

ACCION BACTERICIDA DE LA LAGUNA MINERO—MEDICINAL

“SANTA CRUZ DE LAS SALINAS” CHILCA, LIMA—PERU *

Gloria Chacón Roldán**

SUMARIO

El presente estudio trata de la acción bactericida *in vitro* e *in vivo* del agua de la laguna minero-medicinal “Santa Cruz de las Salinas”, Chilca. Investigaciones realizadas en el período Febrero 1977 - Julio 1979 en el Instituto de Salud, Lima, han probado que esta agua ejerce acción bacteriostática y bactericida sobre un germen altamente patógeno para el organismo humano de tipo Gram negativo (Cepa *Salmonella typhi* Ty₂). Pruebas de toxicidad de esta agua en el organismo animal se han hecho inoculando 2 grupos de ratones por vías endovenosa e intraperitoneal, demostrando que no ejerce acción tóxica, más bien produce una acción estimulante sobre las células sanguíneas.

Se han elaborado 17 Cuadros y 37 figuras.

SUMMARY

Antibiotic activity of the minero-medicinal water of “Sta. Cruz de las Salinas” lagoon, Chilca, Lima-Perú. By Gloria Chacón Roldán.— The author presents the study of the bactericidal activity *in vitro* and *in vivo* of the minero-medicinal water of the Santa Cruz de las Salinas” lagoon, Chilca, on *Salmonella typhi*. Investigations made during the period February 1977-July 1979 at the Health Institute, Lima, have proved that this water exerts bacteriostatic and bactericidal action on a highly pathogen germ for human organism of Gram-negative type (strain *Salmonella typhi* ty₂). Tryals of toxicity of this water in the animal organism have been made inoculating two groups of mice by intravenous and intraperitoneal way, demostrating that it does not exert toxic action, although it produces a stimulant action on the blood cells.

Seventeen tables and 37 figures are presented in the study.

INTRODUCCION

La Laguna minero-medicinal “Santa Cruz de las Salinas”, Chilca, está situada en el Km. 69 de la Carretera Panamericana Sur (Departamento de Lima). Esta laguna es visitada por numerosas personas de diferentes lugares del país, esperanzadas a encontrar un alivio para sus dolencias.

* Dedico este estudio a mi maestro Doctor Felipe Llanos Diez.

** Dr. en Ciencias Biológicas, trabajo realizado en el Instituto de Salud de los Institutos Nacionales de Salud. LIMA.

Al revisar la bibliografía existente sobre la problemática de las aguas minero-medicinales en el Perú he encontrado una serie de publicaciones que tienen atinencia con nuestro problema sin que de ellos se desprenda una respuesta concreta. Tadeo Hanke (1796) en su estudio sobre descripción y análisis de las aguas de "Yura" no solo se concretó al estudio químico sino que dió indicaciones para su uso en diversas enfermedades. Edmundo Escomel (1935) realizó igualmente, estudios de las fuentes y lagunas termales en Arequipa, clasificándolas como termales, en el caso de Yura" y minero-medicinal en el caso de "Jesús", ambas con caracter medicinal. Mucho se debe al Dr. Escomel, sobre las investigaciones y observaciones realizadas por él para la comprobación de la acción terapéutica de esas aguas. Con el fin de controlar si el agua de la laguna de Huacachina, Ica, es apropiada para la vida de los gérmenes patógenos, Escomel, E. (1935) sembró en tubos de agua de la laguna filtrada y esterilizada, cultivos de estafilococos piógenos de los forúnculos, de *Streptococcus* de Felheisen, de las erisipelas, de *Diplococcus* acné productores de una forma de acné en Lima; del bacilo de Eberth o sea de la fiebre tifoidea, de colibacilos de *Escherichia*, originador de la colibacilosis. Después de varios días de conservar los tubos, ya sea a la temperatura ambiente o bien a 37.5°C, todos los microbios habían muerto. Es decir que el agua de Huacachina no es propicia para el desarrollo de microbios patógenos para el hombre.

Prazak, L. (1947) afirma que la cuota hidropínica en aguas cloruradas sódicas y sulfatadas estimulan la eliminación aumentada del ácido úrico. Su ingestión provoca en las cápsulas suprarrenales un aumento de su función, estimulando su deficiencia en ciertas enfermedades de diagnóstico bacilar. Las llamadas sodocloruradas fuertes, como todas las procedentes del Vergel de Calcio y las 3 lagunas de la zona de Chilca están indicadas para el tratamiento de la poli-artritis crónica, declinando los brotes evolutivos, pero cuidando mucho de su caracter exitante de que ellas gozan. Los baños en este tipo de aguas provocan excitación y modificación de los procesos funcionales, activando sus defensas en la lucha contra enfermedades infecciosas.

René Solis y Haydee Russac (1972) han realizado análisis bacteriológicos en muestras de agua y sedimento de la laguna "Santa Cruz de las Salinas", con resultados negativos en cuanto a la presencia de bacterias patógenas dejadas por enfermos que recurren a ella. Investigaciones sobre la acción bactericida in vitro del agua de la laguna fueron realizadas por la autora en 1976. Los ensayos se efectuaron utilizando cepas estándares de *Brucella melitensis* 16M, *Brucella suis* 1330, *Brucella abortus* 1119B y un cultivo de *Staphylococcus aureus* obtenida igualmente del Laboratorio de Diagnóstico e Investigación del Instituto de Salud. Asimismo se ensayaron con cepas de cultivos de *Escherichia coli* 0126-B16, *Citrobacter freundii* Lact + (1917-76), *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* Ur + Mov-(0-19A), *Proteus vulgaris* (1242-74) proporcionados por el Laboratorio de Referencia Enterobacteriana de dicho Instituto (1976).

El propósito de este estudio es el de investigar la acción bactericida del agua de la laguna in vitro e in vivo utilizando una cepa estandar internacional (*Salmonella typhi* Ty2) e igualmente investigar si el agua es tóxica o si ejerce alguna acción estimulante sobre el organismo animal.

ANALISIS FISICO-QUIMICO DE LA LAGUNA

La laguna minero-medicinal "Santa Cruz de las Salinas" presenta tonalidades de color verde amarillento a verde oscuro debido a la presencia de *Chlorella peruviana*, microalga, perteneciente a la clase *Chlorophyceae*. Esta microalga formó el 99.9 % de la comunidad fitoplanctónica durante el período 1970-1979. (Gloria Chacón R. 1980)

La turbidez se debió principalmente a la presencia de *Chlorella peruviana* y a partículas de minerales visibles en el sedimento de las muestras centrifugadas a 10,000 rev./min. Estas partículas estuvieron compuestas principalmente por sílice (SiO₂), Alúmina (Al₂O₃), Hierro (Fe₂O₃), Carbonato de Calcio (CO₃Ca), Magnesio (Mg), Sulfúrico (SO₃) y Cloro Cl (Zapata, R. 1971).

El pH de la laguna fué de 7.5 en verano (Febrero) a 9.2 al terminar el invierno (2-Setiembre). La temperatura promedia varió de 17.8°C en invierno (Agosto) en 28°C en verano

(Febrero) y el oxígeno disuelto presentó una mínima de 0.13 ml/L en verano (Enero) y una máxima con 5.40 ml/L a fines de invierno.

Muestras limnológicas analizadas químicamente determinaron como componente principal salino al Cloruro de Sodio (ClNa), seguido por el Sulfato de Sodio (SO₄Na), Carbonato de Sodio (CO₃Na₂), Bicarbonato de Sodio (HCO₃)₂Na, Bicarbonato de Calcio (HCO₃)₂Ca, Cloruro de Potasio (ClK), Cloruro de Hierro (Cl₃Fe) y Cloruro de Aluminio (Cl₃Al) (Zapata, R., 1971).

Muestras limnológicas centrifugadas a 10,000 rev/min., presentaron el sobrenadante claro y transparente. Análisis químico de éste determinaron que el Cloruro de Sodio (ClNa) es el componente principal seguido del Sulfato de Sodio (SO₄Na), Sulfato de Magnesio (SO₄Mg), Bicarbonato de Magnesio (HCO₃)₂Mg, Bicarbonato de Calcio (HCO₃)₂Ca, Cloruro de Potasio (ClK), Carbonato de Sodio (CO₃Na₂), Nitrato de Sodio (NO₃Na), Sulfato Ferroso (SO₄Fe) (Zapata R., 1978).

El Cuadro 1, presenta los análisis químicos de la laguna minero-medicinal "Santa Cruz de las Salinas" y del sobrenadante de una muestra de agua centrifugada (ML261277).

CUADRO I: Análisis químico de la laguna y del sobrenadante centrifugado.

Análisis Cualitativo	Análisis Cuantitativos	
	Laguna (gr/L)	Sobrenadante
		(gr/L)
Carbonato de Sodio (CO ₃ Na ₂)	5.592	0.010
Bicarbonato de Calcio (HCO ₃) ₂ Ca	0.429	0.202
Bicarbonato de Magnesio (HCO ₃) ₂ Mg	1.987	1.665
Cloruro de Potasio (ClK)	0.307	0.040
Nitrato de Sodio (NO ₃ Na)	0.002	0.003
Nitrito de Sodio (NO ₂ Na)	0.001	—
Sulfato de Magnesio (SO ₄ Mg)	—	3.448
Cloruro de Amonio (ClNH ₄)	0.009	—
Bicarbonato de Sodio (HCO ₃) ₂ Na	2.078	—
Cloruro de Sodio (ClNa)	94.528	102.934
Cloruro ferroso (Cl ₃ Fe)	0.009	—
Cloruro de aluminio (Cl ₃ Al)	0.012	—
Sulfato ferroso (SO ₄ Fe)	—	0.002
Sulfato de Sodio (SO ₄ Na)	43.528	22.136
Ioduro de Sodio (I ₂ Na)	—	0.001

MÉTODOS Y MATERIAL

Métodos estándares rutinarios se utilizaron en las tomas de muestras de la laguna y centrifugación (ML), en las pruebas de toxicidad, pruebas de la acción bacteriostática y bactericida, como también en las pruebas de protección en el ratón.

Las muestras fueron tomadas de la laguna (Fig. 1), en las estaciones limnológicas 36, 3 y 27 (Fig. 2), a la profundidad de -0.10 m. Se tomó el pH de cada muestra, utilizando un papel indicador especial (pH 6.5-10.0 Merck). Un litro de cada muestra de agua fue centrifugada a 10,000 re/min. por 20 minutos. El sobrenadante se conservó en frascos de vidrio de 250 ml c/u en frigidier (5°C), siendo de esta manera utilizada para las pruebas correspondientes. Estas muestras pueden ser mantenidas al frío por más de 1 año sin que cambie su pH. Cada preparación fue numerada como ML131276, ML261277 y ML030679 de acuerdo a las fechas en que fueron tomadas.

Pruebas de toxicidad del medio líquido centrifugado de la laguna. La muestra ML131276 se utilizó en estos ensayos. Ratones de 3-6 meses se inocularon por vía endovenosa e intraperitoneal, realizándose los hemogramas correspondientes antes y después de las 24 horas de dichas inoculaciones.

El método Haden-Hausser (Kolmer, J. and Fred Boerner, 1945) se utilizó para la estimación de la hemoglobina, ésta es convertida en hematina ácida (HCl 0.1 N) y el color comparado con una escala de color permanente de vidrio teñido.

Para la determinación del hematocrito se usó el método de Wintrobe (Kolmer J. and Fred Boerner, 1945). Se utilizó un tubo de ensayo de 9 x 100 mm para mezclar la sangre obtenida en el momento con 0.025 ml de Oxalato de Potasio al 10 o/o (anticoagulante). Con una pipeta serológica de 1 ml. se tomó 0.1 ml de sangre de la cola del ratón, ésto se hizo en 2 partes para evitar coagulación en el momento de la extracción (0.05-0.05 ml), luego se agregó 0.9 ml de suero fisiológico estéril, se agitó suavemente el tubo, absorbiendo luego con una pipeta capilar, para llenar hasta la marca 10 en el tubo de Wintrobe. Para la centrifugación, el tubo de Wintrobe se introdujo en un tubo de ensayo 13 x 100 mm tapándose con esparadrapo. De esta manera se centrifugó a 1,800 rev/min. por 20 minutos. La lectura se hizo inmediatamente.

En el recuento de glóbulos blancos y rojos se utilizó el procedimiento común de recuento celular (Kolmer, J. 1944) utilizándose como diluyente la Sol. de Hayem para los glóbulos rojos y la Sol. Türk para los blancos. En el recuento leucocitario se contó hasta 100 células en forma horizontal y se utilizó la fórmula siguiente (Ejemplo en el caso de linfocitos):

$$RL = \frac{ab}{100} \text{ ce/ml}$$

donde: a = recuento total de leucocitos/ml

b = recuento de linfocitos (en un total de 100 células)

Se han consultado los trabajos de Joan Hardy (1969), Charles Harris and William Bucke, (1957), K.O. Godman, F.J. Frass, y R.N. Ibbotson (1964) y J.P. Simonds (1925), referente a los análisis sanguíneos cuantitativos en ratones. Archer, R.K. (1965) sobre métodos estándares de análisis hematológicos, Enzmann, E.V. (1934), James M. Orten y Arthur H. Smith (1934) sobre concentración de la hemoglobina de la sangre de ratas en desarrollo; y Paul D. Crimm and Darwin M. Short, (1934), referente a los leucocitos polimorfonucleares y la relación con las variaciones de edad en la rata.

Los animales en experimentación fueron obtenidos del bioterio del Instituto de Salud, utilizándose 15 ratones machos blancos (*Mus musculus domesticus*) de 3 meses de edad; igualmente se utilizaron 30 ratones para la confección del Cuadro hematológico patrón.

Jaulas de metal de 25 mm x 30 mm y 13 mm de alto se utilizaron para el mantenimiento de los animales colocados en un raket. La alimentación consistió de nicovita y agua, la cama de viruta de madera de tipo cedro o caoba. La temperatura promedia ambiente fluctuó de 16°C en el invierno a 21°C en Setiembre. El aseo de las cajas fue de una vez por semana y el suministro de alimento cada 2 días, realizándose diariamente la limpieza excepto los sábados y domingos. (Rolland, J. Main 1939; UFAW, 1947; Lee R. y Dice, A.B., 1947; Ameri-

can Public Health Association, 1954; Animal Welfare Institute, 1958 y OMS-OPS, 1968. Alvin Smith, 1974.

Las tomas de muestras sanguíneas y las inoculaciones en los ratones se efectuaron de la siguiente manera: el ratón es introducido en un tubo de metal o plástico de 82 mm de largo con diámetro de 33 mm, un lado tapado con una red metálica, y el otro con un esparadrapo ancho con un orificio central para que la cola quede libre. Las inoculaciones del ML131276 se realizaron buscando la vena gruesa, hacia la región ventral y cerca de la base de la cola, se le pasó un algodón mojado en agua caliente para dilatar la vena durante unos segundos. Se utilizó una jeringa de tuberculina de 1 ml. y aguja No. 24 corta.

Para las tomas de muestras hematológicas se cortó 3 mm de la parte final de la cola con una tijerita fina y desinfectada, la primera gota se eliminó usando un algodón estéril; luego se presionó suavemente desde la base de la cola para que la sangre fluya fácilmente. Al terminar, se limpió la cola con algodón y agua oxigenada. En algunos ratones se aplicó una gota de colodium al 4 % con una micropipeta cuando la sangre seguía fluyendo.

Pruebas de la acción bacteriostática y bactericida de la laguna. Las muestras de agua ML261277-ML030679 y cultivos de una cepa internacional estandar de *Salmonella typhi* Ty2 del Laboratorio de Vacunas del Instituto de Salud han sido utilizadas en estas pruebas. El método del disco húmedo (= wet disk) o de Bondi, B. et al (1947) cuya técnica detallada es presentada por Kolmer, J.A. (1947) fue empleada, consultándose también los trabajos de Foster and Woodruff (1944), Turck, M., Lindemeyer, R.T. and Petárdorf, B.G. (1963), A.W. Bauer, M.M. Kirby, J.L. Sherris, and M. Turck (1966) y DIFCO (1973).

El cultivo de *S. Typhi* se preparó de un cultivo semilla de 48 horas, sembrando en caldo cerebro-corazón (Q/BBL) e incubado a 34°C por 24 horas. Presentó una turbidez de 3.000'000,000 ce/ml (Escala MacFarland). De este cultivo se tomó 0.2 ml para 5 ml de suero fisiológico estéril, presentando una turbidez de 300'000,000 ce/ml, éste se sembró con una pipeta de 5 ml en placas con el medio Mueller-Hinton, colocándose a la estufa (34°C) por 5 minutos, luego se introdujeron discos de papel Watman N° 51 previamente esterilizados y embebidos con el ML261277. El disco antibiótico Hetacillin "H" fue utilizado como comparación y un disco Watman normal que sirvió de testigo. Las placas incubadas fueron observadas a las 24 hs, 48 hs, 72, 96 hs y 120 hs.

En la prueba de la acción bacteriostática y bactericida del ML261277 y MLO30679 in vitro, se ha seguido el método de dilución seriada, utilizándose concentraciones de 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml y 0.4 ml de un cultivo de 24 horas (3,000'000,000 ce/ml) de *S. typhi* Ty2 en 1 ml del medio investigar. Como testigo se utilizó el medio caldo cerebro corazón. Los tubos se mantuvieron a la estufa (34°C) y observados a intervalos de 24 horas hasta el 7mo día inclusive. Los cultivos de 24 horas de incubación fueron sembrados en placas con agar bacto triptosa (pH 6.0), observándose el desarrollo durante 6 días.

