mortem" se puede llegar al diagnóstico de esta enfermedad y no existen dudas acerca de que todo enfermo o portador aparentemente sano es un factor decisivo en la

11. Coggins, L. and Noroross, N. L.: "Immunodiffusion reaction in equine infectious anemia". *Cornell Vet.* 60 (1970) 330-335.

12. Nakajima, H.; Kono, Y. and Ushimi, C.: "Demonstration of viral specific antibody in serum from the horse with equine infectious anemia by immunodiffusion (Paper read before 70th Meeting of Japanese Soc. Vet. Sept. 18-20 de 1970).

13. Jubb, K. V. F. and Kennedy, P. C.: "Pathology of domestic animals". *Fd. Acad. Press. N. Y. London*, 1 (1963) 1-469.

14. Goret, P.; Michel, C et Toma, B.: "Le diagnostic de l'anémie infectieuse du cheval". *Cahiers Med. Vet.* 36 (1967) 139-153.

15. Rothenbacher, H. J.; Ishida, K. and Barner, R. D.: "Equine infectious anemia. II. Sideroleukocyte test as an aid in clinical diagnosis". *Vet. Med.* 57 (1962) 886-890.

16. Pearson, J. E.: "Equine Infectious Anemia, Diagnosis and Prevention". *Iowa State Univ. Vet.* 2 (1972) 79-84.

difusión de la enfermedad que, como se sabe, puede originar gravísimas pérdidas y raramente pasar al hombre. En la Argentina si bien se ha demostrado sólo en la raza SPC. en otros países, además también se ha comprobado en animales de salto, trabajo y guerra por lo cual no debería sorprendernos su hallazgo en otras razas de caballos de variada aptitud existentes en nuestro país.

Después de denunciar en 1964 la existencia de la AIE y ante varias dificultades y falta de apoyo económico, los autores de la misma decidieron interrumpir sus trabajos en la Universidad de Buenos Aires y la colaboración que venían prestando al organismo oficial encargado de la lucha (\*). De todas maneras, cabe destacar, para el conocimiento general, que fue en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires donde se afrontó una ardua tarea tal como la de responsabilizarse de la existencia de la AIE y durante un lapso prudencial ayudar al diagnóstico rutinario de casos sospechosos.

Si bien es posible llegar al diagnóstico de esta enfermedad, esto no siempre ocurre fácilmente; lo frecuente es que se produzcan denuncias espontáneas a la autoridad sanitaria; incluso es posible que se realicen tratamientos profesionales de animales enfermos, obteniéndose a veces y como no debe sorprender!, recuperaciones clínicas. Según esto último se estaría facilitando la obtención de portadores los que a su vez perpetuarían y extenderían la enfermedad que es justamente lo que debe evitarse. Aceptando lo que precede no habría que asombrarse si existiera mayor cantidad de casos de AIE a lo largo y ancho del país.

En Argentina cuando se habla de la AIE, se comenta a veces que hay "muchos" o que hay "numerosos" casos en los studs que rodean los hipódromos, no habiendo duda que la enfermedad desvela no sólo a los colegas dedicados a equinos sino a todos los que tienen que ver con esta especie animal; también es cierto que no se posee información acerca de la extensión actual, punto éste donde puede haber sorpresas. Debe admitirse que está amenazada la produc-

(\*) Nota al Decano de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires, Prof. Dr. A. Pires. 13 abril 1966. (Expte. 1519/66).

ción del SPC y si en los haras no se adoptan rígidos métodos de control la probabilidad de que en algunos se produzcan severas pérdidas económicas, es muy elevada.

Algo, sin embargo, se está haciendo en relación a la lucha, pero obsérvese que desde que se señaló el primer foco en vecindad del río Sanborombón en la Provincia de Buenos Aires en 1964 (*loe. cit.*), pasaron varios años hasta que se confirmó en 1968 y 1969 (*loe. cit.*); mientras tanto lo probable es que la AIE se haya propagado bastante; es decir, que el sacrificio de los enfermos que se produjera a raíz del primer foco denunciado no fue efectivo para detener la aparición de nuevos enfermos.

Será preciso revisar los métodos de lucha e intensificar la acción profiláctica. Por el momento deben eliminarse los enfermos que se hallen en contacto con equinos sanos y desalentarse el pretender "curar" la anemia infecciosa; estas dos cosas han de ayudar, pero también es fundamental tener una idea de la dispersión e incidencia de la AIE para actuar en consecuencia.

Durante los estudios sobre el primer foco de AIE hallado en Argentina hubo preocupación en considerar la posibilidad de si se estaba en presencia de otra enfermedad anemizante, no debida a virus, sino a parásitos de los glóbulos rojos conocidos como piroplasmas y cuyo estudio corresponde principalmente, no necesariamente, a la parasitología y a la patología y clínica de las hemoparasitosis, en el capítulo conocido por piroplasmosis.

