

ALTERACIONES DE LA COAGULACIÓN EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON UN AISLADO VENEZOLANO DE *TRYPANOSOMA VIVAX*

Changes in Coagulation in Sheep Experimentally Infected with a Venezuelan Isolate of *Trypanosoma vivax*

Claribel Suárez^{*1}, Francisco García^{**}, Guadalupe Baldizán^{**} y Antonio Valle^{***}

^{*}Area de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Decanato de Ciencias Veterinarias. Universidad Centroccidental «Lisandro Alvarado». Lara. Venezuela.

^{**}Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Aragua. Venezuela. Apartado 4563. Maracay 2101A. Estado Aragua.

^{***}Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). CENIAP. Aragua. Venezuela

Correo-E: claribel_suarez@hotmail.com

Recibido: 01/03/04 – Aprobado: 25/06/04

RESUMEN

La infección causada por el *Trypanosoma vivax* afecta la salud y la productividad de las explotaciones ganaderas de Venezuela. El presente trabajo tuvo como objetivo principal estudiar el efecto de la infección experimental con un aislado venezolano de *T. vivax*, sobre parámetros de la coagulación sanguínea en 15 ovinos machos, mestizos (West African y Persa Cabeza Negra), con una edad entre uno y dos años. De estos animales, aleatoriamente se seleccionaron 10 ovinos para conformar el grupo infectado, y cinco animales permanecieron como controles no infectados. La infección experimental se realizó inoculando 2 ml de sangre fresca de un bovino, por vía intravenosa, conteniendo $1,3 \times 10^6$ Try/ml. Durante 57 días se evaluaron las variables: parasitemia, plaquetas, tiempo de

ABSTRACT

Infection caused by *Trypanosoma vivax* affects the health and productivity of cattle in Venezuela. The present work was intended primordially to study the effect of experimental infection with a Venezuelan isolate of *T. vivax* on the blood coagulation parameters of 15 male, mixed-race (West African x Persian Black Head) sheep, aged between one and two years. Among these animals, 10 sheep were randomly selected to form an infected group, and five animals were used as uninfected controls. The experimental infection consisted of the intravenous injection of 2 ml of fresh bovine blood contained 1.3×10^6 try/ml. Over a 57-day period, the variable factors were evaluated: platelet count, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (PTTa), thrombin time (TT) and plas-

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (Corresponding Author).

protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), tiempo de trombina (TT) y concentración del fibrinógeno plasmático. Los animales infectados manifestaron una parasitemia ondulante y dos fases de la enfermedad, una aguda y una sub-aguda. Durante la fase aguda de la enfermedad se presentó una disminución acelerada en el número de plaquetas, escasa variación en el TP y TT, aumento progresivo en el TTPa y en la concentración del fibrinógeno plasmático. La fase subaguda se caracterizó por la tendencia a la recuperación o elevación del número de plaquetas; aumento progresivo en el TP, TTPa, TT y en la concentración del fibrinógeno plasmático. Las alteraciones en el número de plaquetas y en los parámetros de la coagulación sanguínea, evidencian que este aislado de *T. vivax* produjo desórdenes en los mecanismos de la coagulación sanguínea, sin embargo, no fue capaz de generar manifestaciones clínicas de hemorragias o coagulación intravascular diseminada (CID). Este estudio aporta elementos importantes que permiten caracterizar el comportamiento patogénico de aislados de *T. vivax* de Venezuela.

(Palabras clave: Ovinos, razas (animales), West african, persa cabeza negra, productos del cruzamiento, *Trypanosoma vivax*, coagulación sanguínea, Falcón.)

ma fibrinogen concentration (FC). In this period of time the infected animals showed a undulating parasitaemia an two phases of the disease: an acute y sub-acute phase. During the acute phase of the disease an accelerated reduction occurred in the mean values of the platelet count; slight variation in the PT and TT; progressive increase in the PTTa, and in the plasma fibrinogen concentration. The sub-acute phase was characterised by a tendency to recuperate or to increase the numbers of platelets, a progressive increase in the PT, PTTa and plasma fibrinogen concentration. The changes in the platelet numbers and in the blood coagulation parameters show that this isolate of *T. vivax* produces changes in the blood coagulation mechanisms; however it was not capable of producing clinical signs of haemorrhage or of disseminated intravascular coagulation (DIC). This study furnishes important elements, which could characterise the pathogenic behavior of isolate of *T. vivax* in Venezuela.

(Key words: Sheep, breeds (animals), West african, persa cabeza negra, crossbreeds, *Trypanosoma vivax*, blood coagulation, Falcón.)

