UNIVERSIDAD NACIONAL

FACULTAD DE
CIENCIAS MÉDICAS

GUATEMALA, C. A.

DEMOSTRACION DE LA TRANSMISION DEL PALUDISMO TERCIANO (TB) POR PICADURAS DE ANOPHELES PSEUDOPUNCTIPENNIS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS - SECRETARIA - GUATEMALA

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA

DE LA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

POR

RAFAEL RAMIREZ ROJAS

EN EL ACTO

DE SU INVESTIDURA DE

MEDICO Y CIRUJANO

ENERO DE 1943.

TIPOGRAFÍA SÁNCHEZ & DE GUISE
8ª Avenida Sur Nº 30.

CONTENIDO

1.—Introducción ..... Pág. 9
2.—Resumen histórico ..... „ 10
3.—El Anopheles (clasificación, descripción, etc.) ..... „ 16
4.—Epidemiología ..... „ 21
5.—Material de laboratorio ..... „ 24
6.—Material de estudio ..... „ 25
7.—Infección experimental ..... „ 25
8.—Diagnóstico de los anófeles infectados ..... „ 28
9.—Inducción palúdica ..... „ 33
10.—Causas de error en la infección experimental y en la inducción palúdica ..... „ 37
11.—Resultados de la infección experimental ..... „ 38
12.—Prueba de la transmisión experimental ..... „ 42
13.—Conclusiones ..... „ 47
14.—Referencias y bibliografía ..... „ 49

INTRODUCCION

La Ley de Grassi: "No hay paludismo sin anofelinos", es verdadera; la proposición contraria: No hay anofelinos sin paludismo, dista mucho de ser exacta.—LE DANTEC.

Gran número de experimentadores ha reconocido que hasta hoy, la Ley de Grassi conserva todo su valor sin dar lugar a excepciones: Sólo los dípteros anofelinos están capacitados biológicamente para transmitir al hombre, a través de su ciclo esporogónico, el parásito malárico.

Pero no todos los anofelinos son igualmente aptos como huéspedes definitivos del parásito. A pesar de las tentativas de infección experimental, hay algunos en los que no se ha logrado seguir fase alguna del ciclo evolutivo del Plasmodium.

En las especies que se nutren, no en el hombre sino en los demás animales (zoofilia), se explica fácilmente este fenómeno, recordando que fuera de Mesnil y Roubaud (1) quienes tuvieron un éxito efímero y no confirmado al transmitir Plasmodium vívax por inyecciones de grandes cantidades de sangre rica en parásitos al chimpancé, y de Taliaferro al mono zaraguate con el Plasmodium falciparum, el resto de los animales presenta inmunidad absoluta frente al parásito humano.

De mayor importancia aún es el hecho de que algunas especies de zancudos que se nutren a la vez en el hombre y los animales, son por razones hasta hoy desconocidas, biológicamente inmunes al parásito malárico.

Por lo que hace a las especies transmisoras del paludismo, o sospechosas de serlo, la experimentación ha demostrado que para un mismo anófeles, varía su capacidad de infección y el papel que desempeña como transmisor, con las condiciones de temperatura, altura y humedad del medio ambiente.

Cabe también agregar que estas variaciones dependen en gran parte de la especie de parásito infectante (Malariæ, Vívax, Falciparum, etc.) y hasta de las diferentes "cepas" o razas de un mismo hematozoario.

Corroborando lo anterior, cito las palabras de Hackett: (2) "Los anofelinos ingleses no pueden ni siquiera ser infectados con cepas de terciana maligna de la India o del Africa. Antes de que mucho se supiera acerca de las diferencias que hay entre las cepas,

se había sospechado que ello podría ser debido a condiciones climáticas o algún otro factor del medio ambiente.... y sin embargo, estos mismos anofelinos británicos probaron ser muy aptos a la infección de los tipos romano y sardo del falciparum."

En la República de Guatemala, existen 14 especies conocidas de anofelinos (*) y de ellas, 5 en la propia Capital. (**)

Algunas de estas especies han sido ya estudiadas en otros países, pero tomando en consideración que su morfología (3), poder de infección natural, experimental y capacidad como vectores de la malaria sufren modificaciones al variar las condiciones topográficas, climatéricas, etc., si aspiramos estudiar nuestra propia Patología Tropical y dentro de ella el paludismo autóctono, tenemos que principiar venciendo dificultades, cometiendo errores y conformándonos con modestos resultados.