Aún cuando la piroplasmosis equina (PE) era exótica para Argentina, se encaró el diagnóstico diferencial y fue así que las muestras de sangre obtenidas en diferentes etapas evolutivas de los casos diagnosticados como AIE, fueron controladas para investigar hemoparásitos, previa coloración de Giemsa, método que nadie hasta ahora ha invalidado para diagnosticar piroplasmas en sangre. Investigadores especializados de los EE. UU. (\*) que por ese entonces vinieron a nuestro país auspiciados por la autoridad sanitaria argentina (SELSA) y por el propietario del haras donde se detectó la enferme-

(\*) Dres. M. B. Teiglind y V. Saurino.

dad. llevaron muestras a su país para proseguir investigaciones, incluida la observación de piroplasmas, pero no pudieron revelar estos parásitos.

En EE. UU. durante el viaje realizado en 1965. se concurrió a la estación experimental de Kissimmee (Florida) en donde se observaron piroplasmas en sangre teñidos con orange de acridina.

Corresponde señalar que para la búsqueda de estos hemoparásitos en sangre, si bien se requiere alguna práctica, en nuestro país son varios los colegas capaces de efectuarla con definida competencia.

En los casos de AIE detectados en el año 1964 la PE fue descartada por la negatividad de los preparados sanguíneos, la inefectividad de los intentos terapéuticos y el no demostrarse la existencia de vectores.

Sin embargo, hace relativamente poco tiempo se produjo un hecho interesante y digno de ser meditado: caballos SPC. algunos de ellos ejemplares destacados enviados de la Argentina a los Estados Unidos no pudieron ingresar en aquel país en virtud de reaccionar positivamente su suero sanguíneo frente a un antígeno piroplásmico. La autoridad sanitaria de EE. UU. ante la sospecha de PE dada por un método indirecto de diagnóstico como es la fijación de complemento (FC), consideró que tenía suficiente certeza (\*) como para operar el rechazo de los animales, aún cuando la PE existe en dicho país <sup>19</sup> y que esta enfermedad no se conocía en la República Argentina.

Dado que animales aparentemente normales, por lo tanto clínicamente sanos, revisados por veterinarios competentes antes de su

(\*) Technical Services.  
USDA, APHIS - VETERINARY SERVICES.  
Building 320  
Agricultural Research Center  
Beltsville, Maryland 20705 — USA.

17. Maurer, F. D.: "Equine piroplasmiasis, Another emerging disease". JAVMA. 141 (1962) 699-702

18. Sippel, W. L.; Cooperrider, D. T.; Gainer, J. H.; Allen, J. H.; Mouvv, J. E. B. and Teigland, M. B. "Equine piroplasmiasis in the United States". JAVMA 141 (1962) 694-698.

19. Knowles, R. C.; Matlis, R. M.; Bryant, J. E. and Willers, K. M.: "Equine piroplasmiasis". JAVMA 148 (1966) 407-410.



embarque, sin datos previos de enfermedad anemizante, robustos, algunos de ellos ganadores, no sometidos a tratamientos antiprotozoarios. sin antecedentes dignos de mención, fueron señalados como ' reaccionantes"' y considerados peligrosos para ingresar a aquel país, en el ámbito argentino del SPC esto provocó justificada alarma.

Lo que antecede ha originado la duda acerca de si la PE o babesiosis equina, o fiebre biliar equina, o malaria equina, o horse tick fever o nutaliosis equina, existe en la Argentina.

Merece sin embargo especial consideración el celo con que la autoridad sanitaria norteamericana actúa protectoramente, a diferencia de lo que ocurre en otros países en los que las fiscalizaciones de animales importados no son tan exigentes. Así por ejemplo hay países indemnes que reciben equinos de EE. UU. en donde está demostrada la existencia de la rinoneumonitis equina y de la arteritis equina, por citar dos de las enfermedades debidas a virus filtrables. A veces en países importadores existen sospechas de la existencia de alguna de las citadas enfermedades originadas en apreciaciones fragmentarias y por supuesto insuficientes como para efectuar denuncias válidas. Para el caso de nuestro país y en relación con la denuncia de nuevas enfermedades de equinos conviene recordar que aquí existe la posibilidad de una extensión de la AIE y que esta enfermedad puede confundirse, entre otras, con la PE y con las arteritis viral. Para encarar científicamente la existencia de la PE en el país habría que demostrar por lo menos la presencia de piroplasmas en la sangre de enfermos naturalmente infectados, con ella reproducir a voluntad la hemoparasitemia y por supuesto disponer de material conteniendo piroplasmas vivos para pruebas homologadoras. Si en lugar de la PE, se tratara de la arteritis equina la exigencia sería el aislamiento y la identificación del virus causal de casos naturales de la enfermedad, la disponibilidad de virus o de material infeccioso activo para pruebas de homologación y por supuesto la reproducción de la enfermedad.