INTRODUCCIÓN

El *Trypanosoma vivax* es considerado como el agente causal de mayor importancia y distribución de la tripanosomiasis en rumiantes domésticos y silvestres. Infecciones naturales y experimentales con diferentes cepas de esta especie parasitaria, son capaces de producir un amplio

rango de respuestas, incluyendo el síndrome agudo, la enfermedad crónica y el portador asintomático (Stephen, 1986). En Sur América, la enfermedad en bovinos es predominantemente crónica, con muertes ocasionales (Clarkson et al., 1971). En otras regiones del mundo, las infecciones con tripanosomas salivarios se han asociado frecuentemente con manifestaciones

hemorrágicas que difieren en forma marcada al tipo crónico. Así, Barrett-Connor *et al.* (1973), reportaron por primera vez defectos hemostáticos en un paciente humano con enfermedad del sueño por *T. rhodesiense*. También se han evidenciado trastornos hemostáticos y formas virulentas y hemorrágicas desde Tanzania, Kenya, Nigeria y Uganda, asociadas a infecciones experimentales por *T. vivax* en rumiantes (Wellde *et al.*, 1983; Wellde *et al.*, 1989; Williams *et al.*, 1992 y Magona *et al.*, 1997)

Jenkins y Facer (1985) han involucrado principalmente cuatro factores en la patología de la hemostasis anormal encontrada en la tripanosomiasis: injuria vascular, coagulopatía con fibrinólisis incrementada y trombocitopenia. Estos mecanismos han sido estudiados principalmente en infecciones experimentales utilizando cepas de *T. vivax* procedentes de Africa, donde se han reportado la mayoría de las cepas hemorrágicas de este hemoflagelado. No obstante, se carece de información del rol que pueden jugar cepas americanas de este parásito en estos desórdenes hemostáticos. Basados en los planteamientos anteriores, el desarrollo de la presente investigación contempló como objetivo fundamental la evaluación de las alteraciones en el sistema de la coagulación sanguínea en ovinos infectados experimentalmente con un aislado venezolano de *T. vivax*, procedente de la región de Tucacas, Estado Falcón. Este estudio comprendió además la realización de la evaluación clínica, parasitológica y hematológica en los animales experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y manejo

Constituidos por 15 ovinos machos, mestizos (Persa Cabeza Negra y West-

African), con edad comprendida entre uno a dos años. Todos los ovinos fueron desparasitados con Clorhidrato de Levamisol y vacunados con una bacterina Triple (*Clostridium chauvoei*, *Cl. septicum* y *Pasteurella multocida*). Los animales fueron confinados en jaulas cubiertas con malla anti-mosquito y recibieron una alimentación basada en pasto, heno, alimento concentrado con sales minerales y agua *ad libitum*.

Infección por *T. vivax*

El ensayo se realizó en dos fases, una que comprendió el período de pre-infección (1 semana) y la otra el período de infección (57 días). El inóculo de *Trypanosoma vivax* se obtuvo de un bovino con infección natural de la región de Tucacas, Municipio Silva, Estado Falcón, criopreservado en nitrógeno líquido a -196°C, según la técnica descrita por Espinoza y Tortolero (1990). Este aislado fue replicado en un bovino para obtener sangre infectada en el primer pico de parasitemia. Subsecuentemente 10 animales del grupo infectado (GI) fueron inoculados por vía intravenosa con 2 ml de sangre fresca conteniendo $1,3 \times 10^6$ Tryp/ml, mientras que cinco ovinos permanecieron como grupo control no infectado (GC).

Parasitemia

Los niveles de parasitemia fueron estimados diariamente utilizando la técnica de microcentrifugación (TMC) (Woo, 1969) y el conteo en cámara de Neubauer según técnica descrita por Lumsden *et al.* (1973) y modificada al usar oxalato de amonio al 1% en la solución de conteo.

Contaje de Plaquetas

Para determinar el conteo de plaquetas, se procedió a recolectar cada tres días muestras de sangre de la vena

yugular, mediante jeringas plásticas. Para el conteo de plaquetas se utilizó el equipo de Unopette y se realizó mediante la cámara de Neubauer según modificación de la Técnica de Brecher y Cronkite (1950).

Pruebas de la Coagulación Sanguínea

Para la realización de las pruebas de coagulación sanguínea: tiempo de protrombina o tiempo de Quick (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), tiempo de trombina (TT) y concentración de fibrinógeno (CF), se extrajeron muestras de sangre de la vena yugular, cada 3 días durante la fase infecciosa, utilizando jeringas plásticas y colectadas en tubos plásticos con citrato de sodio al 3,2% como anticoagulante (1:9 v/v). Todas las pruebas se realizaron por duplicado y en orden balanceado. En las pruebas TP, TTPa y TT se utilizó el coagulómetro de la Diagnóstica Stago, modelo ST4. El TP se determinó de acuerdo a la metodología propuesta por Quick (1935), utilizando tromboplastina de conejo Neoplastine® CI 5 (Diagnóstica Stago). El TTPa se realizó según el método de Langdell *et al.* (1953), utilizando el reactivo C.K. Prest 2. El TT se realizó utilizando el reactivo Thrombine-Prest de la Diagnóstica Stago. La CF se efectuó mediante el método gravimétrico (Ingram, 1952),

