

Primera descripción de Trypanosoma en Honduras

Dr. Ernesto Dala Sierra

En Junio de 1931 se publicó el # 14 del año 2 de la Revista de la Asociación Médica Hondureña. El ejemplar constaba de 66 páginas con nueve artículos científicos y una sección de una página con información sobre aspectos administrativos (nombramientos en establecimientos de salud).

Dentro de estos artículos en la página # 3 estaba incluido el escrito:

NOTA SOBRE UN TRIPANOSOMA MORFOLÓGICAMENTE SEMEJANTE AL TRYPANOSOMA CRUZI (CHAGAS, 1909), ENCONTRADO EN UNA CARIGIUELLA (DIDELPHIS MARSUPIALIS), CAPTURADO EN TELA, HONDURAS.

Por el Dr. Andrew Robertson el cual reproducimos a continuación.

London School of Hygiene and Tropical Medicine.

El 12 de Junio de 1929 hubo un fuerte aguacero en el rancho de Puerto Arturo, en las cercanías de Tela, Honduras. De resultas de la rápida caída de agua, una «zarigüella» (tacuazín) se vio obligada a abandonar una zanja de drenaje en la cual había buscado refugio durante las horas del día. Uno de los trabajadores notó que el animal era tardío en sus movimientos y parecía enfermo y se propuso capturarlo atontándolo con el mango de su machete. Mr, Mac. Intosh el veterinario de Puerto Arturo, a quien debo agradecer su cooperación suministrando el material para éste

trabajo, mandó la zarigüella al Laboratorio del Hospital de la Tela R R. Co.

El animal resultó ser una hembra con varios hijos en su bolsa marsupial. Era evidente, por su aspecto general, que sufría de una enfermedad grave, ya que estaba flaca y extenuada. Es curioso notar que presentaba muy pocos insectos ectoparásitos, mejor dicho, solo una garrapata se pudo encontrar en él, la que resultó no estar infestada con flagelados. En la sangre del animal se encontró un tripanosoma cuya descripción y cultivo forman la base de éste trabajo.

La zarigüella (tacuazín) *Didelphis Marsupials*, capturada en el rancho de Puerto Arturo, Tela, Honduras. La fotografía muestra la bolsa marsupial con la cabeza de uno de los hijuelos asomando. El animal murió el 25 de Julio, 1929, después de 44 días de cautiverio y observación. Autopsia que se practicó varias horas después de muerto, mostró lo siguiente:

Abcesos-múltiples del pulmón derecho, adherencias de la pleura diafragmática derecha y gran cantidad de líquido purulento en la cavidad pleural derecha; el pulmón izquierdo también presentaba abscesos múltiples y colecciones purulentas en la gran cavidad. El hígado y el bazo parecían aumentados de tamaño, pero los cuerpos de Malpigio en el primero y la estructura lobular en el segundo aparecían normales. En la cara superior del hígado había una área de peritonitis debida a la ruptura de un absceso del tórax. Es difícil ser claro en este punto de apreciar la patología de los órganos examinados por la falta de una «normal» pero los órganos de otro animal de la misma especie, aparentemente sano, sirvieron para comparación.

MORFOLOGÍA.

Cuando se encontraron por primera vez los tripanosomas en los frotis de sangre la semejanza con T. Cruzi llamó la atención y ésta semejanza se confirmó con los experimentos subsiguientes. En preparaciones frescas el movimiento correspondía al del T. Cruzi. En las preparaciones fijadas, la tendencia, también adoptada por el tripanosoma Cruzi, de asumir la forma de la letra "C" era evidente. La extremidad posterior del cuerpo era puntiaguda y el kintonucleo, como el de T. Cruzi, bastante grande a menudo proyectando en sus bordes laterales sobre el cuerpo del parásito.

La forma del kintonucleo era a menudo redonda u ovoidea, pero en algunos individuos exhibía la tendencia a ser elongada en el eje transversal del cuerpo. Raras veces era en forma de bastoncillo. La membrana ondulante estaba bien desarrollada, pero no tenía la forma ondulosa de algunas especies, por ejemplo T. Rhodesiense. En el extremo anterior presentaba un flagelo libre bien desarrollado. La posición del núcleo merece mención especial, porque aunque en la mayoría de los casos era central, había sin embargo en ciertos individuos un franco desplazamiento hacia una posición bastante anterior a la línea media. Este desplazamiento si puede llamarse así, se encontró más a menudo durante el principio de la enfermedad en los cuyos inoculados.

No se encontraron formas de división en los frotis de sangre, y la distinción en dos tipos, como los que se han descrito en T. Cruzi, no puede hacerse en el presente caso.