Pruebas de Protección en el ratón. Se ha utilizado 2 métodos. El primero basado en el método de dilución seriada se colocó en 5 tubos 1 ml del ML261277 y concentraciones de 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml y 0.4 ml de un cultivo de 24 horas de *S. typhi* (3,000,000ce/ml) a temperatura ambiente por 3 horas. Estos cultivos fueron inoculados, en ratones machos de 18 gr c/u, por vía intraperitoneal con jeringas de tuberculina y agujas descartables estériles de 5/8 (0.50 x 15 mm). Un tubo sirvió de testigo.

El segundo método consistió en diluciones de 1/10, 1/100 y 1/1000 del cultivo *Salmonello typhi* Ty2 preparado en caldo cerebro - corazón (Q/BBL).

Se utilizó un cultivo de 24 horas (= 3,000'000 ce/ml) a 34°C. Las diluciones fueron hechas con el ML030679, permaneciendo 3 horas a medio ambiente. Se inocularon en ratones machos de 18 gr. por vía intraperitoneal (0.25 ml), utilizándose testigos como control.

Material y animales de laboratorio.

Cepas, equipos, reactivos químicos y ratones blancos fueron facilitados principalmente por la División de Sueros, Vacunas y Toxinas, en cuyos laboratorios se efectuaron las investigaciones correspondientes; se utilizaron también equipos del Laboratorio de Vacuna Antivariólica, Laboratorio BCG y Laboratorio de Diagnóstico e Investigación del Instituto de Salud de los Institutos Nacionales de Salud, Lima.

La centrifugación de las muestras de la laguna fueron hechas con una centrifugadora automática refrigerada, Sorvall RG2-B y para el peso de las sustancias químicas se utilizaron una balanza Mettler, 1DW-0.1 gr máx. 800 gr y una balanza OHAUS, double beam GRAM para el peso de los ratones.

En los análisis hematológicos del ratón se han utilizado el hemoglobínometro de Hadem-Hausser (Clinical Model) para determinar la hemoglobina y una centrifugadora (International Centrifuge, Size 1 type SB No x 2671, 220 volts. Cy 60 amps. 3.5 1/3 HP. Tubos de Wintrobe, una pipeta serológica terminal de 1 ml y una pipeta capilar se emplearon en la determinación del hematocrito (o/o). Un microscopio Leitz ORTOLUX LEITZ WETZLAR Obj. 10X, Oc 10X (100X), una cámara cuenta glóbulos de Neubauer y una pipeta de glóbulos rojos en el recuento de los hematíes y una pipeta de glóbulos blancos para el recuento leucocitario; igualmente se empleó un microscopio Leitz WETZLAR 285030,547MFG Ob. 90X y Oc 10X (900X).

Reactivos químicos. Los reactivos químicos o soluciones utilizados para los análisis hematológicos son basados del Manual de Laboratorio de **Kolmer, J.** (1945) y **Wadsworth, A.** (1943).

Equipo y material de fotografía. Un microscopio ORTOLUX "LEITZ WETZLAR" 604171 con objetivos de 10X y 100X y una lámpara de bajo voltaje 5 a 16 v con o sin filtro fueron utilizados. Igualmente, una máquina fotográfica Leika y rollo Kodacolor II 135-20 Películas Verichrome, 120-ASA 124 fueron necesarias para las fotos en placas, con una máquina MAMIYA C 330 Profesional, tomadas por el Sr. **Moises Huayta**. Las microfotografías fueron tomadas por la autora, utilizando películas en blanco y negro, y color Kodachrome. El tiempo de exposición fue 1" y 3" respectivamente.

Archivo de láminas y fotos. Se utilizaron láminas porta-objetos de 1.0 mm de grosor y de 3" x 1" para conservar las muestras o frotises de sangre. Las láminas se clasificaron con números y letras.

RESULTADOS

En el curso de la investigación se elaboró un cuadro patrón de hemogramas sobre 30 ratones blancos cuyos valores son representados en el Cuadro 2. Este Cuadro se ha hecho con la finalidad de tener en el futuro, en los Institutos, un cuadro estandar de comparación, para trabajos relacionados con inmunógenos y sueros. Las edades fluctuaron desde 7 semanas a 24, presentando el promedio más alto de hemoglobina los ratones de 16 semanas (14.5 gr/100 ml). Los hemogramas presentaron los siguientes valores promedios: hemoglobina 13.0 gr/100 ml, Hematocrito 41.0 o/o, Glóbulos Rojos 8'124,600 ce/ml, leucocitos 11,769 ce/ml, linfocitos 8,243 ce/ml y neutrófilos segmentados 3,052 ce/ml. (Fig. 4).

Se ha elaborado el Cuadro 3 con datos hematológicos realizados por estudiosos foráneos, desde 1909 hasta 1964, con la finalidad de observación y comparación, tomando como factores principales la hemoglobina, glóbulos rojos, glóbulos blancos, linfocitos y neutrófilos segmentados. Los datos más altos de hemoglobina son presentados por **Schermer** (1958) como 19.2 gr/100 ml y **Graige, A.H.** (1945) como 17.3 gr/100 ml.

Datos hematológicos más completos se obtuvieron de **Hardy, J.** (1967) quien utilizó ratones de 6 a 65 semanas. El Cuadro 4 indica los valores de hemoglobina, hematíes, leucocitos, neutrófilos segmentados y monocitos. El valor más alto de hemoglobina está dado en ratones de 13 semanas. (Fig. 3).

CUADRO 2: HEMOGRAMAS DE 30 RATONES MACHOS DEL BIOTERIO DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
(Institutos Nacionales de Salud)

RATON Semanas ♂	Hemoglobina (Hb) gr/100 ml	Hematocrito o/o	Hematies ce/ml	Leucocitos ce/ml	Fórmula leucocitaria							
					Linfocitos		Neutrofilos		Monocitos		Eosinófilos	
					ce/ml	o/o	ce/ml	o/o	ce/ml	o/o	ce/ml	o/o
7	11.0	40.0	8'110,000	8,500	5,100	60	2,890	34	255	3	255	3
8	12.0	41.5	8'580,000	12,400	9,052	73	2,976	24	124	1	248	2
9	12.5	42.0	8'650,000	8,450	5,577	66	2,920	33	—	—	845	1
10	12.5	41.5	7'695,000	12,600	9,702	77	1,890	15	630	5	252	2
12	13.9	40.6	7'950,000	11,567	8,261	70	2,760	23	892	7	153	1
16	14.5	41.0	8'040,000	10,900	8,504	78	1,962	18	436	4	—	—
20	12.8	40.6	7'610,000	13,183	8,653	66	3,890	29	389	3	302	2
24	13.0	39.4	8'362,500	16,550	11,102	66	5,134	31	734	3	161	0.8

Gloria Chacón, 1977

**CUADRO 3: CRONOLOGIA SOBRE ANALISIS HEMATOLOGICOS
(HEMOGRAMAS) EN RATONES.**

Publicación Año	Autor	Hemoglobina g/100ml	Glóbulos rojos x 10 ⁶ ce/ml	Glóbulos blancos ce/ml	Linfocitos ce/ml	Neutrófilos Seg. de/ml
1909	Goodall	—	6–10	8,000 10,000	71 o/o	62.4 o/o
1925	J.P. Simonds	—	6– 8	6,000 11,000	50–65 o/o	24–50 o/o
1946	A.H. Graige	15.6–17.3	8–11	3,000 22,000	2,200 15,000	600 10,000
1947	Gardner	14.44	8–10	15,050	62–75 o/o	18–36 o/o
1958	Schermer	11.4–19.2	5.5–10	5,000 25,600	—	—
1964	K. Ogodwin et al.	13.4–16.1	6.3–8.9	9,400 14,900	7,000 14,000	670 2,490

CUADRO 4: HEMOGRAMAS DE 40 RATONES MACHOS (Hardy, J. 1967).

Ratón semanas	Hemoglobina gr/100ml	Hematíes $\times 10^6$ ce/ml	Leucocitos ce/ml	Fórmula leucocitaria					
				Linfocitos		Neutrofilos		Monocitos	
				ce/ml	o/o	ce/ml	o/o	ce/ml	o/o
6	12.1	7.41	8,597	7,469	86.9	859	10.0	192	2.2
13	13.7	7.90	11,084	9,865	89.0	887	8.0	188	1.7
18	12.9	6.82	8,869	7,742	87.3	843	9.5	195	2.2
26	12.2	7.36	9,697	8,504	87.7	922	9.5	136	1.4
39	13.4	7.70	10,152	9,046	89.1	863	8.5	132	1.3
52	11.8	7.17	9,207	7,826	85.0	921	10.0	220	2.4
65	13.5	7.82	8,559	7,608	88.9	770	9.0	103	1.2

Hemogramas de los ratones antes de la inoculación.

Los datos registrados en el Cuadro 5 se presentan divididos en 2 grupos. Los ratones inoculados por vía endovenosa cuyos promedios de análisis son los siguientes: Hemoglobina 12.0 g/100 ml, Hematocrito 38.9 o/o, Hematíes 7'825,000 ce/ml, leucocitos 15,281 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 66 o/o, neutrófilos segmentados 30 o/o, monocitos 3 o/o y los eosinófilos 1.7 o/o.

En el segundo grupo están comprendidos los ratones inoculados por vía intraperitoneal. Presentaron valores promedios de: Hemoglobina 13.8 g/100 ml, Hematocrito 40.6 o/o, hematíes 7'950,250 ce/ml, leucocitos 12,925 ce/ml, Fórmula leucocitaria: Linfocitos 68.5 o/o, neutrófilos segmentados 24 o/o, monocitos 6 o/o y eosinófilos 1.5 o/o.

Los ratones 1 y 8 del primer grupo no fueron considerados en el promedio anterior debido al promedio bajo de sus hemogramas, sin embargo estos ratones al igual que el 9, fueron utilizados en los ensayos con fines de observación. Los valores promedios de los primeros 2 ratones fueron: Hemoglobina 7.8 g/100 ml, Hematocrito 28.0 o/o, hematíes 5'950,300 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 61 o/o, neutrófilos segmentados 35.5 o/o, monocito 1 o/o y eosinófilos 3 o/o.

El ratón 9 presentó un buen hemograma en los análisis en conjunto, pero 15 días antes de su inoculación, el ratón presentó infección a la piel, en el flanco derecho, por hongos. No se le hizo hemograma antes de las 24 horas.

Reacción biológica de los ratones inoculados por vía endovenosa con el ML131276, después de las 24 hs. de inoculación.

Se han hecho diluciones del ML131276 con la finalidad de observar su potencia en el organismo. Este primer grupo fue subdividido en 3: ratones inoculados con la dilución 1/10 o sea 0.1 ml del ML131276 en 0.9 ml de Agua destilada (dilución a). En este grupo estuvieron los ratones 1, 2, 3 y 4, ratones inoculados con la dilución 1/2 o sea 0.5 ml de ML131276 en 0.5 ml de agua destilada (= dilución b). En este grupo estuvieron los ratones 5, 6, 7 y 8; y los ratones inoculados con el ML131276 puro (c), correspondieron los ratones 9, 10 y 11.

Los ratones inoculados con la dilución (a) presentaron los siguientes hemogramas promedio, después de las 24 hs: Hemoglobina 12.6 g/100 ml, Hematocrito 39.2 o/o, hematíes 8'838,333 ce/ml y leucocitos 10,966 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 74.33 o/o, Neutrófilos segmentados 21 o/o, monocitos 2,66 o/o y eosinófilos 2 o/o. En estos promedios quedó excluido el ratón 1 cuyo hemograma fue: Hemoglobina 7.5 g/100 ml, Hematocrito 26.0 o/o Hematíes 6'885,000 ce/ml, Leucocitos 13,300 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 81 o/o, Neutrófilos segmentados 15 o/o, Monocitos 4 o/o y Eosinófilos 0 o/o. (Fig. 17 - 20).

Los ratones inoculados con la dilución (b) presentaron los siguientes homogramas promedio: Hemoglobina 12.2 gr/100 ml, hematocrito 41.0 o/o, hematíes 8'430,000 ce/ml, leucocitos 10,866 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 73.3 o/o, Neutrófilos segmentados 26.0 o/o, Monocitos 0.3 o/o, Eosinófilos 0 o/o. (Figs: 21-23)

En estos promedios quedó excluido el ratón 8 cuyo hemograma fue: Hemoglobina 7.0 gr/100 ml., Hematocrito 28.0 o/o, Hematíes 6'860,000 ce/ml, Leucocitos 7,200 ce/ml, Fórmula leucocitaria: Linfocitos 60 o/o, Neutrófilos Segmentados 40 o/o. Comparando este hemograma con el anterior se puede apreciar un aumento de hematíes a un nivel normal de acuerdo al Cuadro 2, como también una baja notoria de leucocitos de 25,200 ce/ml. a 7,200 ce/ml, llegando en 24 horas a un nivel normal. En cuanto a la hemoglobina y hematocrito es casi constante aunque con presencia de anemia y baja de peso. Los glóbulos rojos de este ratón presentaban anisocitosis y poiquilocitosis. (Fig. 24)

Los ratones inoculados con el ML131276 puro, presentaron los siguientes hemogramas promedio: Hemoglobina 13.25 gr/100 ml, hematocrito 35 o/o, Hematíes 8'720,000 ce/ml, Leucocitos 11,200 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 70 o/o, Neutrófilos Segmentados 29 o/o y Monocitos 1 o/o. (Figs. 25-27)

El ratón 9 quedó excluido del promedio anterior y presentó el siguiente hemograma: Hemoglobina 7.5 gr/100 ml, Hematocrito 25 o/o, Hematíes 6'740,00 ce/ml, Leucocitos 13,000 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 50 o/o, Neutrófilos Segmentados 40 o/o, Monocitos 9 o/o y Eosinófilos 1 o/o. (Fig.25)

CUADRO N° 5

HEMOGRAMAS DE RATONES ANTES DE LA INOCULACION

RATON N°	PESO, EDAD SEXO	HEMOGLOB g/100ml	HEMATOCRITO %	TOTAL DE GLOB ROJOS ce/mm^3	TOTAL DE LEUCOCITOS ce/mm^3	LINFOCITOS		NEUTROFILOS SEGMENTADOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		FECHA DE LOS ANALISIS	ARCHIVO LAMINAS Y FOTOS N°
						TOTAL ce/mm^3	%	TOTAL ce/mm^3	%	TOTAL ce/mm^3	%	TOTAL ce/mm^3	%		
VIA ENDOVENOSA															
I	6 MESES	8	30.0	6'135,000	19,800	13,464	68	5,344	28	198	1	394	3	9-VI-77	LAM 1a Fot 1
II	6 MESES	12.5	38.0	8'620,000	17,000	11,900	70	4,780	28	340	2	-	-	14-VI-77	LAM 2a Fot 2
III	6 MESES	13.3	40.8	7'905,000	16,100	10,300	64	5,308	28	1,127	7	181	1	16-VI-77	LAM 3a Fot 3
IV	5 MESES	12.0	40.5	6'800,000	16,300	13,692	84	2,445	15	163	1	-	-	21-VI-77	LAM 4a Fot 4
V	5 MESES	13.0	41.5	7'750,000	13,400	7,772	58	4,958	37	536	4	134	1	23-VI-77	LAM 5a Fot 5
VI	5 MESES	12.5	40.5	6'792,000	15,000	7,380	49	5,950	39	1,200	8	600	4	28-VI-77	LAM 6a Fot 6
VII	5 MESES	12.5	40.5	7'560,000	10,800	8,056	76	2,226	21	106	1	212	2	30-VI-77	LAM 7a Fot 7
VIII	7 MESES	7.5	25.0	4'480,000	25,200	13,608	34	10,836	43	-	-	756	3	5-VII-77	LAM 8a Fot 8
IX	5 MESES	12.5	40.0	8'535,000	8,800	4,400	30	3,980	45	176	2	264	3	5-VII-77	LAM 9a Fot 9
X	5 MESES	14.0	40.5	8'280,000	15,000	10,450	71	3,900	26	150	1	300	2	5-VII-77	LAM 10a Fot 10
XI	4 MESES	14.5	41.0	8'040,000	10,900	6,504	78	1,962	18	436	4	-	-	11-VII-77	LAM 11a Fot 11
VIA INTRAPERITONEAL															
I	3 MESES	14.0	40.0	8'010,000	11,800	7,434	63	3,304	28	944	8	138	1	18-VII-77	LAM 1a Fot 12
II	3 MESES	14.0	40.0	8'915,000	10,700	7,276	68	1,819	17	1,498	14	107	1	20-VII-77	LAM 2a Fot 13
III	3 MESES	13.0	40.5	7'596,000	17,500	12,950	74	4,025	23	175	1	350	2	21-VII-77	LAM 3a Fot 14
IV	3 MESES	14.5	42.0	7'280,100	11,700	8,073	69	3,159	27	234	2	234	2	21-VII-77	LAM 4a Fot 15