El presente trabajo es una contribución a este propósito; se llevó a cabo en la ciudad de Guatemala, bajo los auspicios de la Dirección General de Sanidad Pública, utilizando una sola especie criolla: el Anopheles pseudopunctipennis; con él se da la prueba biológica de su poder infectante y su papel como vector del paludismo, prueba necesaria para los datos epidemiológicos obtenidos en el país y en todas partes donde este mismo anófeles predomine o existe.

RESUMEN HISTORICO

La historia de la experimentación en el paludismo es relativamente moderna y abarca prácticamente desde la segunda mitad del siglo pasado hasta nuestros días.

Sin embargo, muy anterior a este período, Sydenham, "fija los efectos felices de la quina en la fiebre cuartana" y en 1714 el Abate Forts en su "Viaje a Dalmacia" habla del origen de la enfermedad por las picaduras de mosquitos.

(*) SUB-GENERO ANOPHELES:

1) A. Pseudopunctipennis.
2) A. Hectoris.
3) A. Apicimácula.
4) A. Punctimácula.
5) A. Vestitipennis.
6) A. Guatemalensis.
7) A. Xelajuensis.
8) A. Eiseni.

SUB-GENERO NYSSORHYNCHUS:

9) A. (Nys) Albimanus.
10) A. (Nys) Darlingi.
11) A. (Nys) Argyritarsis,
12) A. (Nys) Albitarsis.

SUB-GENERO KERTESZIA:

13) Kerteszia Neivai.

SUB-GENERO CHAGASIA:

14) Chagasia Bathanus.

(**)

1) A. Pseudopunctipennis.
2) A. Hectoris.
3) A. Eiseni.
4) A. (Nys) Albimanus.
5) A. (Nys) Argyritarsis.

No puede omitirse en estas citas, a los químicos franceses Pelletier y Caventou, con quienes principia la verdadera historia terapéutica del paludismo, gracias al descubrimiento de la quinina en 1820.

Gerhardt, Marchiafava, Mattei y otros, demuestran que la enfermedad es infecciosa y contagiosa del hombre enfermo al hombre sano, por pruebas de inoculación de sangre, estableciendo además que el germen se encuentra en dicho elemento.

Con el descubrimiento de Laveran el 6 de Noviembre de 1880, se marcan tres hechos de gran trascendencia científica:

1º—El reconocimiento del parásito productor de la enfermedad, en la sangre circulante del hombre.

2º—Que sea este mismo parásito el primer protozoario encontrado, capaz de invadir los elementos figurados de la sangre (4).

3º—La serie de argumentos por los cuales se incrimina al zancudo como el huésped vector del parásito malárico.

Al sabio francés (1) le bastó un sólo razonamiento: "Un ser tan delicado como el hematozoario no podía polular en el medio cósmico; debía por lo tanto vivir como parásito en el cuerpo de otro animal."

Golgi en 1885 descubrió el ciclo evolutivo del parásito de la cuartana en la sangre del hombre, y el año siguiente el de la terciana, estableciendo además las relaciones entre la curva térmica y las fases del ciclo esquizogónico.

El año de 1890 el mismo Golgi, junto con Grassi, Feletti y otros, declaró la pluralidad del hematozoario, base indiscutible de la doctrina pluralista, contraria en principio a la doctrina unicista de Laveran.

Ronald Ross, discípulo de Patrick Manson (este último ya había descubierto que la fase larvaria del parásito de Bankroft —filaria—se hace en el cuerpo del zancudo) fue enviado en misión especial a la India en 1895, y habiendo encontrado grandes dificultades al experimentar con los hematozoarios, parásitos del hombre, encaminó sus estudios con el Proteosoma de Labbé o Hemameba relicta, parásito del arrocero del lejano Oriente y vecino zoológicamente del parásito de la malaria humana.