La PE es una enfermedad infecciosa hemoprotozoana producida por la penetración de un pequeño parásito, muchísimo más grande que un virus, que se aloja en los glóbulos rojos, requiriéndose para que esto ocurra naturalmente la intervención de un vector, por ejemplo una garrapata. También es posible infectar a un equino mediante la inoculación de glóbulos rojos conteniendo piroplasmas activos. La

multiplicación de los piroplasmas en los glóbulos rojos cumple un ciclo y esto origina una serie de síntomas y alteraciones orgánicas que pueden confundirse principalmente con los que se presentan en la AIE.

Después que los piroplasmas vivos penetran en un equino y en él se multiplican, no siempre es posible apreciarlos en la sangre circulante. más un técnico competente que siga como corresponde un caso de PE, por ejemplo agudo, podrá en vida del animal observar los hemoparásitos en frotis de sangre coloreados por alguna de las técnicas aceptadas y también en exámenes post-mortem.

En algunas partes del orbe los equinos son naturalmente atacados por dos especies de piroplasmas, en forma separada o conjunta, que se conocen con los nombres de *Babesia caballi* y *Babesia equi*. (*Núttallia equi*) Cuando estos piroplasmas están en los glóbulos rojos pueden presentar forma de pera (*B. caballi*) o de cruz (*B. equi*). pero también deben considerarse otras formas algo diferentes que se presentan durante el ciclo hemoglobular de estos parásitos (ver Apéndice II).

Al producirse el ataque a los glóbulos rojos el número de estos disminuye y el enfermo presenta anemia, siderofagos. hipertermia intermitente o no, adinamia, anorexia, enflaquecimiento, taquicardia, taquipnea, hemoglobinuria, edemas, ictericia de las membranas orai o conjuntival, anemia de la mucosa vaginal y petequias conjuntivales. Con terapéutica apropiada (ver Apéndice III) los atacados pueden sanar pero también quedar como portadores sanos a veces con el siguiente estado de resistencia específica. Algunos infectados presentan síntomas variables incluidos los de la hepatitis, cólico, diarrea, encefalitis y neumonía.

En el año 1945 <sup>21</sup> se demostró que los animales parasitados con piroplasmas eran capaces de elaborar en su organismo, anticuerpos

20. Wenyon, C. M. "Protozoology". Ed. Bailliere, Tindall and Cox London 2 (1926) 1008-1011.

21. Hirato, K.; Ninomiya, N.; Uwano, Y. and Kutii, T.: "Studies on the complement-fixation reaction for equine piroplasmosis". Jap. J. Vet. Sci. 7 (1945) 197-205.

capaces de producir algún tipo de reacción frente a sustancias procedentes de piroplasmas, cosa que ocurrió mediante la FC. Fue así que con esta prueba se pudo indicar si un equino —aún aparentemente sano— poseía en su suero sanguíneo anticuerpos antipiroplásmicos a una tasa que facilitaba el diagnóstico indirecto de PE. Es decir que ante una prueba de FC positiva un animal sería considerado infectado y esto sería así porque a esta prueba se la estima suficientemente específica.

No ha habido más alternativa que la de aceptar, en nuestro medio, el rechazo de animales mediante la aplicación de este proceder en los EE. UU. lo que a su vez significa la probable existencia de una enfermedad desconocida en Argentina.

Ante esta situación quien en nuestro país desee exportar un equino a los EE. UU. comprenderá que la expresión de “clínicamente sano” es insuficiente puesto que el animal puede no ser aceptado según el resultado de la prueba de FC. que se realiza en el laboratorio en forma rutinaria siempre que se disponga de los antígenos que se requieren y que se obtienen a partir de sangre de équidos infectados con *B. caballi* y con *B. equi*<sup>22, 23, 24</sup>. (Ver Apéndice IV).

Para tener una idea de la complejidad de la preparación de estos antígenos (Ver Apéndice IV) se puede decir que se requieren numerosos equinos los que deben infectarse para obtener apropiados volúmenes de sangre conteniendo piroplasmas incapaces de originar reacciones inespecíficas; la sangre infectada debe ser procesada para finalmente obtener los antígenos.

Si un país no poseyera los citados antígenos podría gestionarlos, con o sin cargo, ante otro país que podría ser EE. UU., donde estos

22. Frerichs, W. M.; Holbrook, A. A. and Johnson, A. J.: "Equine piroplasmiasis: complement fixation titers of horses infected with *Babesia caballi*". Am. J. Vet. Res. 30, 5 (1969) 697-702.

23. Frerichs, W. M.; Holbrook, A. A. and Johnson, A. J.: "Equine piroplasmiasis: production of antigens for the complement fixation test". Am. J. Vet. Res. 30 (1969) 1337-1341.