CUADRO N° 6

HEMOGRAMAS DE RATONES INOCULADOS A LAS 24 HORAS

RATON N°	PESO, EDAD SEXO	HEMOGLOB g/100ml	HEMATOCRITO %	TOTAL DE GLOB ROJOS ce/mm^3	TOTAL DE LEUCOCITOS ce/mm^3	LINFOCITOS		NEUTROFILOS SEGMENTADOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		FECHA DE LOS ANALISIS	ARCHIVO LAMINAS Y FOTOS N°
						TOTAL ce/mm^3	%	TOTAL ce/mm^3	%	TOTAL ce/mm^3	%	TOTAL ce/mm^3	%		
VIA ENDOVENOSA															
I	27.0 gr 6 meses	7.5	26.0	6'885,000	13,300	10,773	81	1,995	15	532	4	-	-	16-VIII-77	LAM 1a FOTO
II	25.8 gr 6 meses	13.0	35.0	6'580,000	9,900	5,742	58	3,069	31	594	6	495	5	16-VIII-77	LAM 2a FOTO
III	27.5 gr 6 meses	12.0	40.5	6'115,000	16,200	13,466	83	2,754	17	-	-	-	-	1-VIII-77	LAM 3a FOTO
IV	33.6 gr 6 meses	13.0	42.0	6'820,000	6,800	5,576	82	1,020	15	137	1	68	1	6-IX-77	LAM 4a FOTO
V	31.6 gr 6 meses	12.5	41.0	6'280,000	8,100	7,047	87	1,053	13	-	-	-	-	6-IX-77	LAM 5a FOTO
VI	30.3 gr 6 meses	11.5	42.0	7'150,000	14,400	9,504	66	4,896	34	-	-	-	-	6-IX-77	LAM 6a FOTO
VII	41.3 gr 6 meses	12.5	40.0	6'880,000	10,100	6,767	67	3,131	31	101	1	-	-	19-IX-77	LAM 7a FOTO
VIII	27.3 gr 6 meses	7.0	28.0	6'860,000	7,200	4,320	60	2,520	40	-	-	-	-	19-IX-77	LAM 8a FOTO
IX	29.1 gr 7 meses	7.5	25.0	6'740,000	13,000	6,500	90	5,000	40	1,170	9	130	1	20-IX-77	LAM 9a FOTO
X	31.5 gr 7 meses	12.0	30.0	6'215,000	13,600	7,888	58	5,440	-	272	2	-	-	20-IX-77	LAM 10a FOTO
XI	38.0 gr 9 meses	14.5	40.0	6'225,000	8,800	7,216	82	1,584	-	-	-	-	-	27-IX-77	LAM 11a FOTO
VIA INTRAPERITONEAL															
I	25.9 gr 3 meses	13.0	40.0	6'217,000	10,500	5,985	57	3,980	38	630	6	105	1	2-VIII-77	LAM 1a FOTO
II	24.3 gr 3 meses	14.0	39.5	7'580,000	6,000	4,440	74	1,440	24	120	2	-	-	2-VIII-77	LAM 2a FOTO
III	30.0 gr 3 meses	13.0	40.0	6'780,000	5,700	3,021	53	2,280	40	399	7	-	-	9-VIII-77	LAM 3a FOTO
IV	40.0 gr 3 meses	13.0	40.5	6'530,000	6,460	4,392	68	1,618	28	432	7	-	-	9-VIII-77	LAM 4a FOTO

Reacción biológica de los ratones inoculados por vía endovenosa con el ML131276, después de las 48 horas de inoculación.

Los ratones inoculados con la dilución (a) presentaron los siguientes hemogramas promedio: Hemoglobina 10.5 gr/100 ml, Hematocrito 38.3 o/o, Hematíes 8'361,666 ce/ml, Leucocitos 9,866 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 71.6 o/o; Neutrófilos Segmentados 18.6 o/o, Monocitos 7.7 o/o y Eosinófilos 2 o/o.

Los ratones inoculados con la dilución (b) presentaron: Hemaglobina 10.6 gr/100 ml, Hematocrito 39 o/o, Hematíes 7'625,000 ce/ml, Leucocitos 11,166 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 55.6 o/o, Neutrófilos Segmentados 41.3 o/o, Monocitos 3 o/o y Eosinófilos 1 o/o.

Los ratones inoculados con el ML131276 puro presentaron los siguientes promedios: Hemoglobina 11.5 gr/100 ml, Hematocrito 34.0 o/o, Hematíes 7'675,000 ce/ml, Leucocitos 8,800 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 70 o/o, Neutrófilos Segmentados 27.5 Monocitos 2.5 o/o.

El Cuadro 7 muestra los hemogramas correspondientes. En ellos podemos observar una ligera variación por acción de la sangre consecutiva.

CUADRO N° 7
HEMOGRAMAS DE RATONES INOCULADOS A LAS 48 HORAS

RATON Nº	PESO, EDAD SEXO	HEMOGLOBIN g/100ml	HEMATOCRITO %	TOTAL DE GLOB. ROJOS ce/mm ³	TOTAL DE LEUCOCITOS ce/mm ³	LINFOCITOS		NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS		MONOCITOS		EOSINÓFILOS		FECHA DE LOS ANÁLISIS	ARCHIVO LAMINAS Y FOTOS Nº	
						TOTAL ce/mm ³	%	TOTAL ce/mm ³	%	TOTAL ce/mm ³	%	TOTAL ce/mm ³	%			
VIA ENDOVENOSA																
1	26.3 gr 6 meses	7.5	20.0	6'550,000	14,900	11,771	79	1,341	9	1,639	11	149	1	17-VII-77	LAM Foto	19
2	26.0 gr 6 meses	10.0	33.0	7'220,000	9,600	6,720	70	1,536	16	960	10	384	4	17-VII-77	LAM Foto	20
3	27.5 gr 6 meses	10.5	41.0	8'800,000	18,400	10,184	76	2,680	20	402	3	134	1	24-VII-77	LAM Foto	30
4	33.6 gr 6 meses	11.0	41.0	9'068,000	6,600	4,334	65	1,320	20	690	10	66	1	24-VII-77	LAM Foto	40
5	32.5 gr 6 meses	11.0	41.0	8'268,000	5,800	3,233	61	1,696	32	266	5	106	2	7-IX-77	LAM Foto	50
6	31.9 gr 6 meses	10.0	38.0	6'870,000	14,300	5,949	36	6,360	60	286	2	-	-	7-IX-77	LAM Foto	60
7	44.8 6 meses	11.0	36.0	7'940,000	13,900	9,492	68	4,408	32	-	-	-	-	14-IX-77	LAM Foto	70
8	26.8 6 meses	4.5	18.0	4'770,000	6,000	3,300	56	2,700	46	-	-	-	-	14-IX-77	LAM Foto	80
9	27.5 7 meses	6.0	20.0	5'908,000	7,900	6,241	79	1,660	20	79	1	-	-	21-IX-77	LAM Foto	90
10	30.3 7 meses	8.8	28.0	7'218,000	8,000	4,400	55	3,440	43	180	2	-	-	21-IX-77	LAM Foto	100
11	34.6 8 meses	13.5	40.0	6'138,000	9,600	6,180	66	1,182	12	288	3	-	-	28-IX-77	LAM Foto	110
VIA INTRAPERITONEAL																
I	28.0 gr 3 meses	12.5	40.0	6'425,000	10,500	6,720	66	2,835	27	945	9	-	-	3-VIII-77	LAM Foto	10
II	23.0 gr 3 meses	12.5	34.0	7'160,000	6,400	5,120	80	1,080	17	192	3	-	-	3-VIII-77	LAM Foto	20
III	32.0 gr 3 meses	11.5	37.0	7'848,000	9,700	5,092	67	2,128	26	380	5	-	-	10-VIII-77	LAM Foto	30
IV	41.0 gr 3 meses	11.0	38.5	6'380,000	9,400	7,802	83	1,034	11	564	6	-	-	10-VIII-77	LAM Foto	40

Reacción biológica de los ratones inoculados por vía endovenosa con el ML121276 después de las 72 horas.

Los ratones inoculados con la dilución (a) presentaron los siguientes promedios: Hemoglobina 9.6 gr/100 ml, Hematocrito 38.3 o/o, Hematíes 7'070,670 ce/ml, Neutrófilos Segmentados 18 o/o, Monocitos 4 o/o y Eosinófilos 1 o/o.

Los ratones inoculados con la dilución (b) presentaron los siguientes valores: Hemoglobina 9.3 gr/100 ml, Hematocrito 37.7 o/o, Hematíes 7'310,00 ce/ml, Leucocitos 13,040 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 55 o/o, Neutrófilos Segmentados 40 o/o y Monocitos 5 o/o

Los ratones inoculados con el ML131276 puro presentaron los siguientes valores promedio: Hemoglobina 11.5 gr/100 ml, Hematocrito 34.0 o/o, Hematíes 7'675.000 ce/ml. Leucocitos 8,800 ce/ml. Fórmula leucocitaria: 76 o/o, Neutrófilos Segmentados 21 o/o y Monocitos 3 o/o.

El cuadro 8 presenta los hemogramas correspondientes después de 72 horas de inoculación.

CUADRO N° 8
HEMOGRAMAS DE RATONES INOCULADOS A LAS 72 HORAS

RATÓN N°	PESO, EDAD g/mes	HEMOGLOB. g/100ml	HEMATOCRITO %	TOTAL DE GLOB. ROJOS ce/mm ³	TOTAL DE LEUCOCITOS ce/mm ³	LINFOCITOS		NEUTRÓFILOS Segmentados		MONOCITOS		ESQUELETO		FECHA DE LAS ANÁLISIS	LABORIO Y FOTOS N°
						TOTAL ce/mm ³	%	TOTAL ce/mm ³	%	TOTAL ce/mm ³	%	TOTAL ce/mm ³	%		
VIA ENDOVENOSA															
1	28.8 6 meses	5.0	20.0	4'140,000	8,800	15,820	90	1,090	5	972	4	219	7	18-VII-77	LAM Foto 1a
2	29.7 6 meses	8.5	30.0	5'990,000	9,100	7,007	77	1,820	20	91	1	182	2	18-VIII-77	LAM Foto 2a
3	27.7 6 meses	9.8	45.0	7'905,000	14,800	12,284	83	2,072	14	296	2	148	1	28-VII-77	LAM Foto 3a
4	33.4 6 meses	10.5	40.0	7'355,000	7,800	5,804	71	1,580	20	672	2	78	1	28-VII-77	LAM Foto 4a
5	30.4 6 meses	11.0	40.0	7'780,000	13,900	5,839	42	6,394	46	1,668	12	-	-	8-IX-77	LAM Foto 5a
6	31.2 6 meses	7.0	35.0	7'330,000	13,120	5,248	40	7,810	38	282	2	-	-	8-IX-77	LAM Foto 6a
7	36.5 6 meses	10.0	38.0	8'320,000	15,100	10,742	82	2,098	16	282	2	-	-	18-IX-77	LAM Foto 7a
8*	25.2 6 meses	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	LAM Foto 8a
9	26.7 7 meses	5.8	18.0	4'675,000	10,000	8,900	99	3,900	39	280	2	-	-	28-IX-77	LAM Foto 9a
10	29.5 7 meses	7.0	20.0	5'245,000	14,300	10,296	78	8,961	27	143	1	-	-	28-IX-77	LAM Foto 10a
11	34.1 8 meses	13.0	38.0	8'930,000	14,880	11,680	80	2,190	18	734	2	-	-	29-IX-77	LAM Foto 11a
VIA INTRAPERITONEAL															
I	23.7 3 meses	11.0	35.0	7'450,000	9,300	7,906	86	1,023	11	372	4	-	-	4-VII-77	LAM Foto 12a
II	34.0 3 meses	11.0	39.0	7'455,000	8,900	8,254	92	408	6	88	1	88	1	4-VIII-77	LAM Foto 13a
III	34.0 3 meses	9.0	32.0	7'420,000	14,700	13,230	90	738	5	735	5	-	-	11-VII-77	LAM Foto 14a
IV	41.6 3 meses	9.5	35.0	7'370,000	11,800	8,984	74	924	8	2,088	18	-	-	11-VII-77	LAM Foto 15a

* No se realizó el recuento. (Ver Cuadro 5)

Reacción biológica de los ratones inoculados por vía intraperitoneal con el ML131276.

Para este grupo se inoculó el ML131276 puro. Los hemogramas de estos ratones después de 24 horas de inoculación presentaron los siguientes resultados: Hemoglobina 13.2 gr/100 ml, Hematocrito 40.0 o/o, Hematíes 8'276,750 ce/ml, Leucocitos 7,165 ce/ml, Fórmula Leucocitaria: Linfocitos 63 o/o, Neutrófilos Segmentados 31.3 o/o y Monocitos 6 o/o. (Cuadro 6).

Los hemogramas después de 48 horas de inoculación presentaron: Hemoglobina 11.9 gr/100 ml, Hematocrito 37.4 o/o, Hematíes 7'990,000 ce/ml, Leucocitos 8,475 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 73.5 o/o, Neutrófilos Segmentados 20.8 o/o y Monocitos 6 o/o (Cuadro 7).

Los hemogramas de los ratones inoculados después de las 72 horas presentaron un promedio de: Hemoglobina 10.1 gr/100 ml, Hematocrito 33.8 o/o, Hematíes 7'423,750 ce/ml, Leucocitos 10,600 ce/ml. Fórmula leucocitaria: Linfocitos 85.3 o/o, Neutrófilos Segmentados 30.3 o/o y Monocitos 7 o/o. (Cuadro 8).

Las hemografías de los ratones 12, 13, 14 y 15 están representadas en las figs.: 28 - 31.

Promedio de Hemoglobina y células sanguíneas del ratón antes y después de 24 horas de la inoculación con el ML131276 por vía endovenosa e intraperitoneal.

Se han realizado cuadros estadísticos para cada uno de estos factores aplicados a los 15 ratones en experimentación. El promedio de hemoglobina antes de las inoculaciones fue de 13.4 gr/100 ml y 12.8 gr/100 ml después de las 24 horas. El cuadro 9 presenta la hemoglobina por cada ratón para antes y después de las inoculaciones.

CUADRO 9 : HEMOGLOBINA DEL RATON ANTES Y DESPUES DE 24 HORAS DE LA INOCULACION CON EL ML131276

Ratón No.	Hemoglobina g/100 ml	Dilución ML131276	HEMOGLOBINA (g/100)				Comparación (Hb)	
			después de la inoculación				antes	después
			24 Hs	48 Hs	72 Hs	10 días		
VIA INTRAVENOSA								
1 *	8	0.1	7.5	7.5	5.0	6.0	A	A
2	12.5	0.1	13.0	10.0	8.5	13.0	N	N
3	13.5	0.1	12.0	10.5	9.8	11.0	N	N
4	12.0	0.1	13.0	11.0	10.5	12.5	N	N
5	13.0	0.5	12.5	11.0	11.0	--	N	N
6	12.5	0.5	11.5	10.0	7.0	13.0	N	N
7	12.5	0.5	12.5	11.0	10.0	--	N	N
8 *	7.5	0.5	7.0	4.5	--	3.8	A	A
9	12.5	Puro	7.5	6.0	5.5	--	N	A
10	14.0	Puro	12.0	9.5	7.0	7.0	N	N
11	14.5	Puro	14.5	13.5	13.0	--	N	N
VIA INTRAPERITONEAL								
I	14.0	Puro	13.0	12.5	11.0	12.0	N	N
II	14.0	Puro	14.0	12.5	11.0	--	N	N
III	13.0	Puro	13.0	11.5	9.0	12.0	N	N
IV	14.5	Puro	13.0	11.0	9.5	--	N	N

* Ratones exceptuados del promedio general

N = Normal

A = Anemia

Los ratones 1, 8 y 9 tuvieron un promedio bajo de hemoglobina 7.75 gr/100 ml antes de la inoculación y un promedio de 7.3 gr/100 ml a las 24 horas, después de la inoculación.

La cantidad promedio de los glóbulos rojos antes de las inoculaciones fue de 7'950,250 ce/ml y de 8'466,188 ce/ml después de las 24 horas de inoculados, observándose un aumento del promedio total de 515,938 ce/ml. Estas cantidades promedias muestran una normalidad en comparación con el Cuadro 2 (Patrón).

Los ratones 1, 8 y 9 presentaron un promedio de 6'445,000 ce/ml antes de la inoculación y 6'828,300 ce/ml a las 24 horas después de la inoculación. El aumento fue de 383,000 ce/ml.

La relación de la cantidad de los glóbulos rojos presentados en el Cuadro 2 con la relación de las cantidades encontradas antes y después de las inoculaciones vistos en el Cuadro 10 están representados para cada uno de los 15 ratones en la Fig. 32.

La cantidad promedio de leucocitos antes de la inoculación fue de 13,836 ce/ml y de 9,621 ce/ml después de las 24 horas de inoculadas.

Los ratones 1, 8 y 9 tuvieron un promedio de 22,500 ce/ml antes de la inoculación y de 11,166 ce/ml después de las 24 horas. Esta diferencia muestra una normalidad leucocitaria después de la inoculación. La graficación de la cantidad leucocitaria presentado en el Cuadro 2 (Patrón) con la relación a las cantidades encontradas antes y después de las inoculaciones comprendidas en el Cuadro 11 están representadas en la Fig. 33.

La cantidad promedio de los linfocitos antes de la inoculación fue de 9,496 ce/ml y de 6,820 ce/ml a las 24 horas después de la inoculación. Los ratones 1, 8 y 9 presentaron un promedio de 13,536 ce/ml antes de la inoculación y de 7,197 ce/ml a las 24 horas después de la inoculación.

La relación entre el promedio de los linfocitos encontrados antes y después de las inoculaciones en los 15 ratones de experimentación están presentados en el Cuadro 12 y la relación de estos promedios con el promedio patrón (Cuadro 2) están representados en la Fig. 34.