Sus experimentos demostraron que el Cúlex pipiens es el huésped obligado del parásito de estas aves, ya que el zancudo infectado transmite la enfermedad por picadura al arrocero sano.

Siguió sus investigaciones y descubrió gran parte del ciclo esporogónico del citado parásito.

En América, Mc.Callum en 1897 confirmó el descubrimiento de Ross, trabajando con la Hemameba de Danilewsky, parásito del cuervo, y pudo presenciar la fecundación del microgameto (hembra) por el microgametocito.

Grassi, en el curso de 1898 descubrió la evolución completa del Plasmodium falciparum en el anófeles, comprobó que sólo en esta especie de zancudos se puede seguir el ciclo del parásito y emitió su famosa ley.

Bastianelli y Bignami, discípulos de Grassi, hicieron en Italia, los primeros ensayos de transmisión experimental del paludismo por picadura de anofelinos infectados; se les reprochan algunos defectos de técnica, pero les queda el mérito indiscutible de haber sido los iniciadores.

En 1900, Manson, demostró al mundo científico, por experiencias que se juzgan técnicamente irreprochables, que el paludismo se transmite al hombre sano por picadura de anófeles experimentalmente infectados: dos voluntarios, su propio hijo y el estudiante Warren, contrajeron la malaria por picadura de insectos llevados desde Italia.

Desde entonces, los experimentos se han sucedido de manera continua, aclarando día a día, el gran enigma de "la fiebre de los pantanos."

Cada especie de anófeles debe someterse a control riguroso en cada uno de los países donde se encuentra. Ya no basta afirmar *a priori* que una especie puede transmitir el paludismo: hay que determinar su índice de poder infectante al natural y experimentalmente, y sus capacidades como transmisor.

De los anofelinos americanos, el Anopheles cuadrimaculatus —que no existe en el país—es el que ha sido mejor estudiado en lo que se refiere a su infección experimental con cada uno de los parásitos del paludismo, probablemente por haber sido el que se ha empleado más en la transmisión de esta enfermedad por picadura, como tratamiento de la parálisis general progresiva.

Es también digno de recordar, que con este anófeles Boyd y Stratmann-Thomas (5) en 1933, lograron por primera vez hacer la transmisión del paludismo al hombre, con Plasmodium malariæ.

De las especies que existen en la República de Guatemala, es el Anopheles (Nyssorhynchus) albimanus el que ha sido sometido a mayor número de pruebas de infección experimental (Panamá, Puerto Rico, Cuba y Venezuela), dándose el caso excepcional de haber logrado la infección de un ciento por ciento de los ejemplares sometidos a la experimentación.—(Rozeboon (5), Panamá, 1935).

Los experimentos con el resto de las especies que existen en el país, no han sido muy abundantes en la mayor parte de nuestro continente y los datos proporcionados son muy escasos acerca de la epidemiología y sus relaciones con la malaria.

Muy escasas también han sido las pruebas de la transmisión experimental, ya que la literatura consultada no contiene datos sobre ninguna de las 14 especies de los anofelinos clasificados en Guatemala.

En cuanto al Anopheles pseudopunctipennis (pseudopunctipennis), de vasta extensión geográfica y de grandes variaciones morfológicas y anatómicas, se tienen datos muy inseguros sobre todo en lo que se refiere a su epidemiología.

En lo que se relaciona con la infección experimental y la infección que se hace de manera natural, transcribo el resumen de las comunicaciones provenientes de varios países de América (5 y 6):

Infección experimental con el Plasmodium vivax.

Fue Darling, en Panamá (1910), quien inició los trabajos experimentales con el Anopheles pseudopunctipennis (pseudopunctipennis), habiendo fallado la infección en 4 zancudos.

Shannon y Davis (1930) en Argentina comunicaron resultados negativos con 6 ejemplares.

Del Ponte, también de la Argentina corrió la misma suerte con 10 anófeles hembras.

Mas no todas las tentativas deberían fracasar con el Plasmodium vivax: Barber, Komp y Hyne (1927) en Nuevo México, lograron por primera vez la infección experimental en uno de doce mosquitos; luego Simond (1939) haciendo picar 6 mosquitos en un paciente con terciana y con una indeterminada densidad de gametocitos en la sangre, encontró uno infectado.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON PLASMODIUM FALCIPARUM.