En términos generales no había gran variedad en cuanto a tamaño. La gran mayoría presentaba un cuerpo de 18n a 19n de largo. Por término medio la longitud del flagelo libre era de 7n a 8n a la longitud entera de 24n a 28n.

Por supuesto, como era de esperarse, algunos individuos presentaban tamaños más cortos o más largos que las divras antes mencionadas, pero éstas variaciones individuales podrían atribuirse a accidentes en la preparación de los frotis.

De lo antes dicho se desprende que este tripanosoma tenía una semejanza extraordinaria con el T. Cruzi, por lo menos en lo que concierne a las formas

encontradas en la sangre periférica, y los experimentos descritos más adelante fueron llevados a cabo con la idea de determinar si esta semejanza en morfología era mantenida durante las otras fases del ciclo evolutivo.

CULTIVOS

El medio empleado al principio fue el siguiente:

- (1) Agar 12% en solución fisiológica Ice.
Solución fisiológica 8cc.
Sangre humana Ice.
- (2) El mismo que (1) con la diferencia que se usó agar nutricio en vez de agar simple.

La sangre se obtuvo de la vena que corre a lo largo de la cola de la "zariguella" y una pequeña cantidad se agregó a cada uno de los tubos de cultivo. No se tomaron medidas especiales para evitar la coagulación, como la adición de citrato de soda, por temor de que ésta sustancia impidiera el buen crecimiento de los tubos.

Después de permanecer a la temperatura del cuarto (26.7 a 29. 4C.) por catorce días, se observó un crecimiento abundante de flagelados. Los cultivos todavía contenían, formas vivas y movibles cuatro meses después de la inoculación.

Además de los dos medios de cultivo arriba mencionado se prepararon dos más, como sigue: (3) Agar (2% en solución fisiológica) y glucosa 5%, Ice. Solución Fisiológica, 8cc, Sangre de Conejo, Ice. (4) Agar nutricio (2% en solución fisiológica) y glucosa 5% Ice Solución fisiológica .. 8cc.
Sangre de conejo __ Ice.

El mayor rendimiento se obtuvo en los tubos conteniendo el medio (4) después de doce días de incubación a 28C. Seguían en orden descendente los tubos (2), (3), (1). La conclusión que puede sacarse es que la añadidura de glucosa al 5% al medio de cultivo enriquece éste y ofrece el mejor medio para cultivar esta especie de flagelado.

FORMAS EN LOS CULTIVOS

Una gran variedad de formas se encuentran en los cultivos de éste organismo. Todas ellas se aproximan mucho a las formas adoptadas en cultivos por el Tripanosoma cruzi, siendo imposible distinguir éstas

de aquéllas únicamente por su morfología. El tipo que predomina es el de crithidia, como de 27n de largo total, 7n el flagelo y 20n a 21n el cuerpo del flagelado. Formas alargadas se encuentran con frecuencia. Estas llegan a medir, incluyendo el flagelo, de 42n a 45n o más. Con menos frecuencia se encuentran formas más cortas y gruesa raramente una forma en leptomona.

De vez en cuando se encontraban formas redondas, desprovista de flagelo estas podría considerarse como formas en *Leishmania* o bien como crithidia degeneradas las que accidentalmente habrían perdido el flagelo.

En el otro extremo de la escala evolutiva, se encontraron formas de tripanosoma después de una cuidadosa búsqueda y especialmente en los cultivos jóvenes. La morfología de estas formas de tripanosoma es muy parecida a las formas metacíclicas encontradas en la deyección de la chinche (véase más adelante). Que estas formas sean las precursoras de tripanosoma es muy probable, ya que un cobayo infectado con las deyecciones de la chinche conteniendo estas formas desarrolló típicos tripanosomas algunos días después.

El exacto ciclo de desarrollo es difícil de precisar dada la gran variedad de formas que se multiplican al mismo tiempo y por eso una afirmación categórica no se puede hacer todavía.

EXPERIMENTOS DE TRANSMISIÓN

Dos cobayos fueron inoculados con la sangre de la "zariguella", el primero murió 7 días después sin mostrar tripanosomas en la sangre, pero el segundo desarrolló una infección de la cual aparentemente recuperó. Este fue inoculado el 1° de Julio y la primera aparición de tripanosomas en la sangre tuvo lugar el 14 del mismo mes. La infección fue pasajera durando dos y media semanas. El número de tripanosomas aumentó gradualmente para disminuir rápidamente. De este cobayo, cuando la infección era mayor, dos más fueron inoculados; uno de ellos murió en alta mar durante el viaje de Honduras a Inglaterra y el otro al llegar no presentaba tripanosomas en la sangre ni ha presentado hasta la fecha. Sin embargo, el que murió en el viaje, aparecía estar verdaderamente enfermo, con fiebre alta, etc., y como el tiempo en que aparecieron estos síntomas correspondía con el período de infección del primer

cobayo, es posible que la muerte fue ocasionada por una tripanosomiasis. Como entonces era imposible llegar a cabo exámenes microscópicos, los tejidos fueron conservados para ser estudiados más tarde y formaran material para otro trabajo.