Análisis Estadístico

Los valores obtenidos de los parámetros estudiados fueron comparados mediante la Prueba de Tukey para muestras independientes. La correlación entre las variables estudiadas se realizó por el Coeficiente de Correlación de Pearson. Para todos los análisis se utilizó un nivel de significancia máximo del 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Parasitemia y Contaje de Plaquetas

Luego de la inoculación experimental con *T. vivax*, los ovinos manifestaron un período de incubación que osciló entre cuatro y cinco días, observándose por primera vez la presencia del parásito en la sangre al cuarto día post-infección (PI). El primer pico de parasitemia apareció entre los días seis y ocho PI. Los ovinos infectados presentaron una parasitemia de tipo ondulante, con períodos alternos parasitémicos y aparasitémicos, con considerables variaciones individuales. Se evidenciaron entre siete y doce picos de parasitemia, con niveles que fluctuaron entre 25×10^3 y $44,5 \times 10^6$ Tryp/ml. El aislado de *T. vivax* fue particularmente patógeno en dos ovinos del grupo infectado, ocasionándoles la muerte en los días 42 y 56 respectivamente, precedida por elevados niveles de parásitos en sangre, alcanzando en este último el mayor pico de parasitemia ($44,5 \text{ Tryp} \times 10^6/\text{ml}$) observado en este estudio.

Coincidiendo con la aparición del primer pico de parasitemia, se observó una rápida y significativa ($P < 0,05$) reducción en los valores promedio de plaquetas hasta el día 9 PI, momento en el que se presentó el menor promedio ($230,7 \times 10^3 \pm 73,6 \times 10^3 \text{ plaq}/\text{mm}^3$) (Figura 1) y niveles individuales tan bajos como $95 \times 10^3 \text{ plaq}/\text{mm}^3$. Seguidamente y hasta el día 45 PI, el número de plaquetas aumentó moderadamente, con fluctuaciones mantenidas por debajo de los niveles del GC. El análisis de los valores individuales de plaquetas y parasitemia evidencia que, durante la fase temprana de la infección, los valores de plaquetas se asociaron al grado de parasitemia, donde la disminución en los valores de plaquetas se presentó en el momento de un pico de parasitemia

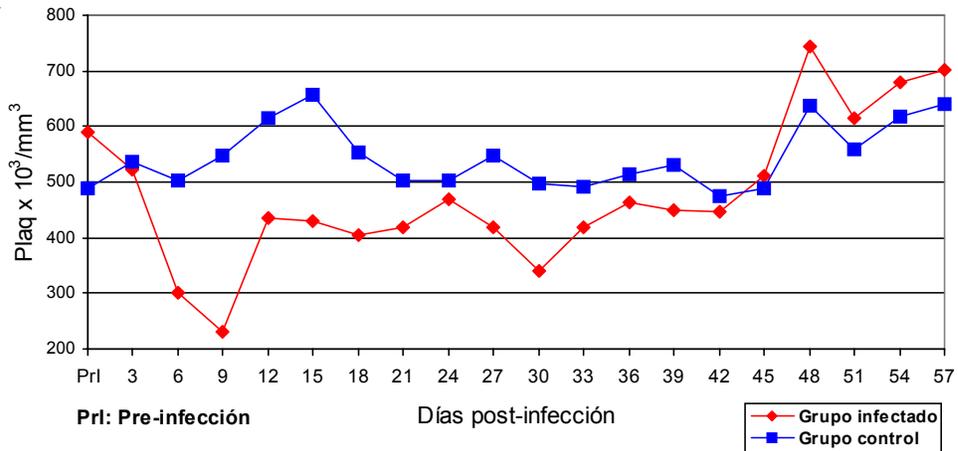


Figura 1. Variación de los promedios del número de plaquetas (plaq x10³/mm³) en ovinos infectados experimentalmente con *T.vivax* y en el grupo control, durante el período de pre y post-infección

o inmediatamente después de éste. Posteriormente hubo una marcada tendencia a la recuperación de los valores promedios de plaquetas del GI, incluso por encima de los valores obtenidos para el GC, alcanzando un máximo de $742,7 \times 10^3 \pm 225,9 \times 10^3$ plaq /mm³ el día 48 PI. Los valores promedios de plaquetas para el GC oscilaron entre $474 \pm 88,8$ y $657 \pm 153,6$ plaq /mm³.

Parámetros de la Coagulación sanguínea

A partir del día 24 PI, los animales infectados con *T. vivax* comenzaron a aumentar sus valores promedio del TP, en comparación a los animales no infectados y se determinaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) a partir del día 30 PI. Estas cifras continuaron en aumento hasta el final del ensayo, alcanzando un máximo valor de $18,36 \pm 2,49$ seg (Figura 2). El GC presentó valores promedios de TP que variaron entre $14,33 \pm 0,73$ y $16,4 \pm 0,84$ seg.