Darling (1910) en Panamá encontró 4 infectados en 27 mosquitos. Shannon y Davis (1930) en Argentina, comunicaron la infección de 3 sobre 8 zancudos, habiéndolos hecho picar a un paciente a quien se había administrado cierta cantidad de quinina.

En 1935-36, Simond (6) en Panamá, encontró 7 zancudos infectados en 84; Earle en Granada (Pequeñas Antillas), logró la infección de 4 en 21 zancudos y posteriormente, en 1939 Boyd y Earle (20) obtuvieron proporciones diferentes en la infección del zancudo con "cepas" de hematozoarios provenientes de dos lugares distintos: México y Florida.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON PLASMODIUM MALARIAE.

Ha sido de resultados negativos, según los datos que fue posible obtener, con excepción de las comunicaciones de Darling, en Panamá (1910) que infectó un mosquito y Shannon y Davis (1928) en Argentina, con 3 mosquitos.

En cuanto a la transmisión experimental de la enfermedad al hombre con las tres especies de parásitos (Vívax, Malariæ y Falciparum), utilizando como intermediario el Anopheles pseudopunctipennis (pseudopunctipennis) no se tiene noticia de que haya sido efectuada hasta la fecha.

Deliberadamente dejo a un lado en este somero resumen, la transmisión del paludismo por inyecciones de sangre, es decir, prescindiendo del insecto huésped, como se hace actualmente en la malarioterapia de la tabes, parálisis general progresiva, etc., ya que el objeto de este trabajo es de índole completamente diferente.

En Guatemala, corresponde el privilegio de haber sido el primero en lograr la infección experimental de anofelinos, al Dr. J. Romeo de León (7), quien al tratar de conocer las especies criollas, trabajó con el Anopheles hectoris, el año de 1933, habiendo logrado en parte su objetivo, o sea la infección experimental de dicho anófeles.

Desgraciadamente, motivos ajenos a su voluntad de hombre estudioso, dejaron truncadas sus investigaciones ulteriores, referentes a la transmisión experimental de la enfermedad por picadura, y le impidieron determinar de una manera definitiva si el Anopheles hectoris es, o no, un transmisor del paludismo.

A continuación transcribo el párrafo final de su trabajo publicado en el Boletín Sanitario de Guatemala, Número 40, correspondiente al mes de Diciembre de 1933 (7):

"Con los tres últimos ejemplares señalados en el cuadro, se hicieron tentativas de inoculación a enfermos del Asilo de Alienados, con indicación de malarioterapia, pero más tarde en el curso de las investigaciones, se pudo comprobar que dichas hembras no habían quedado infectadas con el hematozoario y por este motivo, estos estudios de inoculación quedaron en curso para un trabajo ulterior."

Señalada la ruta y bajo los auspicios de su iniciador, prosigo en las mismas investigaciones, pero esta vez, no con el Anopheles hectoris, sino con el Anopheles pseudopunctipennis.

CLASIFICACION

Clase

Insecta

Orden

Díptera

Sub-orden

Nematocera

Familia

Culícidos

Sub-familia

Anophelinos

Género

Anopheles

Sub-Géneros

Stethomya
Kerteszia
Anopheles
Nyssorhynchus
Chagasia

Especie

Anopheles (Anopheles) pseudopunctipennis (pseudopunctipennis).
Theobal, 1901.

DESCRIPCION

Reina todavía confusión acerca de la descripción del Anopheles pseudopunctipennis, ya que han sido clasificadas algunas sub-especies o variedades: el *Anopheles pseudopunctipennis franciscanus* descrito por Mc Craken en 1904 en los Estados Unidos de Norteamérica, que presenta en realidad caracteres diferenciales típicos.

Vargas (5) en 1939 describió la variedad *Anopheles pseudopunctipennis boydi,* que a su vez parece ser una variedad del Anopheles pseudopunctipennis franciscanus.

Nosotros al hacer la descripción del Anopheles pseudopunctipennis, sólo nos referimos al criollo de la ciudad de Guatemala, el cual no difiere más que por el tamaño, del que se encuentra en otras zonas del país. (Parece que la talla del Anopheles pseudopunctipennis está en razón directa de la elevación sobre el nivel del mar).