El promedio de los neutrófilos segmentados antes de la inoculación fue de 3,743 ce/ml y de 2,689 ce/ml después de las 24 horas de la inoculación. Los ratones 1, 8 y 9 presentaron un promedio de 8,190 ce/ml antes de la inoculación y de 3,358 ce/ml después a las 24 horas. Estos resultados muestran que la ligera neutrofilia es normalizada. El Cuadro 13 presenta los promedios antes y después de las inoculaciones y la Fig. 35 muestra la relación de estos promedios con el patrón.

**CUADRO 10: HEMATIES DEL RATON ANTES Y DESPUES DE 24 HORAS DE INOCULACION
CON EL ML131276**

Ratón No	Hematías ce/ml Antes Inoc.	Dilución ML131276	HEMATIES (ce/ml) 10 ⁶				Comparación hemática	
			Después de la inoculación				Antes	Después
			24 Hs	48 Hs	72 Hs	10 días		
VIA ENDOVENOSA								
1 *	6'135,000	0.1	6'885	6'530	4'140	5'255	A	- N
2	8'820,000	0.1	8'580	7'220	5'990	10'695	N	N
3	7'905,000	0.1	9'115	8'800	7'905	8'135	N	N
4	6'800,000	0.1	8'820	9'065	7'335	10'445	N	N
5	7'750,000	0.5	9'260	8'265	7'780	—	N	N
6	6'755,000	0.5	7'150	6'670	7'330	9'800	N	N
7	7'560,000	0.5	8'880	7'940	8'320	—	N	N
8 *	4'480,000	0.5	6'860	4'770	—	3'965	A	- N
9 *	8'535,000	puro	6'740	5'505	4'675	—	N	- N
10	8'260,000	puro	8'215	7'215	5'245	6'920	N	N
11	8'040,000	puro	9'225	8'135	8'930	—	N	N
VIA INTRAPERITONEAL								
I	8'010,000	puro	8'217	8'425	7'450	9'310	N	N
II	8'915,000	puro	7'580	7'160	7'455	—	N	N
III	7'596,000	puro	8'780	7'845	7'420	8'790	N	- N
IV	7'280,000	puro	8'530	8'530	7'370	—	N	N

* Ratones exceptuados en los promedios generales

N = normal

-N = ligera anemia

A = Anemia

CUADRO 11: LEUCOCITOS DEL RATON ANTES Y DESPUES DE 24 HORAS DE INOCULACION CON EL ML131276

Ratón No	Leucocitos ce/ml Antes Inoc.	Dilución ML131276	LEUCOCITOS (ce/ml)				Comparación leucocitaria	
			Después de la inoculación				Antes	Después
			24 Hs.	48 Hs	72 Hs	10 días		
VIA ENDOVENOSA								
1 *	19,800	0.1	13,300	14,900	21,800	10,300	A	+ N
2	17,000	0.1	9,900	9,600	9,100	9,300	A	N
3	16,100	0.1	16,200	13,400	14,800	9,100	+ N	+ N
4	16,300	0.1	6,800	6,600	7,900	6,000	+ N	- N
5	13,400	0.5	8,100	5,300	13,900	-.-	A	N
6	15,000	0.5	14,400	14,300	13,120	9,800	+ N	+ N
7	10,600	0.5	10,100	13,900	13,100	-.-	N	N
8 *	25,200	0.5	7,200	6,000	-.-	12,100	A	N
9 *	8,800	puro	13,000	7,900	10,000	-.-	N	+ N
10	15,000	puro	13,600	8,000	14,300	7,300	+ N	+ N
11	10,900	puro	8,800	9,600	14,600	-.-	N	+ N
VIA INTRAPERITONEAL								
I	11,800	puro	10,500	10,500	9,300	8,600	N	N
II	10,700	puro	6,000	6,400	6,800	-.-	N	- N
III	17,500	puro	5,700	7,600	14,700	6,000	A	- N
IV	11,700	puro	6,460	9,400	11,600	-.-	N	- N

* Ratones exceptuados en los promedios generales

N = Normal

-N = ligera leucopenia

+N = ligera leucocitosis

A = leucocitosis

CUADRO 12; RECUENTO LINFOCITARIO DEL RATON ANTES Y DESPUES DE 24 HORAS DE INOCULACION CON EL ML131276

Ratón No	Linfocitos ce/ml Antes Inoc.	Dilución ML131276	LINFOCITOS (ce/ml) *				Comparación linfocitaria	
			Después de la inoculación				Antes	Después
			24 Hs	48 Hs	72 Hs	10 días		
VIA ENDOVENOSA								
1 *	13,464	0.1	10,773	11,771	19,620	8,341	+ A	N
2	11,900	0.1	5,742	6,720	7,007	5,301	+ N	- N
3	10,304	0.1	13,446	10,184	12,284	6,097	N	+ N
4	13,692	0.1	5,576	4,554	5,609	4,620	+ N	- N
5	7,356	0.5	7,047	3,243	5,838	—	N	N
6	7,350	0.5	9,504	5,949	5,248	8,526	N	N
7	8,056	0.5	6,767	9,452	10,742	—	N	- N
8 *	13,608	0.5	4,320	3,300	—	9,075	+ A	- N
9 *	4,400	puro	6,500	6,241	5,900	—	- N	- N
10	10,650	puro	7,888	4,400	10,296	4,745	N	N
11	8,504	puro	7,216	8,160	11,680	—	N	N
VIA INTRAPERITONEAL								
I	7,434	puro	5,985	6,720	7,905	4,472	N	N
II	7,276	puro	4,440	5,120	6,256	—	N	- N
III	12,950	puro	3,021	5,092	13,230	5,580	+ A	- A
IV	8,075	puro	7,216	7,802	8,984	—	N	N

* Ratones exceptuados en los promedios generales

N = Normal

-N = Ligera linfopenia

+N = ligera linfocitosis

-A = linfopenia

+A = linfocitosis

CUADRO 13: NEUTROFILOS SEGMENTADOS DEL RATON ANTES Y DESPUES DE 24 HORAS DE INOCULACION CON EL ML131276

Ratón No	Neutrófilos ce/ml Antes Inoc.	Dilución ML131276	NEUTROFILOS (ce/ml)					Comparación neutrofílica	
			Después de la Inoculación					Antes	Después
			24 Hs	48 Hs	72 Hs	10 días	10 días		
			VIA INDOVENOSA						
1 *	5,544	0.1	1,995	1,341	1,091	1,751	+ A	+ N	
2	4,760	0.1	3,069	1,536	1,820	3,348	+ A	+ A	
3	5,508	0.1	2,754	2,680	2,672	2,639	+ A	+ N	
4	2,445	0.1	1,020	1,320	1,580	1,260	+ N	+ N	
5	4,958	0.5	1,053	1,696	6,394	--	+ A	+ N	
6	5,850	0.5	4,896	8,580	7,610	1,078	+ A	+ A	
7	2,226	0.5	3,131	4,448	2,096	--	+ A	+ A	
8 *	10,836	0.5	2,880	2,700	--	3,025	+ A	+ A	
9 *	3,960	puro	5,200	1,580	3,900	--	+ A	+ A	
10	3,900	puro	5,440	3,440	3,861	1,752	+ A	+ A	
11	1,962	puro	1,584	1,152	2,190	--	+ N	+ N	
			VIA INTRAPERITONEAL						
I	3,304	puro	3,980	2,835	1,023	4,400	+ A	+ A	
II	1,819	puro	1,440	1,088	408	--	+ N	+ A	
III	4,025	puro	2,280	2,128	735	360	+ A	+ A	
IV	3,159	puro	1,615	1,034	928	--	+ A	+ A	

* Ratonés exceptuados en los promedios generales

+ A = Neutrofilia

+ N = ligera Neutrofilia

Después de estos ensayos se mantuvieron a los ratones en observación por 25 días.

Estos hemogramas realizados antes y después de las inoculaciones con el agua de la laguna (ML131276) nos muestran: (1) la acción estimulante sobre las células sanguíneas: hematíes y leucocitos, de igual forma ocurre con la hemoglobina, (2) no produce en los ratones ninguna manifestación en el lugar de la inoculación y (3) todos los ratones incluidos el 1, 8 y 9 permanecieron vivos hasta el final de los experimentos.

ACCION BACTERIOSTATICA Y BACTERICIDA DE LA LAGUNA

En las pruebas de susceptibilidad por el método del disco se han utilizado discos de papel Watman estériles, embebidos en el ML261277 puro. Un cultivo de *S. typhi* de 48 horas fue sembrado en medio Mueller-Hinton en dos placas Petri. Se formaron zonas de inhibición a las 24 horas de incubación (34°C) como se muestra en la Fig. 36. El Cuadro 14 presenta la lectura del tamaño de los halos formados en cada disco.

CUADRO 14: METODO DEL DISCO CON EL ML261277 ANTE UN CULTIVO

S. typhi TY₂

Disco No	Pruebas de discos Siembra: 2-II-78	3-II-78 24 Hs	4-II-78 48 Hs	5-II-78 72 Hs	6-II-78 96 Hs	8-II-78 144 Hs
		mm	mm	mm	mm	mm
1	Hetacillin "H"	S-17	S-17	S-17	S-17	S-17
2	Watman 51 (testigo)	—	—	—	—	—
3	ML261277 "Sta. Cruz"	S-16	S-16	S-16	S-16	S-16
4	ML261277 "Sta Cruz"	S-15	S-15	S-15	S-15	S-15
5	ML261277 "Mellicera"	I-9	I-9	I-9	I-9	I-9
6	ML261277 "Sta. Cruz"	S-14	S-14	S-14	S-14	S-14

Otra prueba in vitro fue utilizando el método de dilución, utilizándose el ML261277 y el mismo cultivo anterior de *S. typhi* Ty₂. Se sembraron en 1 ml del medio líquido de la laguna, (utilizando 4 tubos de ensayos), cantidades de 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml, y 0.4 ml, del cultivo de *S. typhi* y para el testigo se utilizó caldo cerebro-corazón estéril, sembrándose 0.1 ml del cultivo. A las 24 horas de desarrollo se obtuvo una turbidez de 1,200'000,000 ce/ml (McFarland) en el tubo testigo mientras que los otros se mantuvieron claros. El Cuadro 15 presenta las observaciones seguidas hasta el 6to. día.

CUADRO 15: METODO DE DILUCION EMPLEANDO EL ML261277 Y EL CULTIVO DE *S. typhi* TY₂

Tubo No	Siembra del Cultivo* 1º - II - 1978	2-II-78 24 Hs	3-II-78 48 Hs	4-II-78 72 Hs	5-II-78 96 Hs	7-II-78 148 Hs
1	Caldo cerebro-corazón	+				
2	ML261277 - 0.1 ml*	—	—	—	—	—
3	ML261277 - 0.2 ml*	—	—	—	—	—
4	ML261277 - 0.3 ml*	—	—	—	—	—
5	ML261277 - 0.4 ml*	—	—	—	—	—

+ = Desarrollo

— = No hay desarrollo

De estos tubos se sembraron los cultivos de 24 horas en placas Petri con medio Agar Bacto Triptosa, observándose un desarrollo claro de *S. typhi* en la zona testigo, mientras que no hubo desarrollo en las otras zonas. (Fig. 37).

Estos ensayos indicaron que el agua de la laguna (ML261277) presentó una acción bactericida y bacteriostática.

PRUEBAS DE PROTECCION EN EL RATON

El ML261277 sembrado con un cultivo de 24 horas de *S. typhi* TY₂ en cantidades de 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml y 0.4 ml fueron inoculados en ratones por vía intraperitoneal. Los testigos se inocularon con 0.1 ml del mismo cultivo. Sólo los ratones inoculados con 0.1 ml sobrevivieron después de la inoculación. Las observaciones se siguieron durante 46 días, sin mostrar algún síntoma característico a la enfermedad, más bien se notó un aumento de peso, en forma normal. El Cuadro 16 presenta los resultados de estas inoculaciones.

**CUADRO 16: PRUEBA DE PROTECCION EN RATONES INOCULADOS
CON EL ML261277.**

Ratón No.	Cantidad del cultivo/ml	11-I-78 24 Hs	12-I-78 48 Hs	13-I-78 72 Hs	25-I-78 46 días
R ₀ (T)	0.1	M			
R ₁	0.1	O	0	0	0
R ₂	0.2	M			
R ₃	0.3	M			
R ₄	0.4	M			

O = sin síntomas; M = muerto

Basados en los resultados del método anterior, se efectuó otro ensayo con el cultivo de *S. typhi* Ty₂ diluido en 1/10, 1/100 y 1/1000, los cuales fueron inoculados en ratones machos de 18 gr por vía intraperitoneal con 0.3 ml de cada dilución. Casi todos los ratones sobrevivieron a las inoculaciones excepto los testigos que murieron a las 16 horas. Las observaciones fueron seguidas durante 15 días. El Cuadro 17 presenta los resultados de las observaciones. Paralelamente a las inoculaciones, se sembró 0.1 ml del cultivo diluido 1/100 en bacto agar triptosa (placa Petri) a 34°C. A las 24 horas de la siembra no presentó desarrollo, siendo observada hasta las 72 horas, sin desarrollo. En cambio el cultivo testigo presentó un gran desarrollo a las 24 horas.

**CUADRO 17: PRUEBA DE PROTECCION DE RATONES INOCULADOS
CON EL ML030679 Y EL CULTIVO DE *S. typhi* TY₂**

Ratón No.	Dilución del Cultivo/ml 26-VI-79	27-VI-79 24 Hs	28-VI-79 48 Hs	29-VI-79 72 Hs	12-VII-79 15 días
R ₀ (T)	Cultivo puro	M			
R ₁	1/10	O	O	O	O
R ₂	1/100	O	O	O	O
R ₃	1/1000	O	O	O	O

M muerto O sin síntomas

Los resultados de las pruebas de protección indicaron que las inoculaciones por vía intraperitoneal en ratones con las diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000 no fueron patógenas, mostrando de esta manera su acción bactericida *in vivo*.

Ensayos más extensivos referentes a la prueba de protección son todavía necesarios sobre la actividad *in vivo* del medio líquido de la laguna. Su actividad antibacteriana en ratones infectados con *Salmonella typhi* (TY₂), *Bordetella pertussis* (18323) y *Staphylococcus aureus* (TCC25923-Difco) será realizada en el próximo trabajo por la autora.

CONCLUSIONES

- 1) Pruebas de susceptibilidad realizadas *in vitro* por el método del disco utilizando el agua de la laguna (ML131276-ML030679) y cultivos de la cepa de *Salmonella typhi* Ty₂ han demostrado que la laguna minero-medicinal "Santa Cruz de las Sslinas" posee acción bacteriostática y bactericida.

- 2) Inoculaciones por vía endovenosa e intraperitoneal del ML131276 realizadas en un grupo de 15 ratones para las pruebas de toxicidad mostraron que dicha agua *no es tóxica* para el organismo animal, más bien produce una acción estimulante sobre las células sanguíneas: hematíes y leucocitos, como asimismo, sobre la hemoglobina.
- 3) Pruebas de susceptibilidad in vivo por el método de protección en el ratón con el ML261277 y ML030679 utilizando cultivos de *Salmonella typhi* Ty2 mostraron que dicha agua ejercía una acción bactericida.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud y agradecimiento al Doctor Sr. Felipe Llanos Diez, por su amable asesoramiento en la elaboración del plan y ejecución de este estudio. A los Doctores: Sr. René Solís Plaza, Sr. Leopoldo Ugaz M., Sr. Oscar Grados, Sr. Carlos Carrillo, Sr. Juan Arbaiza, Sr. Carlos de Salas, Srta. Nora Bravo, Sr. Héctor Ramírez, por las facilidades en cuanto a equipos y material de Laboratorio. Al Dr. Sr. Ramón Ferreyra, por la lectura crítica del estudio. Al Sr. Ing. Químico Rómulo Zapata Valle y al Sr. y Sra. Roger y Elsa Marwell por la colaboración en este estudio. Expreso igualmente mi agradecimiento al personal técnico y bibliotecario del Instituto de Salud, de los Institutos Nacionales de Salud, Lima, por la amable colaboración durante la realización de este estudio: Sra. Eva Romero M., Sra. Iris Obregón, Sra. Silvia de Portugal, Sra. Olga Solari de Perochena, Sra. Carmen Ferañández de García, Sra. Adriana Valverde de Huapaya, Sra. Ricardina Fuentes de Montes, Sr. Arturo Lagos, Sr. Vidal Meza, Sr. Eugenio Sifuentes, Sr. Ramulfo Córdova, Sr. Silverio Silva, Sr. Segundo Gonzales, Sr. Teófilo Albornoz, Sr. Abel Cunibo, Sr. Máximo Ortega. Al Sr. Víctor Meza, mi especial agradecimiento, por su valiosa colaboración en la etapa de los análisis hematológicos. Al Sr. Víctor Hugo Chacón R., por su valiosa colaboración en los dibujos gráficos.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

ARCHER, R.K.

1965 Haematological techniques for use on animals. Oxford. Blackwell Scientific publications.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION Inc.

1954 Care of Laboratory animals.

ANIMAL WELFARE INSTITUTE

1958 Basic care of experimental animals.

BAUER, A. W., M.M. KIRBY, J.C. SHERRIS and M. TURCK

1966 Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. The American Journal of Clinical Pathology vol. 45 . (4).