24. Frerichs, W. M.; Johnson, A. J. and Holbrook, A. A.: "Storage of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in liquid nitrogen." J. Parasit. 54 (1968) 451.

se emplean para el diagnóstico de la piroplasmosis. Disponiendo de ellos, se podrían realizar las pruebas de FC y de esta manera los ejemplares que reaccionaran positivamente, serían retenidos en el país evitando así su rechazo en los sitios de recepción.

En nuestro país aún no se elaboran los antígenos piroplásmicos equinos y en el caso que esto se decida debe advertirse que se requerirá un lapso prudencial.

Cuando los antígenos estén disponibles en el país, la prueba de FC será una rutina ya que hay técnicos expertos en la realización e interpretación de este tipo de prueba.

En materia de PE hay otros puntos para nosotros importantes. Si EE. UU. rechaza equinos argentinos lo hace porque los considera inapropiados para ingresar, al darlos por infectados con piroplasmas; entonces existe o no existe PE en Argentina.

Ante esta situación, con la evidencia suministrada desde el exterior, será menester tener argumentación válida para dar respuesta sobre si los animales rechazados por peligrosos en los EE. UU. también lo son en Argentina. Por lo tanto si han retornado al país o se han distribuido en otros sitios, interesa saber cuál ha sido el criterio seguido.

No se conocen publicaciones en revistas especializadas acerca de lo ocurrido en nuestro medio con los animales no aceptados; por de pronto correspondería tener datos sobre tareas de confirmación, que tal vez se hayan hecho y expliquen si se hallaban infectados y en tal supuesto si los rechazos fueron justos o no.

Si se acepta como válido el rechazo de algo más de un centenar de ejemplares argentinos por FC y habiendo transcurrido un importante lapso, resulta llamativo que aún no se haya producido la denuncia de PE en el país, cosa que de confirmarse limitaría considerablemente el criterio exclusivamente clínico.

No deberíamos extrañarnos que en algún día próximo se demuestre la existencia de la PE en nuestro país.\* esta posibilidad ya cuenta con el aval norteamericano y si bien es sabido que los métodos indirectos de diagnóstico de enfermedades, como lo es la FC. no suelen ser totalmente exactos, y aún pueden presentar "fallas", sería un descubrimiento importante si se demostrara que la FC ha fracasado para diagnosticar PE y por ende que el Departamento de Agricultura de los EE. UU. se equivocó, lo que traería agregadas no pocas consecuencias. Sin embargo lo más prudente sería partir de la hipótesis que es posible que la PE esté instalada en el país y lo que se necesita es trabajar en tal sentido. Aparte de que la PE podría ocurrir en algún animal no perteneciente a la raza SPC. se requiere una explicación apropiada para los casos de los SPC que no fueron aceptados en EE. UU.

En resumen: en la Argentina hay que revisar e intensificar las tareas en la lucha contra la AIE y con respecto a la PE investigar para producir información a favor o en contra de su existencia en el país.

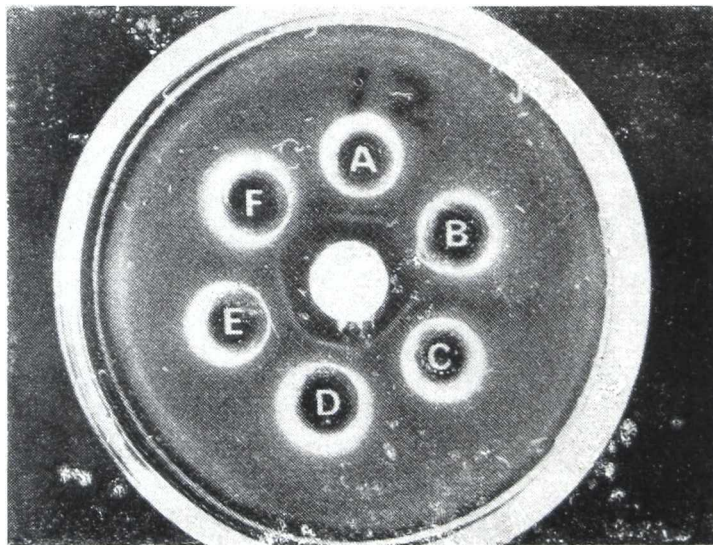
Durante la exposición se proyectaron transparencias de animales enfermos, muestras de sangre, resultados de pruebas precipitantes y piroplasmas equinos. Tres de ellas figuran en Apéndice.

\* Mientras el presente trabajo, se hallaba en prensa, los Dres. Esteban A. Ibañez y Oscar F. Moretti, en carta personal al autor que lleva fecha 13 de Octubre de 1972, le hicieron saber que, juntamente con los Dres. Rubén Giménez y Moreira, en Corrientes (Rep. Argentina) Habían observado en un equino de raza común, destinado a experimentación, que había sido esplenectomizado, sin haberlo sometido a inoculaciones previas, síntomas de piroplasmosis y además, en extendidos de la sangre de este animal, teñidos con Giemsa, hemoparásitos con morfología correspondiente a *Babesia equi*. Con sangre del mencionado animal inocularon otros equinos y uno de ellos (esplenectomizado) enfermó 4 días después. La denuncia del hallazgo fue hecha con fecha 13 de octubre de 1972 en la Dirección General de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación. En la Cátedra de Microbiología a cargo del suscripto, se pudieron apreciar en preparados traídos por los ya citados profesionales los hemoparásitos en extendidos de sangre cuya morfología coincidía con *B. equi*.