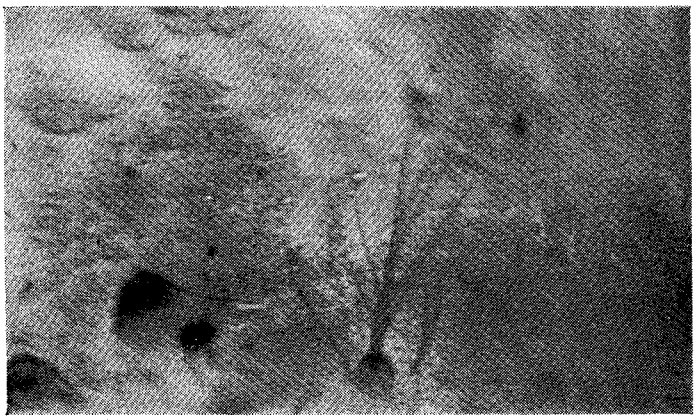


Figura Número 1.

Grupo anterior sub-mediano de cerdas torácicas.—(Microfot. original).

LARVA.

Cabeza.—Pelos clipeales simples, equidistantes; internos, separados.

Tórax.—Grupo anterior submediano de cerdas torácicas formado por una cerda interna bi o trífida, cerda media más desarrollada ramificada, cerda externa simple como una espina (Fig. N° 1).

Abdomen: a).—Placa post-espiracular es aguzada en puntas unguiformes, carácter constante en esta especie, a través de sus variaciones raciales en el Continente. W. H. W. Komp (9).—(Figura N° 2).

Abdomen: b).—Cinco pares de flotadores palmeados, distribuídos del tercero al séptimo segmento abdominal.

Peine del octavo segmento presenta siete dientes mayores, entre cuyos intervalos se disponen hileras de dientes más pequeños irregulares.

NINFA.

Según la clave dicotómica: A.—Cerda lateral del 8º segmento simple. B.—Pelos inferiores externos del 7º segmento, ramificados, casi tan largos como los internos que son simples.

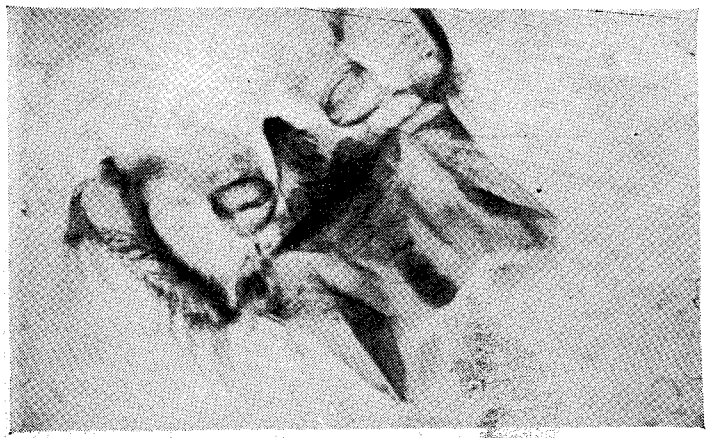


Figura Número 2.

Placa post-espiracular.—(Microfot. original).

ADULTO.

Hembra.—Trompa negra con labellæ pálido. Palpos presentando las bases de sus artículos anilladas, con escamas blanco-amarillentas.

Occipucio con un manchoncito de escamas blancas, negras sobre los lados.

Mesonotum gris sobre su parte media, negro a los lados, recubierto de pelos ralos, hirsutos, pálidos, que al llegar al quinto anterior sobre la línea media asumen la forma de un grupo de escamas blancas.

Abdomen.—Negruzco, cubierto de pelos negros.

Miembros.—Negros con reflejos bronceados, fémures pálidos ventralmente, coxæ amarillentas. Los ápices de los fémures y tibias con escamas blanco-amarillentas.