Deduciendo por analogía que el *Tripanosoma cruzi* evoluciona en redúvidos, algún insecto de la misma especie podría ser el vector en Honduras de la especie encontrada en Tela, se trató de infectar la chinche (*Cimex Rotundatus*). La facilidad de obtener estos insectos en grandes cantidades y de cultivarlos en el laboratorio nos indujo a escoger esta especie. Del primer grupo de adultos recogidos se obtuvo una generación de chinches nacidas en el laboratorio no infectadas y éstas se hizo que chuparan sangre de la «zariguella» varias veces.

Tres meses después, ya transportadas a Inglaterra, estas chinches resultaron infectadas. Después de chupar, el insecto arroja una gota de líquido claro secreción Malpighiana (?)—y en este líquido se encontraron formas metacíclicas. Un cobayo fue infectado con esta secreción y 32 días después se encontró que estaba infectado con tripanosomas en la sangre periférica. En el momento de escribir este artículo este animal todavía presenta tripanosomas en la sangre, pero el número ha disminuido del máximo. La infección ha persistido por 17 días hasta ahora. La disección de la chinche ha mostrado la presencia en el tubo digestivo de las varias formas de desarrollo. Como ya éstas se han descrito al hablar de los cultivos no se hará su descripción detallada aquí.

Al mismo tiempo que el cobayo era infectado con las deyecciones de la chinche otro fue inoculado con una dosis grande de uno de los cultivos conteniendo formas metacíclicas o mejor dicho "premetacíclicas" y muchas formas en crithidia. Este cobayo también mostró una infección de la sangre periférica 32 días después.

FORMAS EN LOS TEJIDOS DE LA ZARIGUELLA

Todavía no se puede dar una descripción de los cambios histopatológicos en los tejidos de la zariguella. Creemos que habiendo muerto la zariguella de una infección concomitante o que la tripanosomiasis fue sólo un factor agregado a la muerte del animal, los cambios patológicos de los tejidos no serían típicos. Formas de desarrollo fueron encontradas en el músculo

cardiaco en los espacios ovales de las fibras musculares tal como se encuentra en infección con *T. cruzi*. Las formas encontradas fueron las de crithidia y tripanosomas "jóvenes".

HUESPEDES DEL TRIFANOSOMA-CRUZI

El hecho de haber encontrado una infección natural con *T. Cruzi* en una "zariguella" da lugar a investigar qué animales pueden servir de huésped a esta especie (o formas aliadas) de tripanosomas.

Se han encontrado tripanosomas en monos de Sud-América por E. Porry y M. Leger, pero la descripción de éstos apenas si coinciden con la del *T. Cruzi*. Por el contrario, B. T. Terry (1911) describió varios organismos encontrados en la sangre de 28 monos (de un total de 30) usados en los laboratorios del Instituto Rockefeller en Nueva York. En el *Macacus Rhesus* las formas encontradas eran muy semejantes a las formas adultas de *T. Cruzi* en la sangre periférica. Terry dice en su descripción que « el micronúcleo está situado en el extremo posterior del parásito, es bastante grande, mide 1n o más de diámetro a menudo resalta a ambos lados del cuerpo del parásito. El núcleo es de forma ovalada y está situado cerca de la unión del 1/2 anterior con los 2/3 posteriores del cuerpo.

La longitud de los parásitos ha sido de $25n$ a $28n$ ». Terry propone para este organismo el nombre de *Tripanosoma rhesii*. Aunque de la descripción de Terry no se pueden sacar conclusiones terminantes, su trabajo bien podría indicar que las formas vistas por él constituirán fases del ciclo evolutivo de un parásito idéntico al *T. Cruzi*.

Otras citas se han hecho de tripanosomas en la sangre de animales como las de Watson (1913) en el conejo (*Tripanosoma leporis-sylvaticus*) y las de Haywen (1912) que encontró *Tripanosoma soricis* en la musaraña, *Sorer vagrans*. En la misma categoría debe colocarse el *Tripanosoma otospermophili* Wellman y Wherry (1910) de la ardilla silvestre de California. De las descripciones de este organismo parece tener muchos caracteres comunes con el *T. Lewisi* pero se diferencia de éste en la posición del micronúcleo y en el hecho de que no se ha podido inocular a la rata. En todas estas especies las descripciones han sido insuficientes para poder determinar la verdadera clase a que pertenecería el organismo.