Para quienes deseen ampliar sus consultas sobre AIE también pueden recurrir a: Squire, R. A. y col. JAVMA. 155 (1969) 355; Monteverde y col. *Iras. Jomadas Arg. Microb.* (1968); Carbrey, E. A. JAVMA 155 (1969) 358; Ditchfield, W. J. B. JAVMA 155 (1969) 349; Gainer, J. H. y col. *Proc. V. S. Livestock San. A.*, 69 (1965) 254; Henson, J. B. y col. JAVMA 155 (1969) 336; Myers, W. L. y col. JAVMA 155 (1969) 352; Knowles, R. C. JAVMA 155 (1969) 327; Moore, R. W. JAVMA 155 (1959) 331, Russell, L. H. y col. *Southwest Vet.*, 19 (1966) 192; Henson y col. *Amer. J. Clin. Path.* 56 (1971) 306; McGuire, T. C. y col. *Amer. J. Vet. Res.* 29 (1968) 117-123, Ristic, M. y col. *Amer. J. Vet.* 1738; Moore y col. *Proceedings XIX World Vet. Congr. México* (1971) 370; Moore, R. W. y col. *Amer. J. Vet. Res.* 31 (1970) 1569; Nakajima, H. y col. *J. Immunol.* 107 (1971) 889; Tajima, M. y col. *J. Virol.* 4 (1969) 521; Ushimi, C. y col. *Inf and Immun.* 5 (1972) 890; y con respecto a Piroplasmosis equina podrán hacerlo en: Hoocker y col. *USD A, Bureau of Entomology USA. Bull* 106 (1912), Kelsner, R. A., *Abstr. in Bacteriology* 6 (1922) 21-22, Madden P. A. y col. *Amer. J. Path* 62 (1971) 283; McGuire T.C. *J. Immunol.* 107 (1971) Res. 25 (1964) 15-22, Mahoney, BV *F. Austr. Vet. J.* 40 (1964) 369-375 y *Exptl. Parasit.* 20 (1967) 232-241; Sippel, W. L. JAVMA 141 (1962) 694-698; Maurer, F. D. *Proc AAEP. Convent* (1963) 241-246; Khirkham, W. W. A. V. M. A. Meeting Rep. M. V. F. 45 (1964) 49-50; Roby, T. O. y col. JAVMA 142 (1963) 768-769; Ristic, M. y Sibinovic, S. *Amer. J. Vet. Res.* 25 (1964) 1519-1526; Teigland, M. B. *Proc. AAEP. Convent.* (1962) 247-249.

## APENDICE

(I) Se trata de un virus que mide 80 a 120 mu, aunque también se han citado medidas entre 30 y 70 mu, es DNA para algunos autores, para otros RNA y dependiente para su replicación del DNA celular; presenta estructura parecida a algunos virus productores de tumores, pudiendo ser propagado en cultivos de leucocitos equinos y células dérmicas de caballo. En leucocitos se han citado hasta 70 pasajes; los leucocitos infectados se presentan más redondos y globosos y también, en pequeños grupos de células redondas separadas por espacios libres. El efecto citopatógeno mencionado en los primeros pasajes se revela entre 14 y 17 días después de inoculación de suero equino con AIE ya que en pasajes posteriores el período se acorta a 10 días. Para inactivar este virus se requieren 60 C durante 60 minutos hecho que merece especial consideración si se tiene presente que el equino es un animal que se destina a la obtención de varios productos terapéuticos tanto en medicina humana como veterinaria, tal el caso de sueros; a esta termotolerancia se agrega la resistencia que posee hacia el ácido fénico, la ribonucleasa y la tripsina. Presenta sensibilidad al éter y al formol y no se conoce que sobre él actúen antibióticos, sulfonamidas o nitrofuraxanos solos



1: Prueba precipitante según método de doble difusión en agar.