BALDASSARRA , A.

1965 Cria y manejo de los animales de Laboratorio. Ratones: *Mus musculus domesticus*. OPS/OMS—Buenos Aires.

CHACON, Gloria

1980 *Chlorella peruviana* sp. nov. y su ambiente altamente salino. (En prensa).

1980 Acción bactericida in vitro del agua de la laguna minero-medicinal "Santa Cruz de las Salinas", Chilca, Lima-Perú, durante el período Junio-Diciembre 1976. (En prensa).

CRIMM, Paul, D. and SHORT, Darwin

1934 Age variations in the polymorphonuclear leucocyte of the rat. Amer Journal of Physiol. 108: 324 - 330.

DIFCO

1973 El antibiograma. Sus técnicas y el sistema dispens-o-Disc. Informe Técnico 1.

EMERSON, G.A. and TAFT, H. Charles.

1945 Pharmacologically active agents from the sea. Texas reports on Biology and Medicine. Vol 3.

ENZMANN, E.V.

1934 The changes in hemoglobin concentration of blood of growing rats. Amer. Journal of Physiology. Vol. CVIII: 373-376.

ESCOMEL, Edmundo

1935 Algunos balnearios medicinales del Perú.

GODWIN, K.O.; FRASER, F.J. and R.N. IBBOTSON

1964 Haematological observations on healthy (SPF) rats. British Journal of Experimental Pathology. Vol. 45: 514-524.

HARDY, Joan

1967 Pathology of Laboratory Rats. and Mice. Chapter 16: Haematology of Rats and Mice. Edited by Ernest Cotchin and Francis J.C. Rol.

HARRIS, Charles and BURKE, William

1957 The changing cellular distribution in bone marrow of the normal albino rat between one and fifty weeks of age. The American Journal of Pathology. Vol. 33 (2) : 931 - 943.

KOLMER, John and BOERNER, Fred

1945 Approved Laboratory technic. Fourth Edition.

KOLMER, John

1947 Penicillin therapy including streptomycin, tyrothycin and other antibiotic therapy. 2nd. Edition pág. 59. New York.

LEE, R. and DICE, A.B.

1947 Deer Mice. Care and Management of Laboratory Animals. Chapter 11. Pág. 171. The Williams & Wilking Company.

LOWELL, A. Rants and KIRBY W. M.M.

1944 Action of penicillin on *Staphylococcus* in vitro. Journal of Immunology Vol. XLVIII.

MORSE, Stephen I.

1965 Studies on the lymphocytosis induced in mice by *Bordetella pertussis*. The Journal of Experimental Medicine Vol. 121: 49-68.

MAIN, ROLIAND J.

1939 The care of a small rat colony. St. Louis. The C.V. Mosby Company.

OMS-OPS

1968 Animales de Laboratorio. Publicación científica No. 158. Febrero.

ORTEN, James M. and SMITH, Arthur

1954 The proportion of reticulocytes in the blood of albino Rats. American Journal of Physiology vol. CVIII.

PRAZAK, J.L.

1949 Crenología Peruana, Ciclo de Conferencia sobre el conjunto de Hidroclimatología médica pronunciada en la Facultad de Medicina de la U.N.M. de S.M.

SIMONDS, J.P.

1925 The blood of normal mice, Anat. Rec. 30: 99.

SMITH, Alvin W.

- 1974 El ratón. Temas seleccionados sobre medicina de animales de Laboratorio. Serie de Monografías científicas y técnicas No. 3. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. O.P.S.

SOLIS, René y RUSSAC Haydeé

- 1972 Análisis bacteriológico del agua y sedimento de la laguna minero-medicinal "Sta. Cruz de las Salinas", Chilca, Lima (Comunicación personal).

TURCK, M.; LENDEMEYER, R.T. and PETERSDORF, R.G.

- 1963 Comparison of single disc and tube dilution techniques in determining antibiotic sensitivities of Gram negative pathogens. *Ann. Ins. Med.* **58** (1): 58-65

UFAW

- 1947 The UFAW handbook on the care and management of Laboratory animals. Edited by Alastair N. Worden. The Williams & Wilking Company.

VERALDI, Gabriel

- 1977 Guérir par l'eau. Les eaux minérales, les cures en France et a l'étranger, la thalasso-therapie, les bains, Guides Pratiques. Sechers.

WAKSMAN, Selmon A.

- 1945 Microbial antagonisms and antibiotic substances. pag. 214-215. New York the Commonwealth Fund.

WADSWORTH, Augustus.

- 1943 Métodos estandar de la División de Laboratorios e Investigación del Departamento de Sanidad del Estado de Nueva York. Editorial Labor S.A. Argentina.

ZAPATA-VALLE, Romulo

- 1971 Análisis químico de la laguna minero-medicinal "Sta. Cruz de las Salinas", Lima-Perú (Comunicación personal)
- 1971 Análisis químico del sedimento superficial de la laguna minero-medicinal "Sta. Cruz de las Salinas", Chilca. (Comunicación personal).
- 1978 Análisis químico del ML261277 de la laguna minero-medicinal "Sta. Cruz de las Salinas", Chilca, Lima. (Comunicación personal)

ILUSTRACIONES

- Fig. 1 : La laguna minero-medicinal "Sta. Cruz de las Salinas", Lima-Perú.
- Fig. 2 : Posición limnológica de las estaciones indicando los lugares de muestreo en la laguna.
- Fig. 3 : Representación de los datos hematológicos obtenidos de ratones de 6 a 65 semanas (Joan Hardy, 1969).
- Fig. 4 : Representación de los hemogramas de ratones de 7 a 24 semanas
- Fig. 5 : Microfotografía de los glóbulos rojos (hematíes) de ratones de 20 semanas (1000X).
- Fig. 6 : Microfotografía de linfocitos pequeños de ratones de 24 semanas (1000X).
- Fig. 7 : microfotografía de un linfocito grande en ratones de 24 semanas (1000X).
- Fig. 8 : Microfotografía de un linfocito grande y un monocito en ratones de 24 semanas (1000X).
- Fig. 9 : Microfotografía de un monocito de ratones de 22 semanas (1000X).
- Fig. 10 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo III de ratones de 22 semanas (1000X).
- Fig. 11 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo III y un linfocito pequeño de ratones de 16 semanas (1000X).
- Fig. 12 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo IV de ratones de 24 semanas (1000X).

- Fig. 13 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo IV en ratones de 20 semanas (000X).
- Fig. 14 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo V y un linfocito grande de ratones de 20 semanas (1000X).
- Fig. 15 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo V de un ratón de 22 semanas (1000X).
- Fig. 16 : Microfotografía de un polimorfonuclear del grupo V de un ratón de 22 semanas (1000X).
- Fig. 17 : Gráfica de los hemogramas del ratón 1, antes de la inoculación con el ML131276, como también a las 24 Hs, 48 Hs, 72 Hs, y a los 10 días después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 18 : Gráfica de los hemogramas del ratón 2, antes de la inoculación con el ML131276, como también a las 24 Hr, 48 Hs, 72 Hs y a los 46 días después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 19 : Gráfica de los hemogramas del ratón 3, antes de la inoculación con el ML131276, como también a las 24, 48 y 72 ho.as, y a los 6 días después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 20 : Gráfica de los hemogramas del ratón 4, antes de la inoculación con el ML131276, como también a las 24, 48 y 72 horas, y a los 36 días después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 21 : Gráfica de los hemogramas del ratón 5, antes de la inoculación con el ML131276, como también a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 22 : Gráfica de los hemogramas del ratón 6, antes de la inoculación con el ML131276, como también, a las 24, 48 y 72 Hs y a los 37 días después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 23 : Gráfica de los hemogramas del ratón 7, antes de la inoculación con el ML131276, como también a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación por vía endovenosa.
- Fig. 24 : Gráfica de los hemogramas del ratón 8.
- Fig. 25 : Gráfica de los hemogramas del ratón 9.
- Fig. 26 : Gráfica de los hemogramas del ratón 10.
- Fig. 27 : Gráfica de los hemogramas del ratón 11.
- Fig. 28 : Gráfica de los hemogramas del ratón I: inoculado por vía intraperitoneal.
- Fig. 29 : Gráfica de los hemogramas del ratón II: inoculado por vía intraperitoneal.
- Fig. 30 : Gráfica de los hemogramas del ratón III: inoculado por vía intraperitoneal.
- Fig. 31 : Gráfica de los hemogramas del ratón IV inoculado por vía intraperitoneal.
- Fig. 32 : Diagrama del número de glóbulos rojos de ratones patrones con ratones en experimentación con el ML131276 antes y después de 24 horas de inoculación.
- Fig. 33 : Diagrama mostrando el número de leucocitos de ratones patrones con ratones en experimentación con el ML131276 antes y después de 24 horas de inoculación.
- Fig. 34 : Diagrama del número de linfocitos de ratones patrones con ratones en experimentación con el ML131276, antes y después de 24 horas de inoculación.
- Fig. 35 : Diagrama del número de neutrófilos segmentados de ratones patrones con ratones en experimentación con el ML131276 antes y después de 24 horas de inoculación.
- Fig. 36 : Fotografía mostrando la acción bactericida del agua de la laguna minero-medicinal con un cultivo de la cepa de *Salmonella typhi* Ty2. Tomada en el 6to día de observación.
- Fig. 37 : Fotografía mostrando la acción bactericida de la laguna minero-medicinal Santa Cruz de Las Salinas, Chilca, sobre un cultivo de *S. typhi* Ty2.



Fig. NO. 1

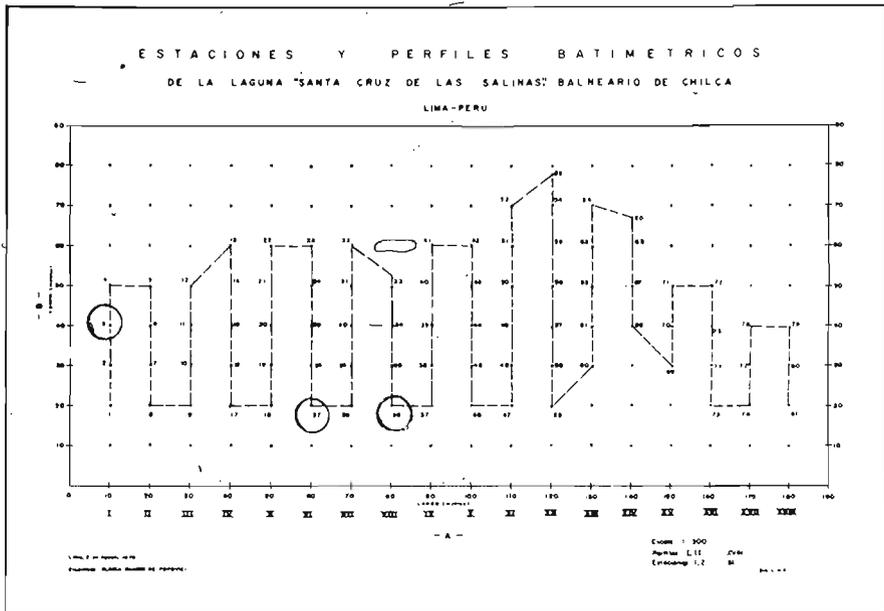


Fig. NO. 2

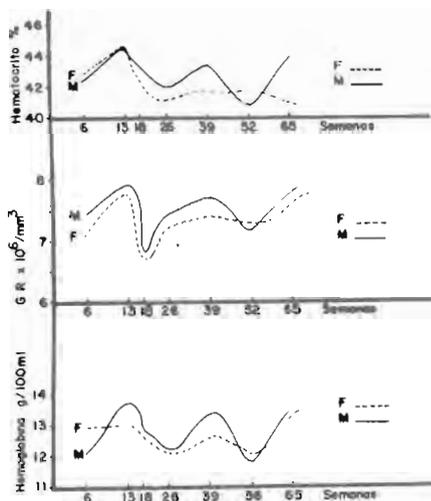
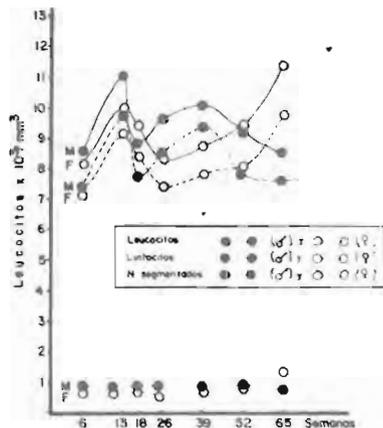


Fig A. Variación del hematocrito, glóbulos rojos y hemoglobina en ratones de 6 a 65 semanas Cepa C57BL, Laboratorio de Investigación Unilever, Sharnbrook Bedford, Divi-



Recuento de leucocitos en ratones de 6 a 65 semanas

Fig. Nº 3

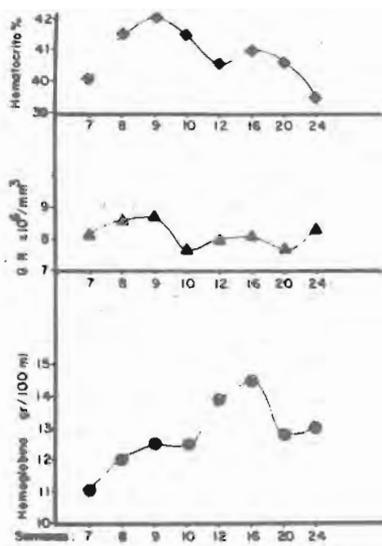
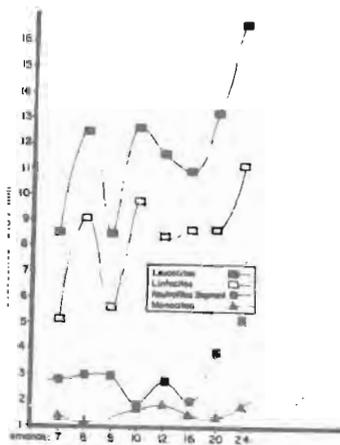


Fig. B Variación del hematocrito, glóbulos rojos y hemoglobina en ratones machos de 7 a 24 Semanas (Bioterio del Instituto de Salud, Ministerio de Salud.)