Debe mencionarse aunque el *Endotripanutn Schaudinni*, Mesnil y Brimont, 1908, encontrado en la sangre del «Perezos» en la Guayana Francesa. De las descripciones (Mesnil y Brimont, 1908 y Darling, 1914) se ve claramente que este parásito, que vive en los corpúsculos sanguíneos y no libre, en el plasma, es distinto del *T. Cruzi*.

Por último, debe mencionarse el tripanosoma del murciélago de Italia, Alsacia y otras regiones de Europa descrito por Dionisi y Bataglia y cuya transmisión por el *Cimex Pipistrelli* fue demostrada por Pringault (1914). Por la semejanza en la morfología y el desarrollo análogo al del *T. Cruzi* estos autores propusieron el nombre de *Schizotrypanum pipistrelli* para esta especie. En lo que toca a los huéspedes conocidos del *T. Cruzi*, el armadillo ha sido considerado como el más importante. Ya en 1912 Chagas inculpo al armadillo en el tubo digestivo del reduvido *Triatoma geniculata* que infesta las madrigueras del armadillo *Dasybus Novencinctus*. También encontró en los armadillos mismos un tripanosoma morfológicamente idéntico al *T. Cruzi*. Le fue posible infectar un cobayo experimentalmente del *Triatoma* como del armadillo produciendo idénticos resultados. Torres en 1915 confirmó lo descubierto por Chagas sobre el armadillo y Chagas en 1918 describió una infección en el gato y en el mono del distrito de Para en el Brazil.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL T. CRUZI

T. Cruzi fue encontrado por primera vez por Chagas en el distrito de Minas en el Brazil Y después demostró su presencia en varias partes del Brazil. Tejera en 1919 describió casos de tripanosomiasis en Venezuela y Escobel hizo lo mismo en el Perú en el mismo año.

No se trata en el presente trabajo de entrar en una larga discusión sobre la distribución geográfica del *T. Cruzi* pero es importante el hecho de que se ha encontrado varios reduvidos infectados en lugares bastante distantes de lo que hasta ahora se ha considerado el foco endémico de la enfermedad de Chagas. Por ejemplo, Maggio y Fiosenbusih (1915) encontraron formas idénticas al *T. Cruzi* en el *Triatoma infestans* en la Argentina, Neiva en el este de Rio y Hurtado en el Salvador encontraron un organismo aparentemente un tripanosoma en *Triatoma*.

DISCUSIÓN

De las observaciones que anteceden se verá que no hay razón para suponer que el organismo aislado en Tela es diferente del *T. Cruzi* Chagas (1909). Las pequeñas variaciones morfológicas que se notaron, v. g., la posición anterior del núcleo en algunas muestras, puede explicarse en el presente caso por el huésped o por diferencias de raza. Se ha comprobado (Thomson y Robertson, 1926) que en el caso de los tripanosomas africanos, *T. Gambiense* y *T. Rhodesiense* pueden resultar diferencias morfológicas considerables en el pase de la "raza" por huéspedes de diferentes especies.

Estos nos llevan a otra serie de deducciones. Tomando en cuenta primero el hecho de que Hurtado en El Salvador encontró redúvidos infectados, la aparición de esta especie, en Honduras y que la chinche (*Cimex Kotumdatius*) puede transmitir la enfermedad tiene una distribución geográfica más extensa de lo que hasta ahora se ha creído.

Entra pues, dentro de los límites de la posibilidad o aun de probabilidad que ocurren casos de tripanosomiasis en Honduras y esto puede servir de explicación de ciertas afecciones oscuras en los niños. Clínicamente se observan casos en niños con un grado marcado de anemia y una curiosa hinchazón de la cara sin causa aparente. El hecho de no poder demostrarse el tripanosoma en la sangre periférica no debe ser considerada como la prueba de que no existe esta infección. Suponiendo, como es más que probable, que la virulencia es de un grado bajo, el número de tripanosomas en la sangre periférica sería relativamente escaso y el único medio de establecer el diagnóstico sería los cultivos o la inoculación de redúvidos nacidos en el laboratorio para excluir toda infección natural. La inoculación

de animales superiores está expuesta al peligro de que el animal tenga una infección natural presente o latente. Además, se ha visto que el tripanosoma *Cruzi* exhibe diferentes grados de virulencia según el huésped que ataca. La infección pues, sería dudosa o de producirse sería tan leve que el número de parásitos en la sangre periférica sería muy pequeño para descubrirse en los frotis.