En el transcurso del ensayo, los ovinos infectados con *T. vivax* manifestaron un

aumento temporal pero estadísticamente no significativo, en el valor promedio del TTPa, que fue evidente el día 6 post-inoculación y coincidió con la aparición del primer pico de parasitemia (Figura 3). Inmediatamente después, estos valores disminuyeron hasta el día 12 PI, para luego aumentar progresivamente hasta el final del estudio, observándose diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) entre los grupos de ovinos experimentales a partir del día 36 PI. El mayor valor en el TTPa de los ovinos infectados se observó el día 48 post-inoculación ($43,23 \pm 10,19$ seg). Los valores promedios de TTPa del GC variaron entre $28,83 \pm 2,92$ y $34,31 \pm 2,96$ seg.

Un aumento progresivo en el TT del grupo de ovinos infectados con relación al grupo control, se observó a partir del día 30 de la infección (Figura 4). Durante esta fase se detectaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) entre el grupo de ovinos infectados y el grupo control, desde el día 36 hasta el final del ensayo, momento en que los ovinos inoculados alcanzaron el mayor valor promedio en el TT

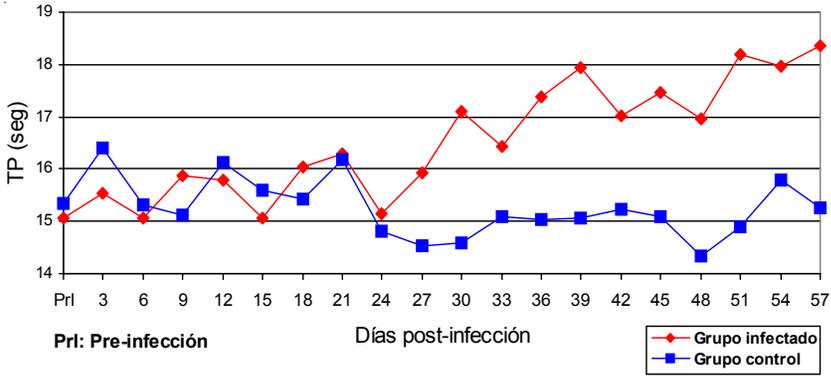


Figura 2. Variación de los promedios del tiempo de protombina (seg) en ovinos infectados experimentalmente con *T.vivax* y en el grupo control, durante el período de pre y post-infección

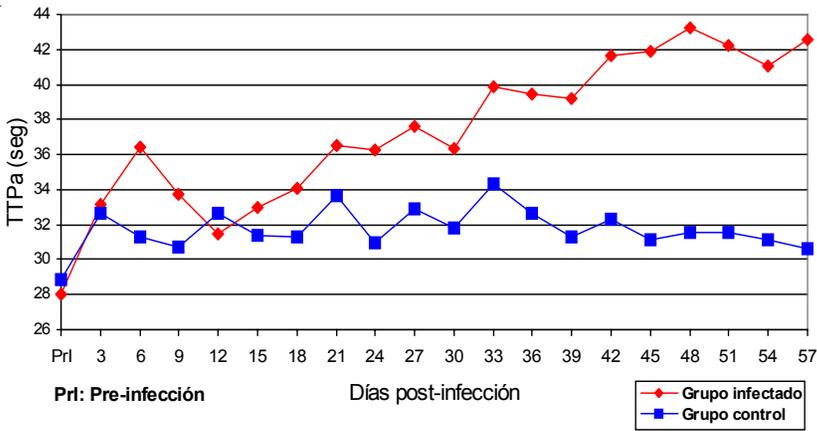


Figura 3. Variación de los promedios del tiempo de tromboplastina parcial activada (seg) en ovinos infectados experimentalmente con *T.vivax* y en el grupo control, durante el período de pre y post-infección

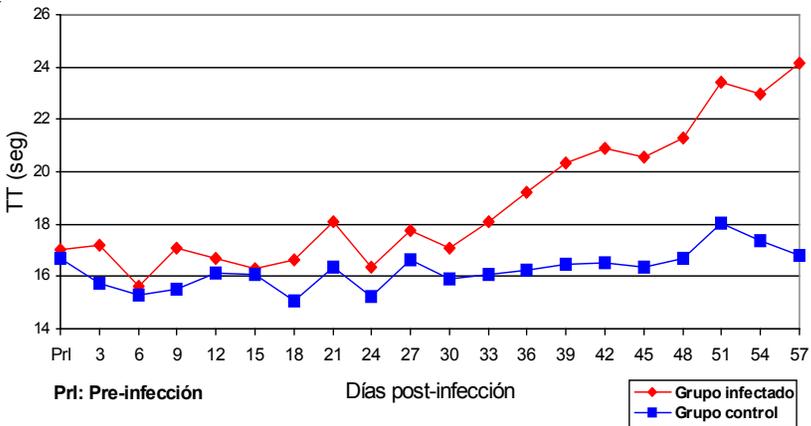


Figura 4. Variación de los promedios del tiempo de trombina (seg) en ovinos infectados experimentalmente con *T.vivax* y en el grupo control, durante el período de pre y post-infección

(24,14 ± 3,48 seg). El GC presentó valores promedios de TT que oscilaron entre 15,06 ± 1,28 y 18,06 ± 1,59 seg.