Variación de la serie blanca en ratones machos de 7 a 24 semanas

Fig. Nº 4

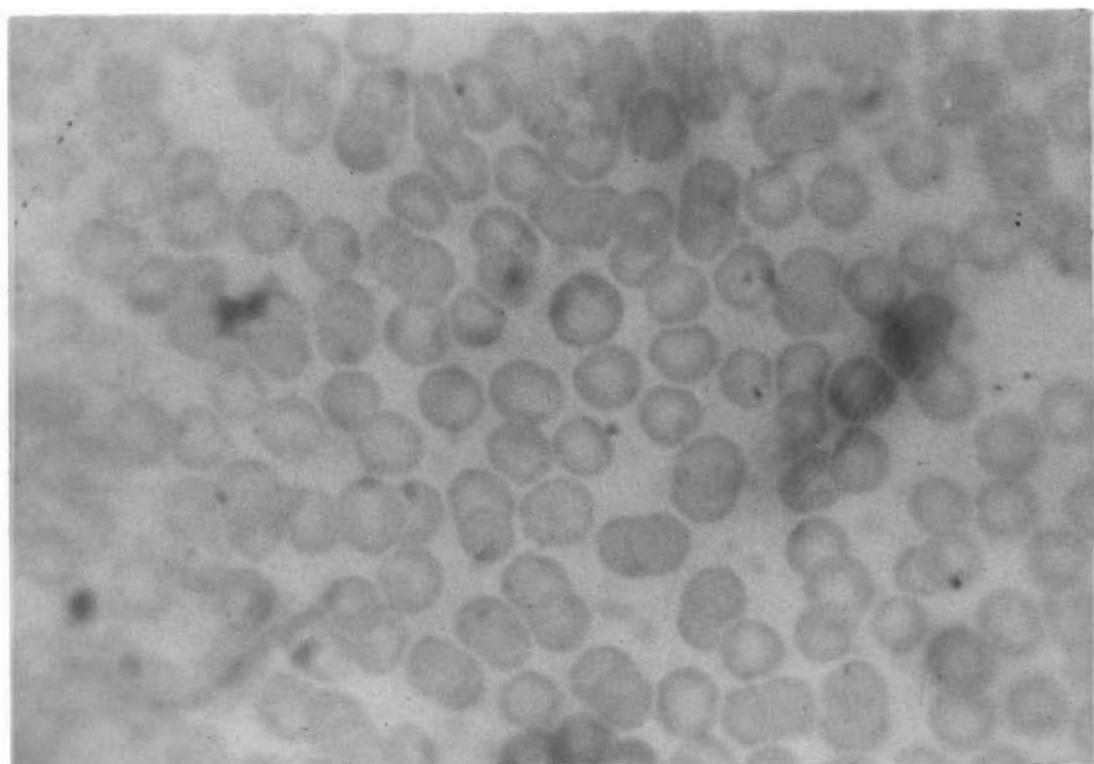


Fig. No 5

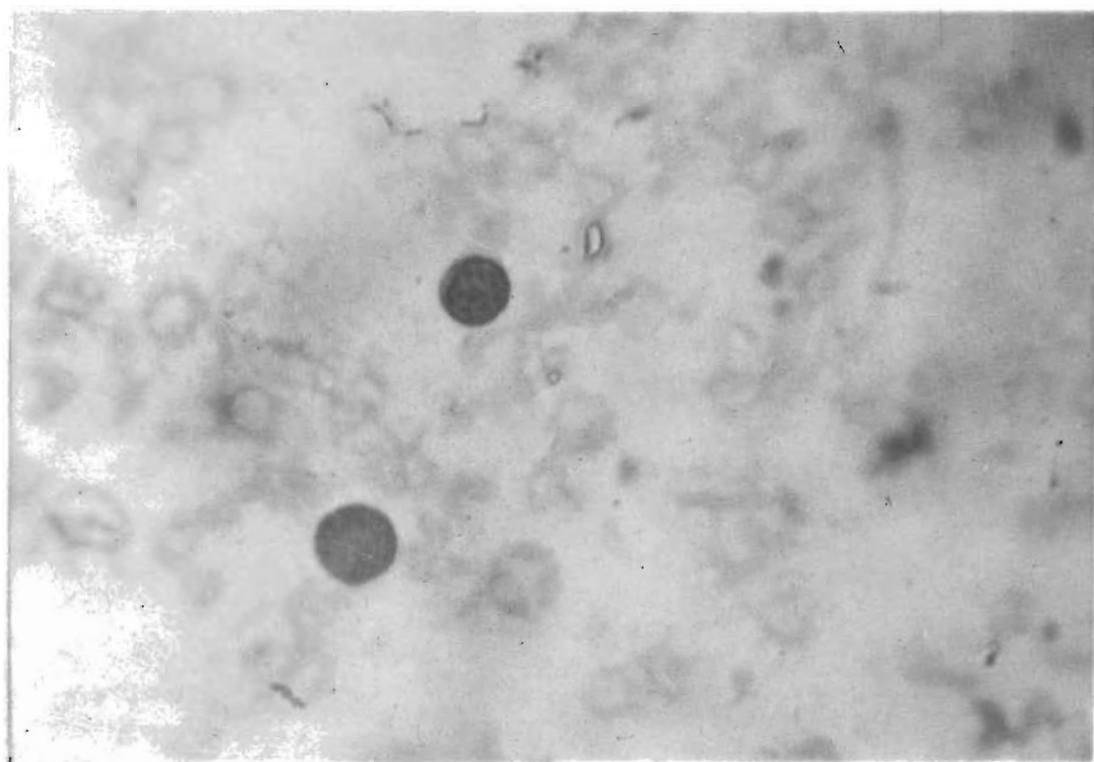


Fig. No 6

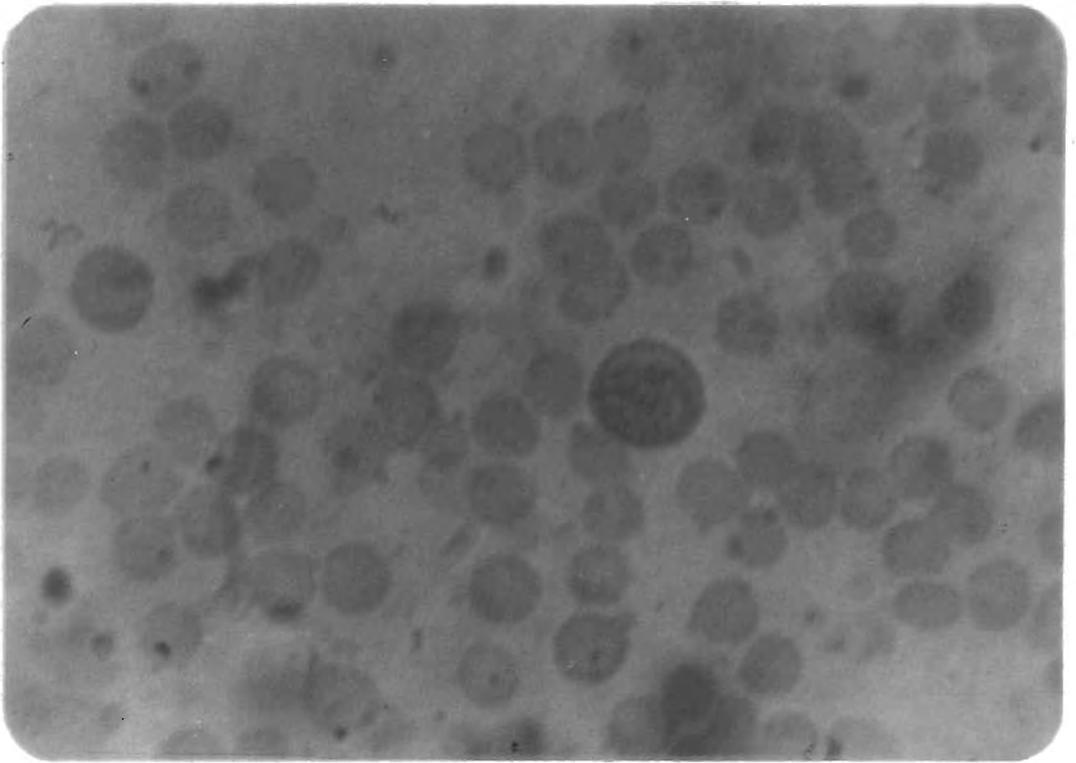


Fig. No 7

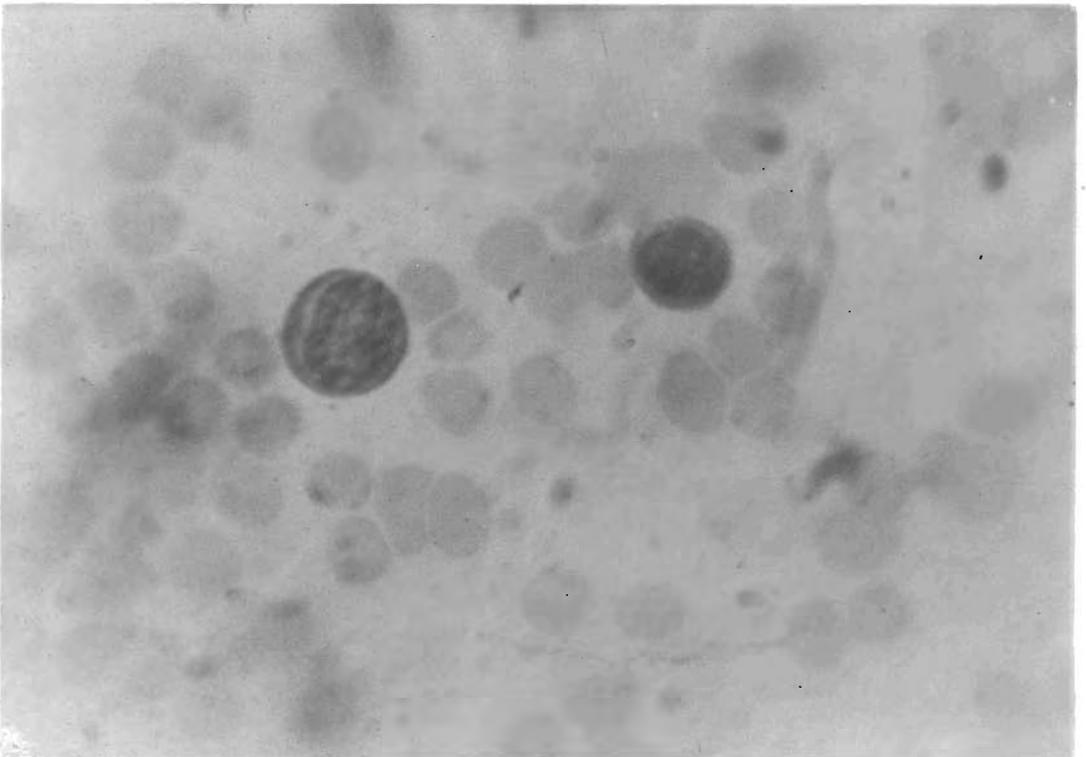


Fig. No 8

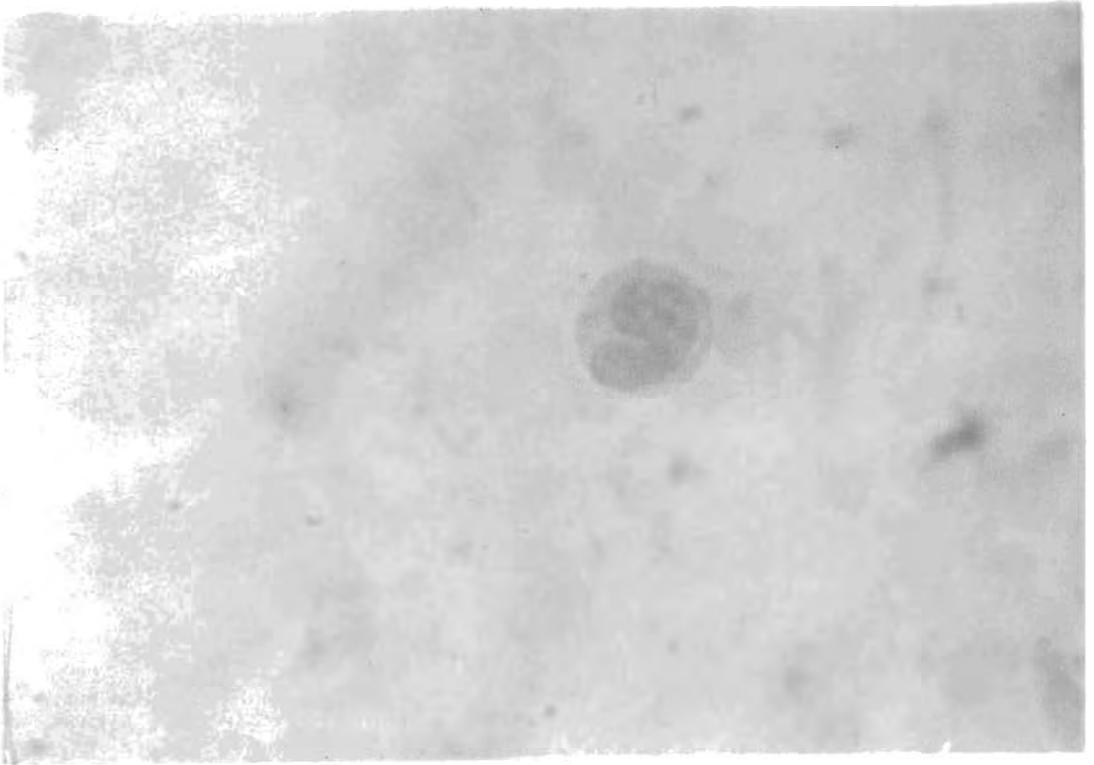


FIG. NO 9

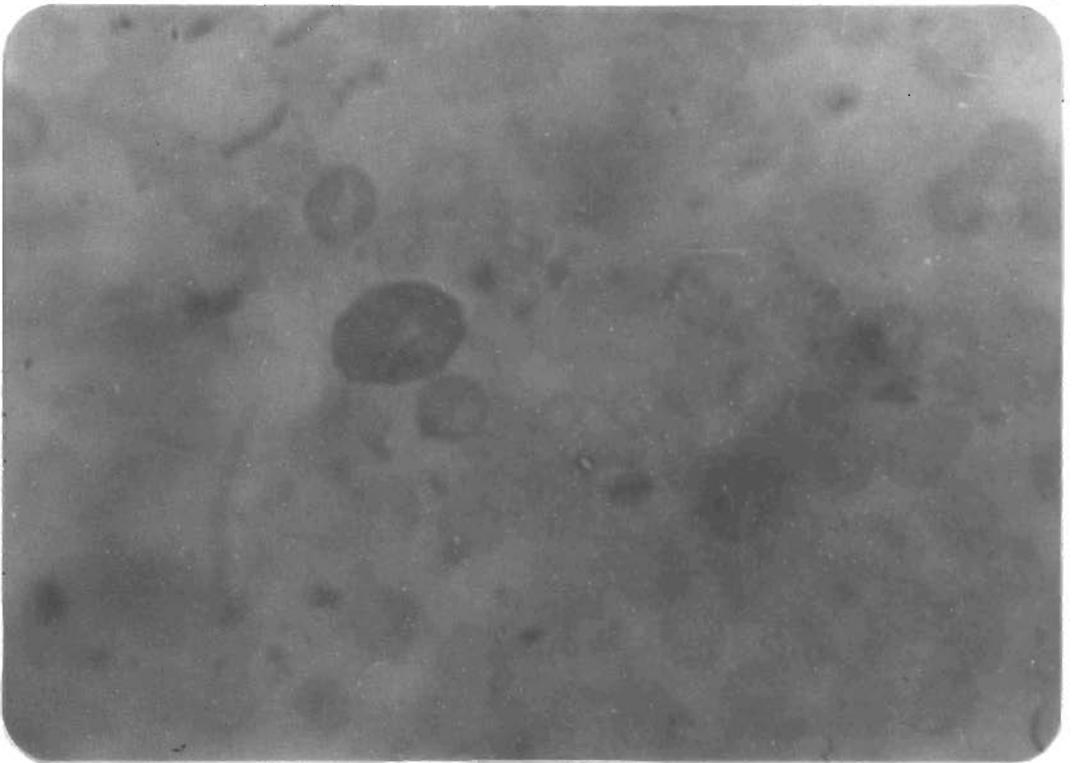


FIG.