Otro punto, que solo investigaciones subsecuentes pueden aclarar, es la distribución de la tripanosomiasis

en el continente americano, especialmente hacia el Norte. Aunque las condiciones de temperatura y humedad indudablemente ejercen alguna acción en determinar ésta distribución, parece que en el caso de ésta enfermedad no lo es como en otros, la malaria por ejemplo. El autor ha conservado cultivos de *T. Cruzi* en el laboratorio en Inglaterra a la temperatura del cuarto y ha mantenido chinches (*Cimex Lectularius*) infectadas por 9 meses en aquél país. También el hecho de que la Zariguella pueda actuar como huésped es importante, porque el género *Didelphis* tiene una distribución geográfica muy extendida. La intensidad de la infección del espécimen capturado en Tela puede explicarse por la infección pulmonar concomitante disminuyendo la resistencia del animal, pero esto no altera el hecho de que ésta especie es susceptible de infección natural con éste parásito.

SUMARIO

- 1.- *T. Cruzi* fue aislado de la sangre de una Zariguella (*Didelphis Marsupialis*) capturado en Tela, Honduras.
- 2.- Las formas en la sangre eran morfológicamente idénticas a las de *T. Cruzi* excepto que en algunas de ellas el núcleo ocupaba una posición bastante anterior cerca del extremo flagelado del parásito.
3. Formas de desarrollo se encontraron en el músculo cardiaco de la Zariguella.
- 4.- *Cimex rotundatus*, la chinche común de Honduras pudo ser inoculado fácilmente al chupar sangre de la Zariguella.
5. - Se inoculó un cobayo con la sangre de la Zariguella y las formas encontradas en la sangre resultaron idénticas a las encontradas en este último animal. La infección en el cobayo fue pasajera, de dos a dos y media semanas.
- 6.- Se inoculó un cobayo con las deyecciones del *Cimex* y un mes después se desarrolló una infección en la sangre periférica del cobayo.
- 7.- Se cultivó el organismo en el medio de Noguchi, modificación de Wenyon (agar con sangre y glucosa) y las formas en el cultivo respondían a las de un cultivo de *T. Cruzi* usado como testigo.

8.- Un cobayo mostró tripanosomas en la sangre periférica un mes después de haber sido inoculado con éste cultivo. La infección también fue pasajera y duró 21 días.

9. - Tela, Honduras, queda a unas dos mil millas de distancia de lo que se ha considerado hasta ahora como el foco endémico de ésta clase de tripanosomiasis.

Del Informe anual del Departamento médico de la United Fruit Co.

COMENTARIO

Desde el punto de vista científico es importante que el lector se traslade a 1929, fecha en que ocurrió la descripción del hallazgo, y así tener una idea de lo meritoria de la comunicación.

El iniciar con detalles la forma en que fue capturado el Tacuazín, tiene que ver tanto con la tendencia a ser lo más descriptivo posible, que es una de las características del buen clínico, como con el mayor contacto con la naturaleza que vivieron los colegas del pasado.

La publicación viene enriquecida con dos fotografías del *Didelphis Marsupialis* además de varias láminas con fotografías microscópicas del tripanosoma.

El haber realizado la inoculación del parásito hasta producir enfermedad en animales de laboratorio, es una de las formas más contundentes de verificar un diagnóstico. Esta comunicación tiene además la virtud de apoyarse en bibliografía que sustenta la discusión.

La enfermedad clínica en humanos fue descrita hasta muchos años después, pero la identificación del parásito, alertaba sobre su posibilidad.

Esta fue la primera oportunidad en que se publicó en una revista médica nacional, la condición de reservorio, de un animal propio de nuestra fauna.

Desde el punto de vista humano no puedo menos que imaginarme que estos médicos asignados a atender a los braceros de los campos bananeros, debían haber tratado en forma adecuada a los trabajadores (a diferencia de otro tipo de empleados), de no haber sido así, ningún trabajador se le hubiese acercado a comentarle sobre lo extraño del comportamiento del animal capturado después de aquel atardecer lluvioso, hubiera sido sacrificado y dejado a la intemperie y hubiera sido alimento de las aves de rapiña, pero en su lugar la notificación a los galenos y el espíritu de investigación de estos últimos hizo que quedara registrado en la historia de la medicina Hondureña.

*Al morir un hombre, si ha logrado pasar su entusiasmo
a sus hijos, les ha dejado una Herencia
de incalculable valor*

*Thomas Alva Edison
(f8V7-f9ff)*