Receptáculo central: antígeno ('Coggins-Norcross);

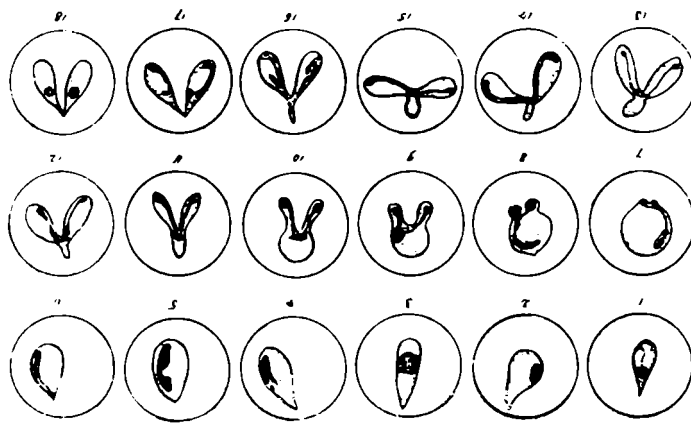
A. C y E: sueros positivos para control; B; suero negat. D: suero fuertemente positivo y F: suero débilmente posit. (según J. E. Pearson)

o combinados. Se sospecha que existe más de un tipo de virus y que este hecho puede complicar los trabajos tendientes a lograr inmunidad específica; también debe señalarse que varios intentos para inducir inmunidad, a partir de sustancias conteniendo virus, en general han fracasado. El virus produce, en los animales infectados, anticuerpos específicos que pueden revelarse por distintas pruebas serológicas, principalmente por precipitación y fijación del complemento; en el momento actual se ha seleccionado una prueba precipi-

tante que es considerada específica y señalada como aparentemente ideal para detectar animales portadores, aunque no está indicada para casos agudas o para potrillos que maman de madres infectadas puesto que por llevar anticuerpos en su calostro dan origen a falsas reacciones.

Con materiales conteniendo virus se han empleado también las técnicas de suero neutralización y de inmunofluorescencia y con virus de cultivo se han hecho y se continúan investigaciones sobre patogenia y diferenciación de posibles tipos de virus, con vistas a la preparación de vacunas y ajustes diagnósticos.

Los enfermos mantienen virus activo en sus órganos, sangre y secreciones incluso leche y semen. Se considera que la AIE se disemina lentamente por contactos; otros medios importantes en la propagación del virus están representados por moscas, mosquitos, tábanos, ingestión de material infectado, penetración por mucosas y piel lesionadas, jeringas hipodérmicas y otros instrumentos; el virus puede hallarse en circulación intrauterina de yeguas preñadas enfermas.



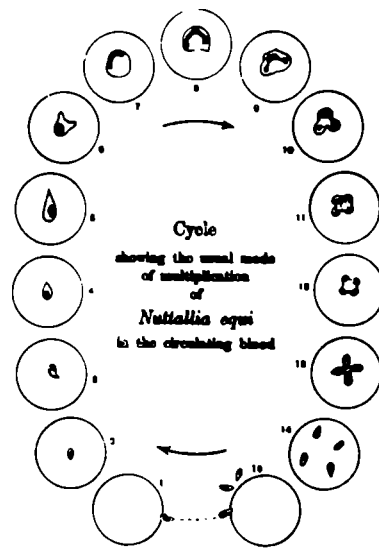
2: *Babesia caballi*. Ciclo de multiplicación en glóbulos rojos de caballo (x 3.000) por brotación. (Según Nuttall y Strickland. 1912 Parasitology 5: 78).'

(II)' Se ha demostrado que la transmisión de un enfermo a un sano puede efectuarse por garrapatas. Los piroplasmas son capaces de reproducirse en ellas, pueden invadir huevos —a veces las hembras ponen unos 3000 huevos— y las ninfas generadas en huevos infectados resultan infectantes. En EE. UU. transmite *B. caballi* la garrapata *Dermacentor nitens*, en Rusia *D. reticulatus*, en Italia *Margaropus annulatus*. Se ha señalado la transmisión de *B. equi* por *Rhipicephalus everisi* en Sud Africa y en Italia por *R. bursa*, también se citada *Hyalomma sp.* y *Dermacentor s/l.*

El combatir la garrapata del caballo es una de las importantes medidas profilácticas en la lucha contra la piroplasmosis. En Florida (USA) (20) se aplica spray con toxafene al 0.5 % y en las ovejas sol. oleosa de lindane 1 % cada 21 días; también se emplea la cuarentena con control de hemoparásitos en sangre periférica y aplicación de medicamentos piroplasmicidas.



(III) Se considera al Phenamidine (isotiocianato de fenamidina) y al Berenil (diaceturato de 4,4' - diazoaminodibenzamidina) también llamado Ganaseg, buenos productos para tratar enfermos. Mediante su utilización se obtienen curaciones aunque no hay seguridad de eliminar el estado de portador. Ultimamente se ha mencionado nuevamente el Diampron (isotionato de amicarbalida), que se encuentra en etapa experimental y que permitiría la eliminación del estado de portador aplicándolo por vía muscular profunda en varios sitios y previo lavado de la aguja con suero fisiológico estéril, a razón de 8,8 mg/K, 2 días seguidos (*B. caballi*) ó 4 días seguidos (*B. equi*). Este medicamento presenta algunos riesgos y aún puede matar animales