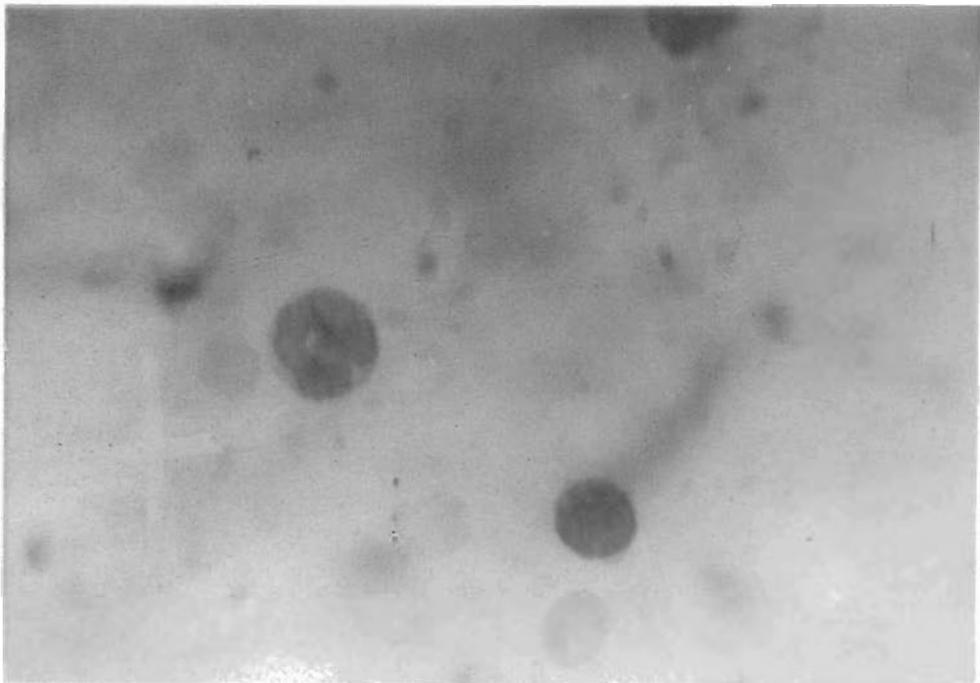


Fig. No 11

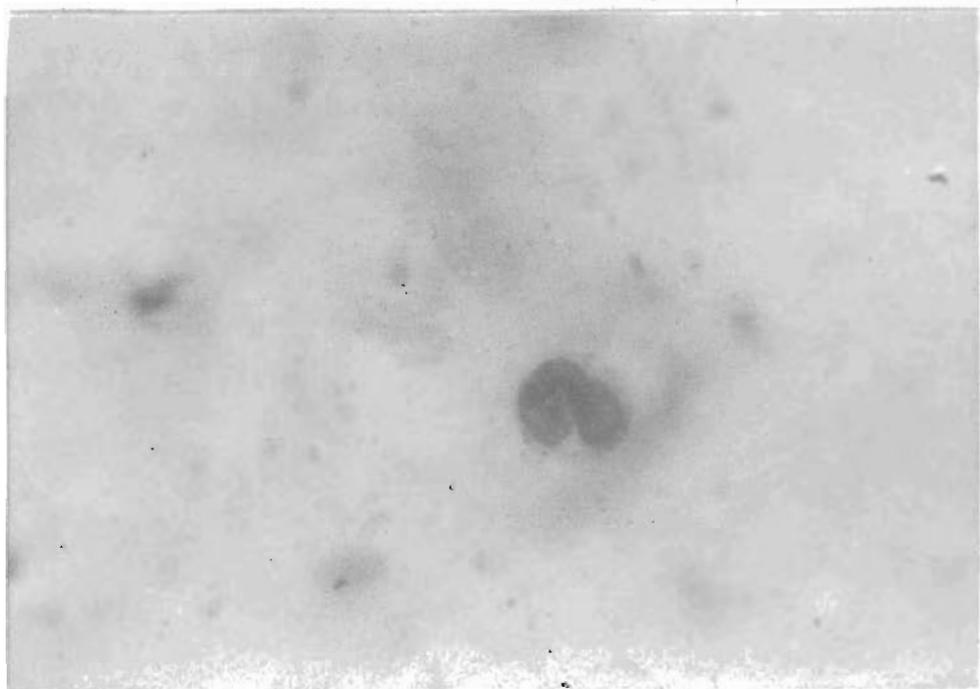


Fig. No 12

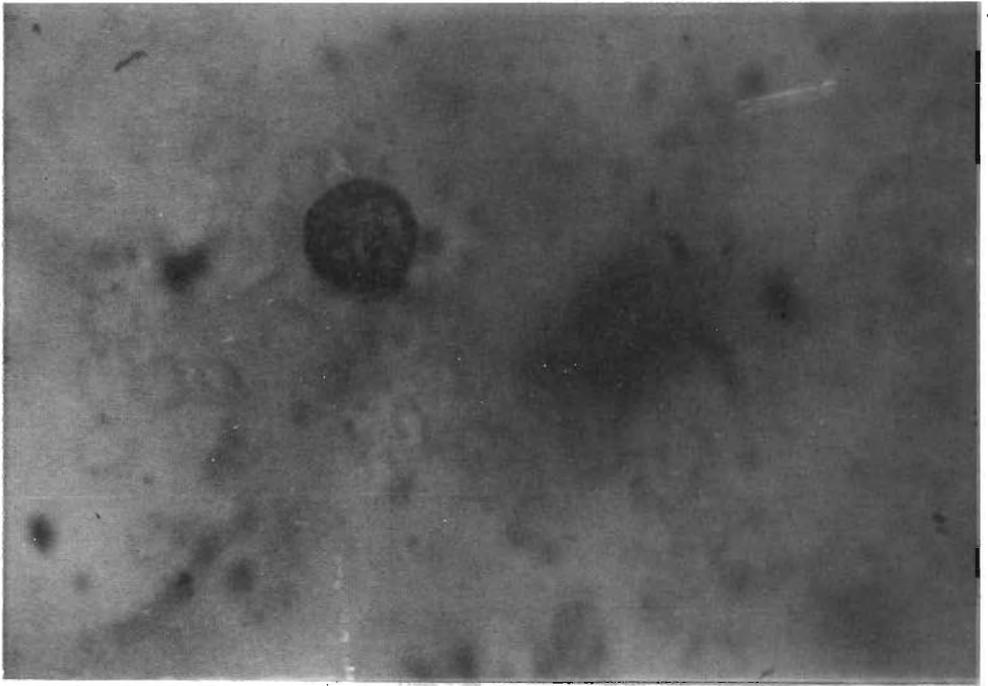


Fig. No 13

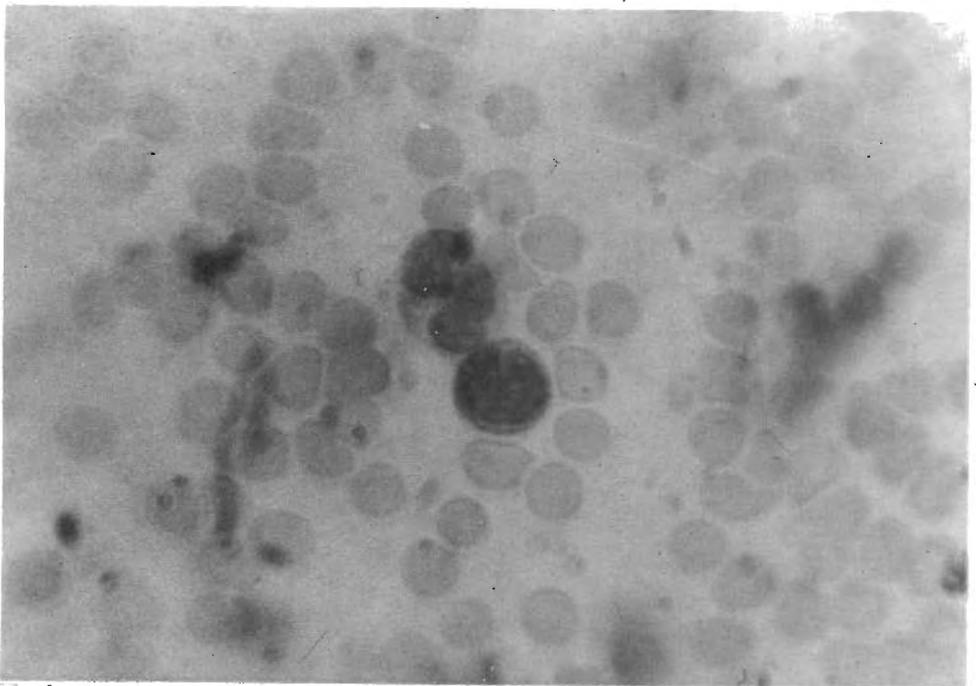


Fig. No 14

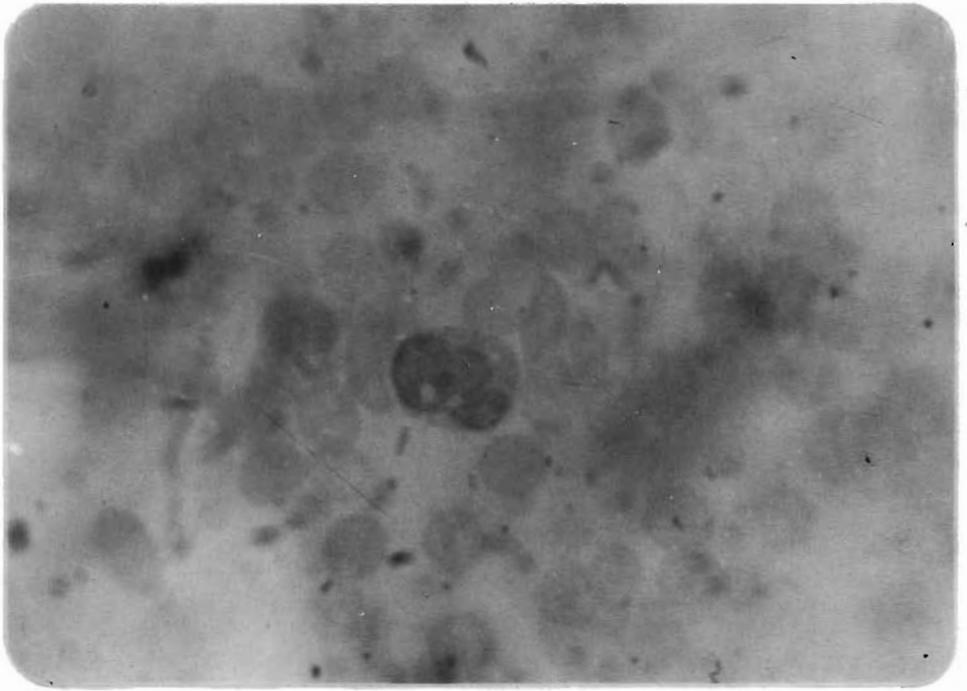


Fig. No 15

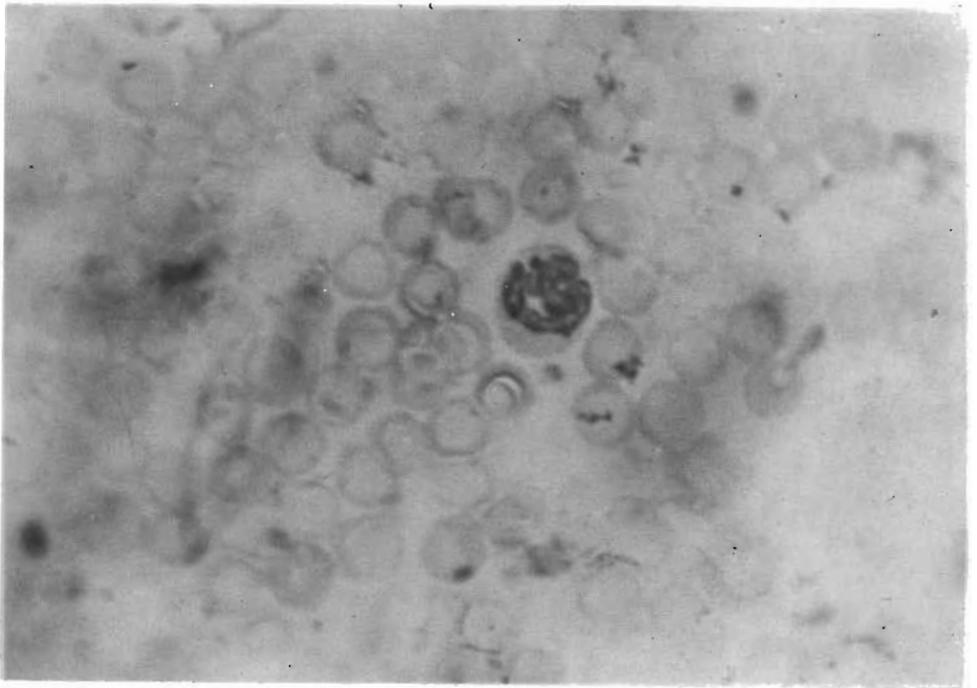


Fig. No 16

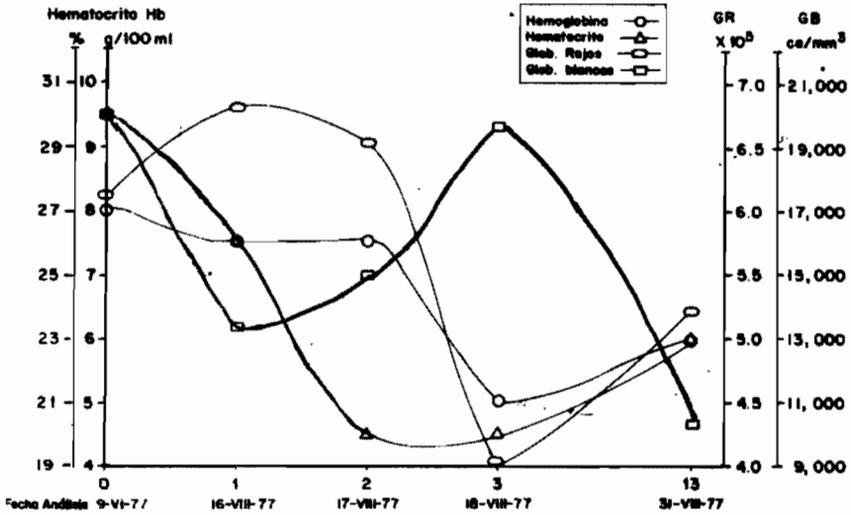


Fig. N° 1: Hemografía del Raton N° 1, inoculado con 0.1 ml del ML131276 por vía endovenosa.

Fig. 17

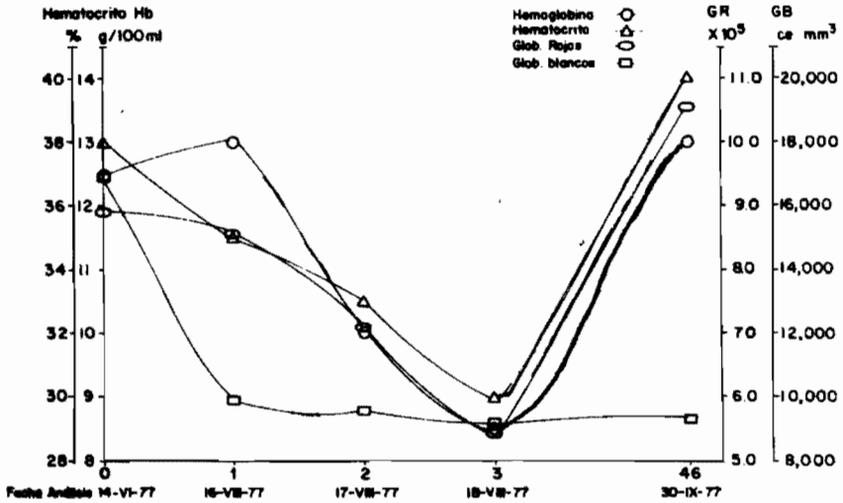


Fig. N° 2: Hemografía del Raton N° 2, inoculado con 0.1 ml del ML131276 por vía endovenosa.

Fig. 18

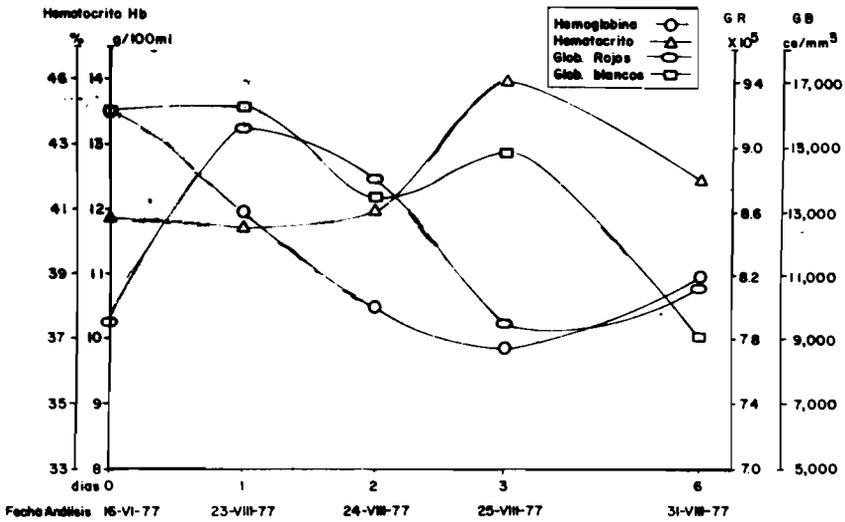


Fig. N° 3 Hemografía del Ratón N° 3, inoculado inoculado con 0.1 ml del ML131276 por via endovenosa

Fig. 19

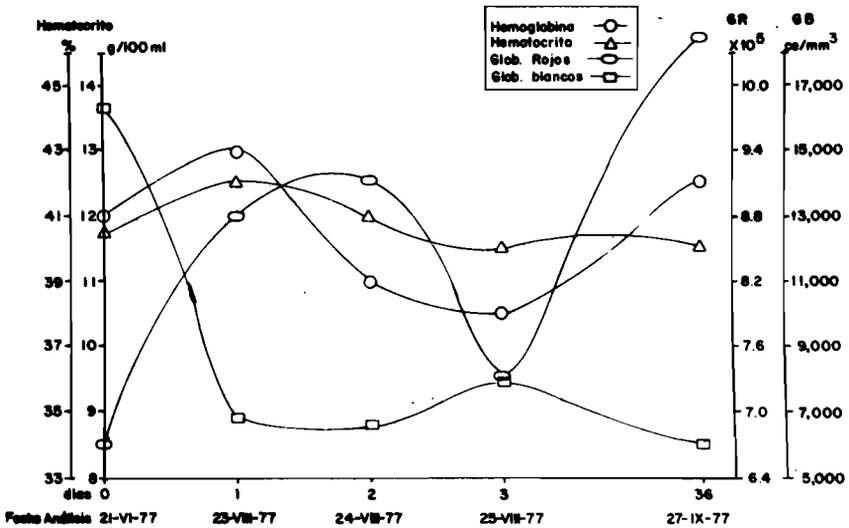


Fig. N° 4: Hemografía del Ratón N° 4, inoculado con 0.1 ml del ML131276 por via endovenosa.