Luego de la inoculación experimental con *T. vivax*, se apreció un aumento progresivo en los promedios de la CF del GI, que se mantuvo hasta el final del ensayo (Figura 5). Se demostraron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) a partir del día 15 PI. El mayor valor en la CF (530,87 ± 72,88 mg/dl) se alcanzó al final del estudio. La concentración del fibrinógeno del GC presentó promedios que variaron entre 340 ± 34,64 y 444 ± 76,79 mg/dl.

DISCUSIÓN

La reducción en los valores promedios de plaquetas de los animales infectados en este estudio, alcanzó niveles trombocitopénicos moderados, al compararlos con los rangos normales descritos para la especie ovina, que varían entre $3 - 8 \times 10^5/\mu\text{l}$ (Meyer y Harvey, 2000). Esta alteración ha sido reportada en bovinos infectados con *T. vivax* de Venezuela

(Espinoza, 1988), en bovinos infectados con cepas hemorrágicas de *T. vivax* (Wellde *et al.*, 1983; Wellde *et al.*, 1989; Assoku y Gardiner, 1989; Anosa *et al.*, 1992) y en infecciones con varias especies de tripanosomas africanos (*T. rhodesiense*, *T. gambiense*, *T. brucei*, *T. congolense* y *T. vivax*) (Davis, 1982). Varios mecanismos se han propuesto para dar explicación a la trombocitopenia observada en la tripanosomiasis, entre ellos: un efecto tóxico directo de estos parásitos o de sus productos sobre las plaquetas (Davis, 1982; Anosa y Kaneko, 1989 y Anosa *et al.*, 1992), como la proteasa liberada por el *T. brucei*, que es una potente inductora de la coagulación sanguínea y de la agregación plaquetaria (Okenu *et al.*, 1999), el daño inmunológico a las plaquetas mediado por la formación de complejos inmunes entre el *T. vivax* y anticuerpos específicos o por anticuerpos a plaquetas (Rickman y Cox, 1980; Assoku y Gardiner, 1989), el secuestro activo de las plaquetas o por CID (Sadun *et al.*, 1973), la hipertrofia del sistema retículo endotelial (Robins-Browne *et al.*,

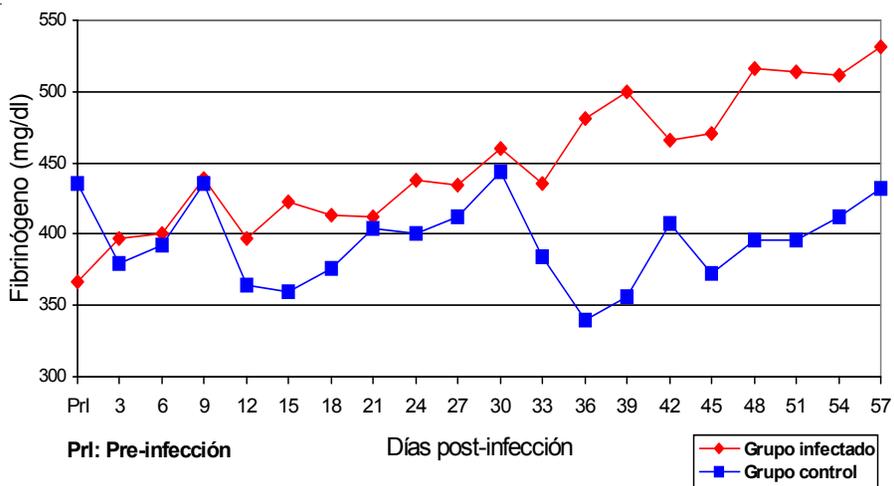


Figura 5. Variación de los promedios de la concentración del fibrinógeno (mg/dl) en ovinos infectados experimentalmente con *T.vivax* y en el grupo control, durante el período de pre y post-infección

1975) y una inefectiva trombopoyesis (Forsberg et al., 1979).

Las plaquetas tienen un rol importante en la respuesta a parásitos, tal como lo demuestran los estudios de Momi et al. (2000) en infecciones murinas con *T. equiperdum*, donde se observó una disminución progresiva en la cantidad de plaquetas circulantes. Según estos autores, las plaquetas ejercen una actividad parasiticida directa *in vitro* sobre *T. equiperdum*. Esta afirmación se apoya en la observación de la disminución gradual en la producción de Tromboxano A₂ por las plaquetas estimuladas con colágeno, en el transcurso de la infección, lo cual es compatible con la activación plaquetaria *in vivo* o con un posible efecto antagónico de los tripanosomas sobre la producción del Tromboxano A₂.