- 3: *Babesia equi* (*Nuttallia equi* ciclo de multiplicación en sangre de caballo (x 3000).  
1: Invasión de glóbulos rojos por formas libres en el plasma.  
2-5: Desarrollo del hemoparásito.  
6: Forma activamente ameboide.  
7-10: División nuclear.  
11-15: Proceso de brotación y escape de 4 formas hijas.  
(según Nuttall y Strickland. 1912 - Parasitology 5: 75).

inoculados cuando presentan enfermedades hepáticas, o han sufrido intenso stress o padecen piroplasmosis grave. Administrado por vía subcutánea produce efectos locales indeseables. También se han mencionado otros productos terapéuticos como efectivos, a saber: acaprina, thiargen (complejo tiosulfato - plata), sulfonamida, derivados de quinolina, compuestos de bismuto y antimonio, derivados de la acridina, arsenicales y antrycide (dimeto-sulfato de quinapiramina).

Como piroplasmicida también se emplea satisfactoriamente la solución de euflavina al 5 % a razón de 2 ml/100 libras de peso vivo por la vía endovenosa, en general se obtienen respuestas entre 8 a 12 horas de la aplicación. Para evitar efectos colaterales (rechinar de dientes, taquicardia, etc.) se recomienda recurrir a los antihistamínicos.

El Berenil (Hoechst) se disuelve en agua estéril a razón de 1,05 g/25 ml y se aplica por vía subcutánea profunda en varios sitios evitando inocular más de 10 ml en cada sitio. Es específico para *B. caballi* y se obtienen respuestas en alrededor de 12-15 horas. Para evitar efectos colaterales se recomienda utilizar atropina subcutánea.

El trypanbleu se aplica a razón de 1 g/500 libras de peso vivo, se disuelve en agua estéril a razón de 1 g/100 ml y se administra por vía endovenosa no dando más de 100 ml en 20 minutos. Si se presentan síntomas adversos la administración no se continúa hasta que estos hayan desaparecido.

La phenamidine (May-Baker) resulta específica para *B. caballi*, se diluye con igual cantidad de agua estéril y se aplica subcutánea en dosis divididas a razón de 1,5 ml/100 libras peso vivo.

La oxytetraciclina es específica para *B. equi*, se suministra por vía endovenosa lentamente a razón de 5 mg/libra peso vivo; la droga se disuelve en 1 litro de solución salina glucosada al 10 %.

En los tratamientos de soporte se trata de impedir el daño hepato-renal. Se emplea inoculación diaria de 2 litros/día de solución salina glucosada al 10 % hasta normalización térmica y recuperación del apetito. A veces son útiles, vitamina B<sup>6</sup>, glucocorticoides, complejo B y metionina cristalizada. Como diurético puede usarse Vetidrex a razón de 3 ml/día endovenoso durante 3 días seguidos. El sujeto tratado debe alimentarse con verdeo y mantenido tranquilo por 3 semanas.

En general la medicación con piroplasmicidas requiere una atenta vigilancia profesional y puede agregarse que además como tratamiento sintomático se considera con frecuencia a los tónicos cardíacos, desinfectantes urinarios, energéticos y purgantes salinos.

Se aclara que se ha tomado del trabajo de Retief (1963) gran parte de lo precedente.

(IV) Según Frerichs y col. es posible obtener apropiados antígenos para la prueba de fijación de complemento (FC) destinados a estudios de infección con *B. caballi* o *B. equi*, mediante inoculación de caballos y burros.

La preparación de estos antígenos piroplásmicos demanda una importante inversión de trabajo, tiempo, animales y equipo.

En sus experiencias expresan que de 86 caballos y burros inoculados con *B. caballi* sólo 67 resultaron útiles y de 27 caballos y burros inoculados con *B. equi* sólo 17 fueron adecuados. Varios animales murieron antes de ser sangrados a blanco, otros produjeron antígeno de baja especificidad ya que reaccionaban frente a caballos infectados con cualquiera de los piroplasmas.

La parasitemia máxima en experimentos con *B. caballi* fue del orden del 3 al 5 % en cambio para *B. equi* fue del 60 al 70 %. Para mantener útiles a las *B. caballi* se hicieron pasajes por *Dermacentor nilens* efectuándose también pasajes de equino a equino o de equino a burro; en cambio *B. equi* se mantuvo por pasaje seriado en caballos y burros observando los posibles cambios de especificidad y de potencia empleando sueros de control de equinos con AIE, influenza equina, estreptococcia, infección helmíntica y sueros antipiroplásmicos de conocida especificidad y potencia. Los caballos productores de antígeno fueron tratados con corticoides sintéticos (p. ej.: Virtis Frezemobile, Virtis Co., Inc., Gardiner N. Y. (USA) o Azium Solution, Schering corp., Bloomfield N. Y. o Methagon Solution, Corvel Division, Eli Lilly and Co Indianapolis, Ind USA) suministrados a una dosis intramuscular de unos 0,05 mg/K, 2 veces cada día, siendo la mayoría esplenectomizados antes de su uso.