Fig.20

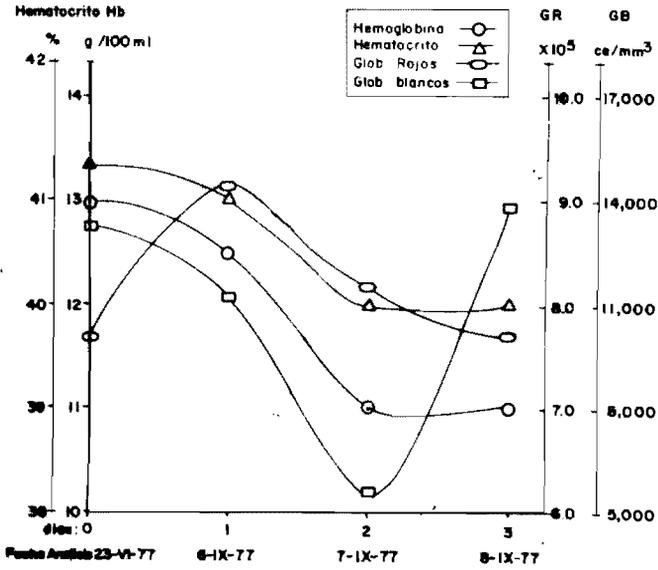


Fig. N° 5: Hemografía del Ratón N° 5, inoculado con 0.5 ml del ML131276 por vía endovenosa

Fig. 21

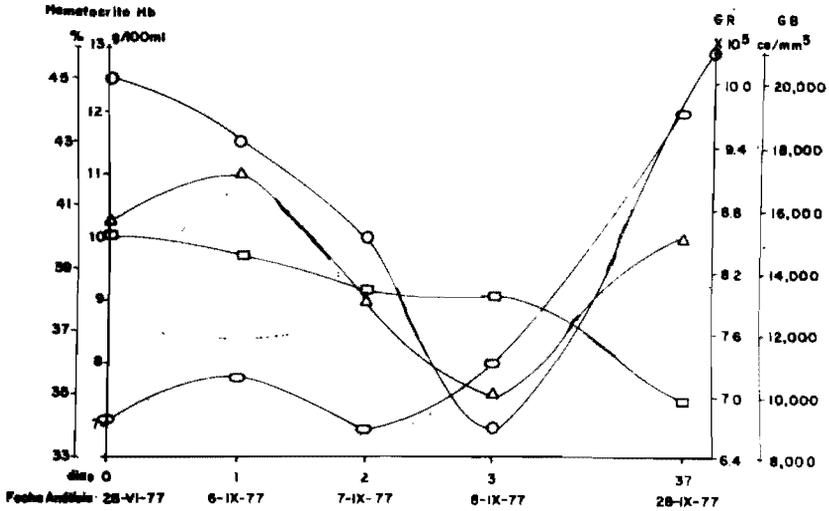


Fig. N° 6: Hemografía del Ratón N° 6, inoculado con 0.1 ml del ML131276 por vía endovenosa

Fig. 22

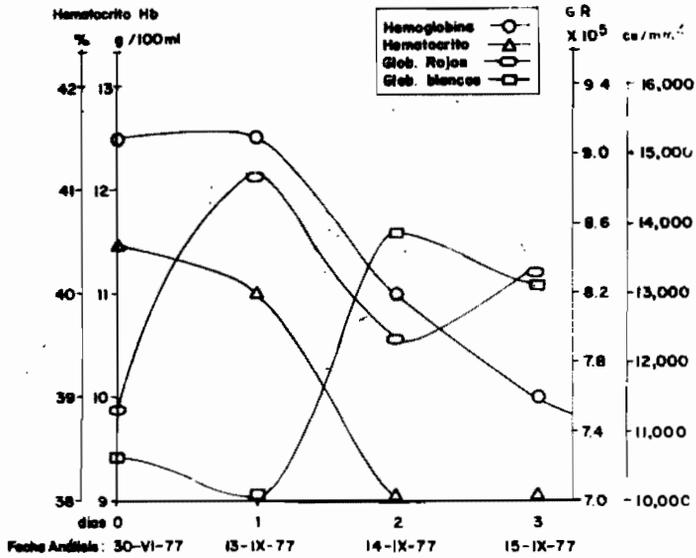


Fig. N° 7: Hemografía del Ratón N° 7, inoculado con 0.5 ml del ML131276 por vía endovenosa
Fig. 23

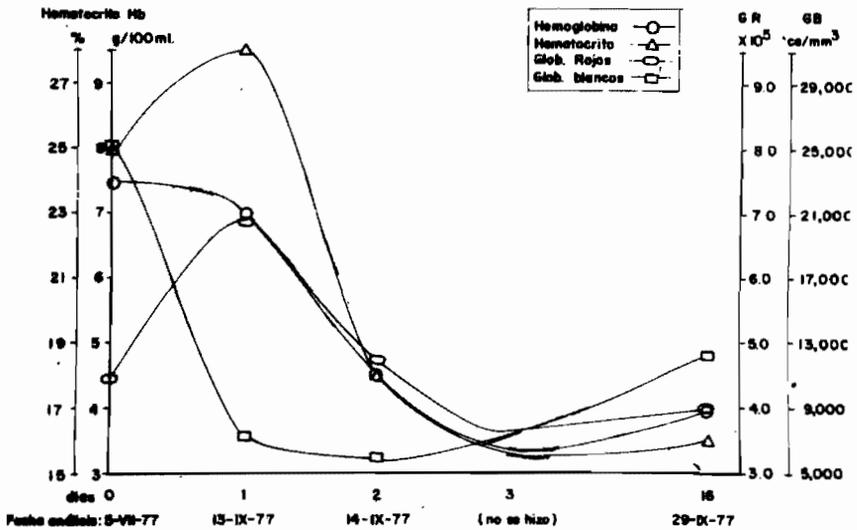


Fig. N° 8: Hemografía del Ratón N° 8, inoculado con 0.5 ml del ML131276 por vía endovenosa.

Fig. 24

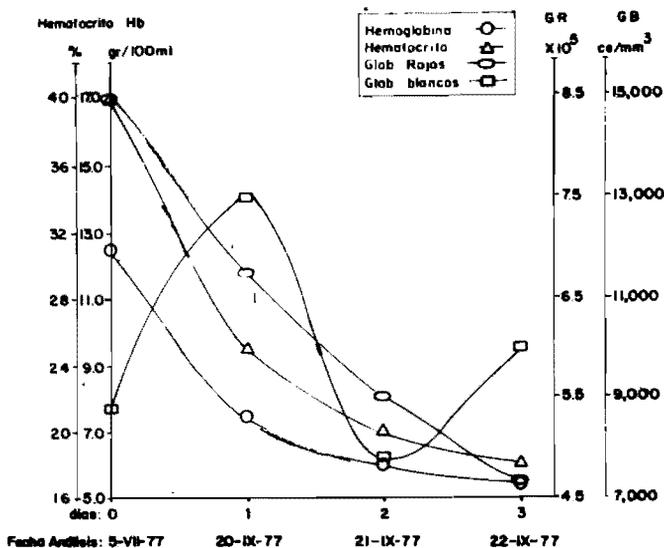


Fig. 9 Hemografía del Ratón Nº 9, inoculado con 1.0 ml del ML131276 por vía endovenosa

Fig. 25

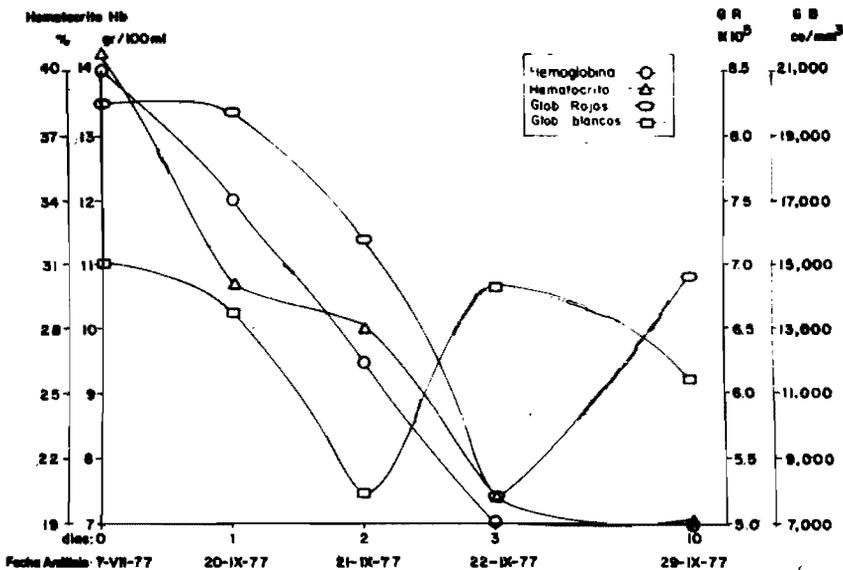


Fig. 10 Hemografía del Ratón Nº 10, inoculado con 1.0 ml del ML131276 por vía endovenosa.

Fig. 26

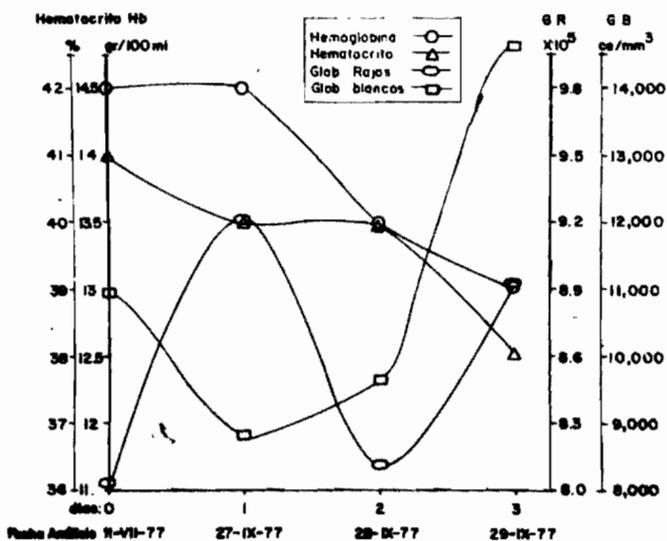


Fig. 11: Hemografía del Ratón Nº 11, inoculado con 1.0 ml del ML131276 por vía endovenosa.

Fig. 27

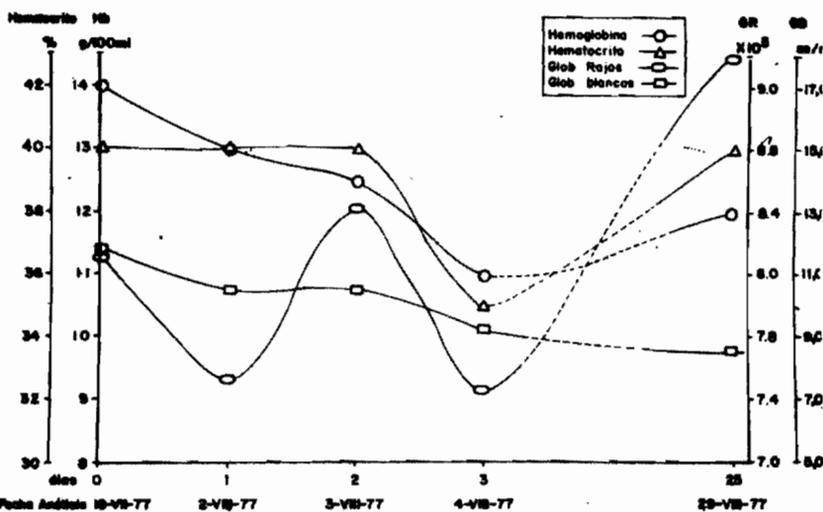


Fig. 12: Hemografía del Ratón 1, inoculado con 1.0 ml del ML131276 por vía intraperitoneal

Fig. 28

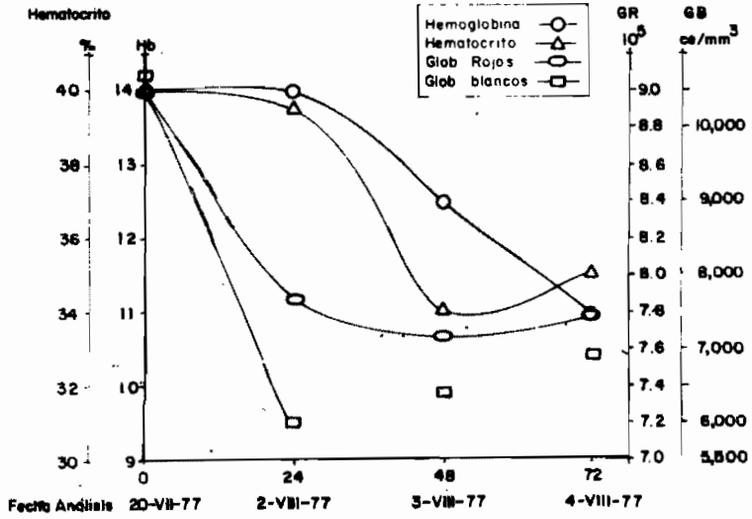


Fig. 13. Hematografía del Ratón II, inoculado con 1.0 ml del ML1276 por vía intraperitoneal

Fig. 29

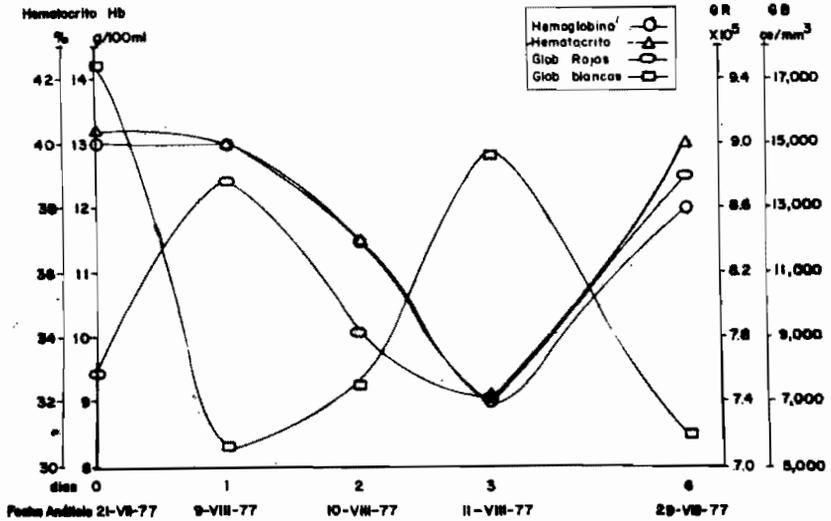


Fig. 14. Hematografía del Ratón III, inoculado con 1.0 ml del ML13276 por vía intraperitoneal.

Fig. 30

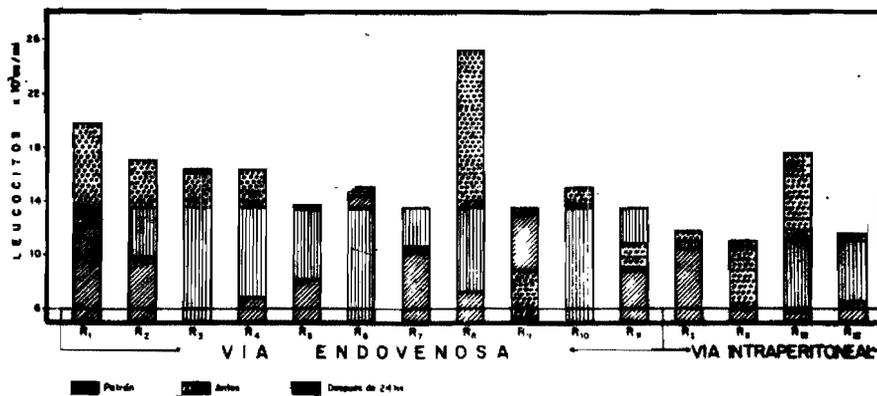


Fig. Relación del promedio normal de leucocitos de ratones patrones (I.S.) con ratones experimentados con el ML131276 antes y después de 24 horas de inoculación.

Fig. 33

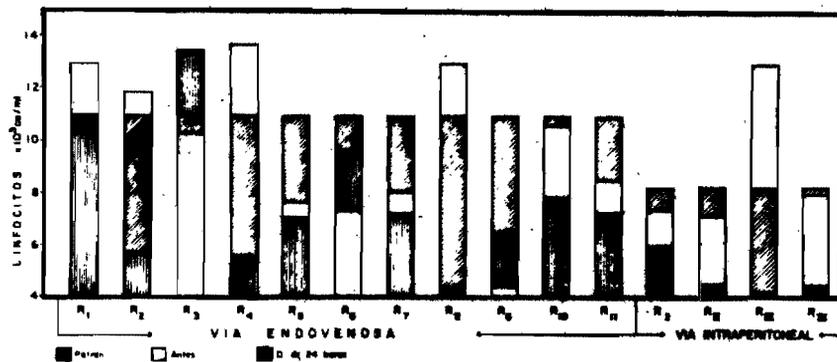


Fig. Relación del promedio normal de linfocitos en ratones patrones (I.S.) con ratones experimentados con el ML131276 antes y después de 24 horas de inoculación.

Fig. 34

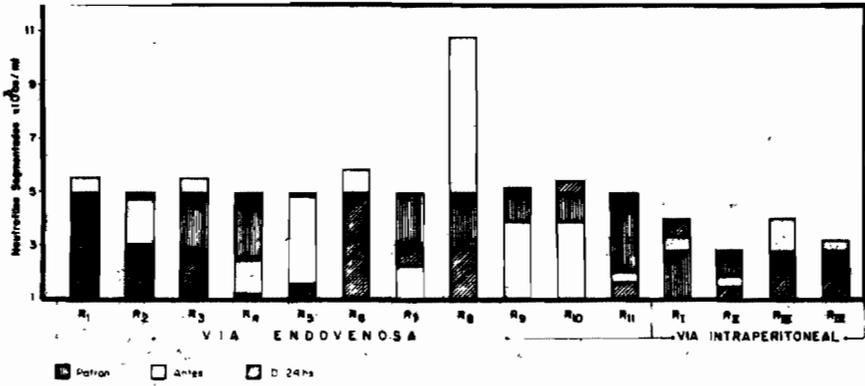


Fig. Relación del promedio normal de Neutrófilos Segmentados de ratones patrones (15) con ratones experimentados con el ML131276 antes y después de 24 horas de inoculación.

Fig. 35

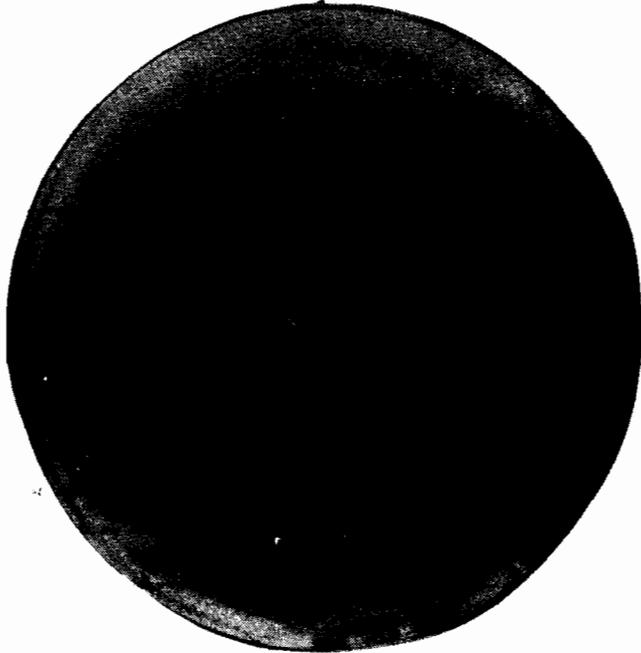


Fig. 36



Fig. 37