La recuperación en el número de plaquetas circulantes en el transcurso de la infección, observada también en ovinos infectados con *T. vivax* (Sandoval, 1994), tiene una explicación basada en las observaciones de Welde et al. (1983), donde la destrucción de plaquetas durante la infección, es acompañada por un aumento en su síntesis.

La trombocitopenia es una complicación frecuente de la tripanosomiasis del África y en algunos casos de tripanosomiasis ocasionada por aislados americanos de *T. vivax*. Sin embargo, aún permanece sin aclarar la importancia del daño a las plaquetas en la patogénesis de la coagulopatía, hemorragia, vasoconstricción, y daño al tejido que complica a esta enfermedad. Según ILRAD (1984), un animal con un reducido número de plaquetas o plaquetas dañadas, podría estar sujeto a anomalías de la coagulación y por lo tanto, a hemorragias internas. No obstante, las hemorragias pueden no solo estar relacionadas a trombocitopenia, sino a otras alteraciones

como un agotamiento de los factores de la coagulación relacionados a CID (Anosa et al., 1992).

En este estudio se demostraron alteraciones en todos los parámetros de la coagulación sanguínea evaluados, referidas a un aumento progresivo en el TP, TTPa, TT y en la CF plasmático de los animales infectados con *T. vivax*. Los resultados en el número de plaquetas y en las pruebas de la coagulación sanguínea, indican que la tripanosomiasis ocasionada por esta cepa venezolana de *T. vivax*, produce desórdenes en la vía intrínseca, extrínseca y en la fase final de la coagulación sanguínea. No obstante, este inóculo no fue capaz de generar manifestaciones hemorrágicas ni otras evidencias clínicas compatibles con CID, aún cuando ocasionó la muerte de dos ovinos del grupo infectado durante la fase subaguda de la enfermedad. Este comportamiento particular, sugiere que el *T. vivax* utilizado en esta investigación presentó una patogenicidad moderada, al compararlo con cepas africanas de este parásito y con otras especies de tripanosomas patogénicos, los cuales manifiestan una alta virulencia y son capaces de ocasionar una enfermedad hiperaguda y aguda, caracterizada, entre otras alteraciones, por severos trastornos de la coagulación sanguínea, caracterizados por trombocitopenia, hipofibrinogenemia o elevados niveles de concentración de fibrinógeno del plasma, elevados productos de degradación del fibrinógeno y prolongados TP y TTPa, presencia de monómeros de fibrina y la aparición de amplias hemorragias en varios tejidos con la presencia de microtrombos de fibrina (Rickman y Cox, 1980; Welde et al., 1989 y Anosa et al., 1992).

La etiología de las anomalías de la coagulación sanguínea en la tripanosomiasis aún no está totalmente cla-

rificada. Se sabe que el sistema de la coagulación sanguínea puede ser activado por un número de factores, incluyendo: liberación de procoagulantes desde células rojas dañadas durante la hemólisis intravascular e injuria endotelial, y por reacciones antígeno-anticuerpo (Barrett-Connor *et al.*, 1973). El papel de las plaquetas en el desarrollo de las anomalías de la coagulación, aún es objeto de estudio. La trombocitopenia precede a otras anomalías de la coagulación, tal como se demostró en esta investigación y en las observaciones de Forsberg *et al.* (1979), en infecciones por *T. congolense* en bovinos. En este sentido, las plaquetas liberan un fosfolípido, el factor 3 plaquetario (iniciador de la cascada de la coagulación), que asociado con la persistente destrucción de estas células durante la infección y a la incrementada liberación de estas sustancias tromboplásticas, podrían activar secundariamente los mecanismos de la coagulación, antes de que ocurra la producción de anticuerpos o complejos inmunes, opinión que es compartida por Davis (1982).

La ausencia de alteraciones significativas en el sistema de la coagulación sanguínea en los períodos tempranos de la enfermedad, cuando las plaquetas alcanzaron valores trombocitopénicos, sugiere que la magnitud de la reducción en el número de plaquetas no ocasionó trastornos significativos en el sistema de la coagulación sanguínea en este estudio. En la fase subaguda de la enfermedad, la prolongación en el TP, TTPa y TT, en presencia de adecuadas cantidades de plaquetas y de elevados niveles de fibrinógeno plasmático, hacen suponer que dichas alteraciones en esta fase de la enfermedad, no ocurren debido a una falla en la producción plaquetaria ni a una deficiencia en el fibrinógeno plasmático.

No obstante, Forsberg *et al.* (1979), sugieren que en la forma crónica de la tripanosomiasis ocurre una coagulopatía por consumo, donde las anomalías de la coagulación son debidas a una falla en la producción de plaquetas y al incremento persistente en el uso periférico del fibrinógeno. Igualmente, Rickman y Cox (1980), Anosa *et al.* (1992) y Maly *et al.* (1994), opinan que el síndrome de CID se caracteriza por una activación significativa del sistema de la coagulación (hipercoagulabilidad) con formación intravascular de microtrombos, produciéndose posteriormente un estado de hipocoagulabilidad debido al consumo de proteínas procoagulantes, inhibidores y plaquetas, lo que puede ser seguido por un severo síndrome de desfibrinación (hipofibrinogenemia) por la activación de la fibrinólisis y como consecuencia se puede producir un estado de hemorragia.