La pérdida de la especificidad serológica para *B. equi*, después de pasada por equinos, resultó el mayor problema en la preparación del antígeno. Este problema podrá evitarse 1) obteniendo aislamientos recientes de casos naturales y 2) manteniendo sangre parasitada de casos naturales en nitrógeno líquido antes de que se opere la pérdida de especificidad.

Debe destacarse que un problema importante de producción reside en los bajos niveles de parasitemia que se obtienen con *B. caballi*, habiéndose comprobado que antígenos preparados a partir de sangre con un 2 % de

glóbulo« parasitados sólo reaccionan a baja dilución; por otra parte la obtención de 4 % de parasitemia puede considerarse como muy bueno. Otro defecto de estos antígenos es que suelen ser anticomplementarios y pierden especificidad en el pasaje de animal a animal; otro serio problema fue producir un buen antígeno a *B. equi*, dado que el pasaje a través de caballos o burros le hace perder especificidad y no siempre se dispone de vectores para operar el "refresco" tal como ocurre con *B. caballii*. Se considera de gran especificidad para *B. equi* un antígeno que, aparte de reaccionar con los antisueros de *B. equi*, al título, no presente reacción cruzada con *B. caballii* a título mayor de 1:2 a 1:4.

Para tener idea aproximada del trabajo —aparte de la atención de los animales— estos después de inoculados se deben sangrar a blanco y la sangre mantenida con anticoagulante (EDTA 1,3 g/L) debe centrifugarse a 900 g durante 10 minutos y sólo se usarán los glóbulos rojos. Se produce la lisis de los eritrocitos con sol. M/0,25 de NaCl y una vez completada a 4T en 1 a 2 horas, a veces hasta 8 horas, se centrifuga (2,8 kg. x cm<sup>2</sup> y velocidad 2 a 4 litros por hora) en forma refrigerada. Se recoge la pasta de parásitos y estromas globulares depositada en las paredes de los recipientes, se pesa y se mezcla con buffer barbital (Veronal) de pH 7.4 (sol. M/0,15). Cada litro contiene 85 g de NaCl, 5,75 g de 5.5' dietil ácido barbitúrico y 3.75 g de 5.5, dietil barbiturato de sodio, a razón de 2 ml por cada gramo de pasta. Se lleva a agitador magnético con perlas de vidrio por 5 minutos, se filtra por trapo quesero y se almacena a -70°C o se agrega 1 % P/V de polivinil pirrolidona, liofilizando en frascos a razón de 1 a 3 ml en cada uno.

Para conservar la actividad del antígeno se recomienda liofilizar, aunque se admite que el procedimiento implica pérdida de potencia cuando se compara con antígenos congelados al CO, sólido o al N líquido, sin embargo mientras los antígenos congelados sirven por unos 8 meses, los liofilizados se mantienen estables después de 18 meses. El polivinil-pirrolidona previene pérdidas de potencia y especificidad.

Se consideran antígenos apropiados para detectar infecciones a *B. caballii* los que dan reacciones francas (4+) diluidos 1:128 o más frente a sueros con alto título y se pueden descubrir portadores hasta unos 3 años post infección no presentándose reacciones frente a sueros equinos normales y reaccionando en alto título con *B. caballii* a la dilución sérica de 1:2 ó 1:4.

Teniendo los reactivos a punto, el resultado de una prueba de FC puede obtenerse en menos de medio día. Los resultados de las pruebas para que sean útiles dependen de varios factores entre los que se destacan la especificidad del antígeno, las facilidades de realización de la prueba y la reproducción y significado del estado del enfermo bajo estudio.

En general mientras la FC es positiva existe la posibilidad de tener éxito si se inocula la sangre de los FC+ a equinos susceptibles, por ejemplo por inoculación intravenosa de suspensión de gl. rojos a razón de entre 0,25 - 1,1 ml/Kilo peso vivo. El título FC en suero raramente desaparece antes de que se pierda la capacidad de transmisión a equinos susceptibles.

Para *B. caballii*, una dilución de suero 1:80 o mayor (por lo menos 2+) se considera evidencia de infección aguda en un animal expuesto al parásito dentro de 6 meses. Si se presentan reacciones de 2+, 3+ y 4+ a diluciones 1:5 se interpreta como etapa tardía del estado de portador con pocas probabilidades de transmisión. Los títulos séricos de 1:10 a 1:40 son los que generalmente corresponden a equinos asintomáticos, sin parasitemia detectable pero con la propiedad de transmitir por subinoculación.

Para quienes deseen mayores detalles se recomienda consultar Frerichs, W. L. and col. que es de donde se ha tomado gran parte de lo expuesto.

**Ing. Acr. ARTURO BURKART**  
Académico de Número

**Alfalfa: Morfología de la planta,  
biología y sistemática con miras  
a la selección.**  
(Resumen)

COMUNICACION - SESION DEL 13 DE SEPTIEMBRE DE 19