Un consumo moderado de ciertas proteínas de la coagulación pudiera estar implicado en las alteraciones observadas en las pruebas de coagulación en este estudio, pero no relacionadas a un severo cuadro de hipofibrinogenemia o a trombocitopenia. En este sentido, el agotamiento de otros factores de la coagulación, con varios grados de severidad, se ha observado en otras infecciones experimentales. De esta manera, Welde *et al.* (1989), sugieren una deficiencia en el factor X en bovinos infectados con *T. vivax* y con un TP y TTP anormales.

El aumento en la CF del plasma detectado en este ensayo experimental, pudiera explicarse por un trastorno en el balance dinámico de la regulación de la síntesis y degradación de proteínas, cuyo resultado es el incremento en la síntesis del fibrinógeno del plasma, tal como lo sugieren Boreham y Facer, (1974). Estos mismos investigadores opinan que los altos niveles de Productos de Degradación

del Fibrinógeno/Fibrina (PDF) detectados en otras infecciones experimentales, causan un incremento en la síntesis y liberación del fibrinógeno hepático y que la causa de estos niveles aumentados de PDF es la activación del plasminógeno.

Aunque la explicación de un TTPa anormal no está del todo clara en este estudio, esta prueba puede ser usada para monitorear la infección y la recuperación del paciente afectado por tripanosomiasis. Por otra parte, la prolongación del TT en presencia de adecuados o elevados niveles de fibrinógeno, indica la actividad de un inhibidor, como los monómeros de fibrina, que tienen un efecto antitrombínico, aspecto que ha sido analizado por Wellde *et al.* (1989).

Finalmente, los trastornos observados en el presente trabajo experimental con *T. vivax*, y los obtenidos de otras investigaciones sobre los defectos en la coagulación sanguínea en infecciones experimentales con varias especies de tripanosomas, sugieren que éstos pudieran ser el resultado de un número de procesos que difieren de acuerdo a la severidad y duración de la infección.

CONCLUSIONES

Las disminuciones significativas en el número de plaquetas se asociaron con la presencia del parásito en la sangre, lo cual indica que la presencia de los tripanosomas circulantes es un factor que se puede asociar con el desarrollo de esta alteración.

Las alteraciones en las pruebas de la coagulación sanguínea, representadas por un aumento significativo en el TP, TTPa y TT, se detectaron especialmente durante la fase subaguda de la enfermedad, lo que sugiere que una coagulopatía por consumo de las proteínas involucradas en este proceso se desarrolló durante esta fase de la enfermedad. El aumento en la CF del

plasma pudiera suceder por un trastorno en el balance dinámico de la regulación de la síntesis y degradación de proteínas, cuyo resultado es el incremento en la síntesis del fibrinógeno del plasma.

Estas alteraciones evidencian que el aislado de *T. vivax* utilizado en la inoculación experimental, ocasiona desórdenes en los mecanismos de la coagulación sanguínea, no obstante, no fue capaz de generar las severas manifestaciones clínicas de hemorragias y de CID referidas en estudios con cepas africanas de esta especie parasitaria.

REFERENCIAS

- Anosa, V.O. and Kaneko, J.J. 1989. Ultrastructural pathology of hemopoietic organs in *Trypanosoma vivax* infection of goats. *Vet. Pathol.* 26: 78-83.
- Anosa, V.O.; Logan-Henfrey, L.L. and Shaw, M. K. 1992. A light and electron microscopic study of changes in blood and bone marrow in acute hemorrhagic *Trypanosoma vivax* infection in calves. *Vet. Pathol.* 29: 33-35.
- Assoku, R. K.G. and Gardiner, P. R. 1989. Detection of antibodies to platelets and erythrocytes during infection with haemorrhage-causing *Trypanosoma vivax* in Ayrshire cattle. *Vet. Parasit.* 31: 199-216.
- Barrett-Connor, E.; Ugoretz, R. J. and Braude, A. I. 1973. Disseminated intravascular coagulation in Trypanosomiasis. *Arch. Intern. Med.* 131: 574-578.
- Boreham, P.F.L. and Facer, C.A. 1974. Fibrinogen and fibrinogen/fibrin degradation products in experimental african trypanosomiasis. *Int. J. Parasit.* 4: 143-151.
- Brecher, G. and Cronkite, E.P. 1950. Morphology and enumeration of human blood platelets. *Appl. Physiol.* 3: 365.
- Clarkson, M. J.; McCabe, W. and Colina, S. 1971. Bovine trypanosomiasis in Venezue-

- la. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65:257-258.
- Davis, C.E. 1982. Trombocytopenia: a uniform complication of african trypanosomiasis. *Acta Trop.* 39: 123-133.
- Espinoza, E. 1988. Evaluación clínica, parasitológica y serológica de bovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. Trabajo de Grado de Maestría. Postgrado de Medicina Veterinaria. FCV-UCV. 221 p.
- Espinoza, E. y Tortolero, E. 1990. Un método simple de conservación de *Trypanosoma vivax* para su uso en infecciones experimentales. En: hemoparásitos: Biología y Diagnóstico. (Ed. S. Giardina y F. García), pp.147-167. Caracas, Venezuela.
- Forsberg, C.M.; Valli, V.E.O.; Gentry, P. W. and Donworth, R.M. 1979. The pathogenesis of *Trypanosoma congolense* infection in calves. IV. The kinetics of blood coagulation. *Vet. Pathol.* 16: 229-242
- ILRAD. 1984. Anaemia in trypanosomiasis: Haemorrhagic *T. vivax* may provide a clue. International Laboratory for Research on Animal Diseases. 2:1-3.
- Ingram, G. I. C. 1952. The determination of plasma fibrinogen by the clot-weight method. *Biochem. J.* 51: 583-585.
- Jenkins, G.C. and Facer, C.A. 1985. Haematology of african trypanosomiasis. In: Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis. (Ed. Ian Tizard), pp. 13-44 CRC. Press, Inc., United States.
- Langdell, R.D.; Warner, R.M. and Brinkhous, K. 1953. Effet of antihemophilic factor on one-stage clotting tests. *J. Lab. Clin. Med.* 41: 637
- Lumsden, W. H., Herbert, J. and Mc Neillege, J.C. 1973. Techniques with Trypanosomes. Churchill Livinstone.
- Magona, J. W.; Katabazi, W.; Olaho-Mukani, W.; Mayende, J. S. P. and Walubengo, J. 1997. Haemorrhagic *Trypanosoma vivax* outbreak in cattle in Mbale and Tororo Districts in Eastern Uganda. *J. Protozool. Res.* 7:48-53.
- Maly, J.; Pecka, M.; Pidrman, V.; Blaha, M.; Siroky, O. and Jebavy, L. 1994. Diagnosis and therapy of disseminated intravascular coagulation. *Cas. Lek. Cesk.* 133: 719-722. (Abstract).
- Meyer, D. J. y Harvey, J. W. 2000. El Laboratorio en Medicina Veterinaria. Interpretación y Diagnóstico. 2nd ed., Edición. Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina.
- Momi, S.; Perito, S.; Mezzasoma, A.; Bistoni, F. and Gresele, P. 2000. Involvement of platelets in experimental mouse trypanosomiasis: evidence of mouse platelet cytotoxicity against *Trypanosoma equiperdum*. *Exp. Parasitol.* 95:136-43
- Okenu, D.M.; Opara, K.N.; Nwuba, R.I. and Nwagwu, M. 1999. Purification and characterisation of an extracellularly release protease of *Trypanosoma brucei*. *Parasitol Res.* 85:424-8.
- Quick, A.J. 1935. The prothombin in hemophilia and in destructive jaundice. *J. Biol. Chem.* 109: 73
- Rickman, W.J. and Cox, H.W. 1980. Immunologic reactions associated with anemia, thrombocytopenia, and coagulopathy in experimental african trypanosomiasis. *J. Parasitol.* 66: 28-33
- Robins-Browne, E.M.; Schneider, J. and Metz, J. 1975. Thrombocitopenia in trypanosomiasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2 : 226-231.
- Sadun, E.H.; Johnson, J.; Nagle, R.B. and Duxbury, R.E. 1973. Experimental infections with african trypanosomes. V. Preliminary parasitological, clinical, hematological, serological, and pathological observations in *Rhesus* monkeys infected with *Trypanosoma rhodesiense*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22 : 323-330.
- Sandoval, E. 1994. Variaciones fisiopatológicas de la anemia en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. Tra-

- bajo de Grado de Maestría. Postgrado en Medicina Veterinaria. FCV-UCV. 131 p.
- Stephen, L.S. 1986. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. Ziemann, 1905. En: Trypanosomiasis a Veterinary Perspective. Chapter 2:19-68.
- Wellde, B.T.; Chumo, D.A.; Adoyo, M.; Kovatch, R.M.; Mwongela, G.N. and Opiyo, E.A. 1983. Haemorrhagic syndrome in cattle associated with *Trypanosoma vivax* infection. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 15: 95-102.
- Wellde, B.T.; Chumo, D.A.; Onyango, F. K.; Reardon, M.J.; Roberts, L.M.; Njogu, A.R. and Opiyo, E.A. 1989. *Trypanosoma vivax*: disseminated intravascular coagulation in cattle. *Annals Trop. Med. Parasit.* 83:177-183.
- Woo, P. T.K. 1969. The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Canadian Journal of Zoology.* 47:921-923.