Alas.—Las escamas alares son negras y amarillo pálido, distribuyéndose el tono claro como sigue: cuatro manchas sobre la

región costal, las dos basales correspondientes a la vena subcosta; las manchas sub-apicales sobre la costa; sobre la base de la tercera vena longitudinal y ampliamente sobre su parte media hasta la parte sub-apical negro; quinta vena sobre su base, base de la horquilla, rama inferior de la misma y una pequeña sobre la parte media de la rama superior; excepto su ápice negro. Una pequeña sobre la parte media de la rama superior. Sexta vena sobre su mitad basal, la otra mitad negra. Los extremos terminales de las venas sobre el borde alar pálido-amarillentos.—(Figura N° 3).

Macho.—Basistilo cónico, con dos espinas basales implantadas sobre dos prominencias distintas aproximadas. Espina interna sobre la porción sub-apical del basistilo.

Dististilo largo, algo adelgazado sobre su parte media y terminando por una uña corta.

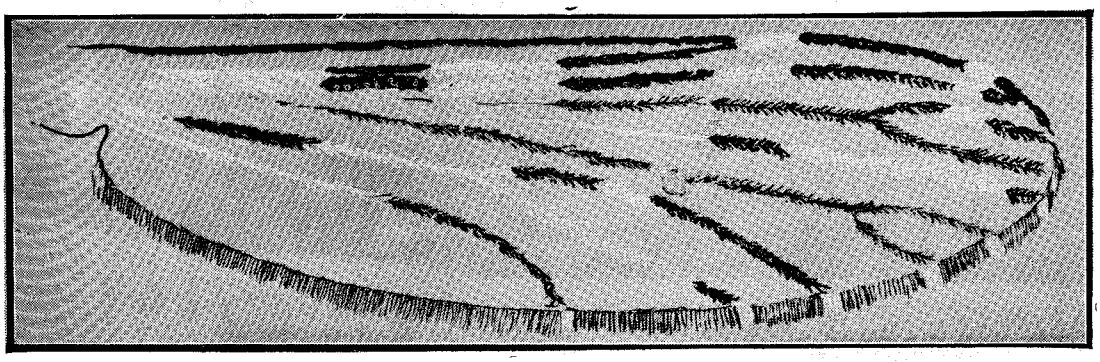


Figura Número 3.

Ala del Anopheles pseudopunctipennis criollo, tomada con ocular de dibujo.—(Orig.)

Harpago formado por dos elevaciones, cada una portando un par de espinas curvas.

Mesosoma cilíndrico caracterizado por la presencia de dos pares de hojuelas bien desarrolladas, de bordes dentados, situados sobre el ápice del mesosoma.—(Figura N° 4).

Biología.

Los focos de origen de esta especie, los forman depósitos de agua de escaso fondo, de pequeña o gran extensión, con abundante vegetación, especialmente algas (espirogira), en cuyas tramas pueden observarse abundantes larvas en seguro refugio contra sus enemigos naturales (otras larvas, peces, etc.), a la vez que de ellas mismas se alimentan.

Los criaderos de este mosquito presentan un carácter particular durante las dos estaciones del año, constituyendo focos de gran

extensión y pequeña densidad en la estación lluviosa; y focos de pequeña superficie y gran densidad durante la estación seca, de tal manera, que pequeños depósitos de agua cubiertas de algas, contienen masas de larvas.

Al estado adulto es frecuente observar en el campo, considerable número de ellos ocultos durante el día en cavernas naturales o en excavaciones artificiales. Sus aptitudes antropófilas han sido bien observadas en el país, en donde invade la habitación humana y los cobertizos destinados a animales domésticos, durante la noche; pero es frecuente notar que por el carácter de la vivienda campesina con amplias aberturas, o bien por un hábito particular de este mosquito, una vez que sacia su apetito, escapa nuevamente

Figura Número 4.

Hypopygium del Anopheles pseudopunctipennis criollo.—Mesosoma (Genitales externos). (Microfot. original).

al campo, en donde se oculta según queda explicado antes, y rara vez pueden practicarse capturas de este mosquito en las habitaciones, lo que ha hecho difícil el estudio del índice anofélico específico.

Este anófeles es abundante todo el año; su número aumenta durante la estación seca.

Experimentalmente es un ávido chupador de sangre; una vez que se prende a la piel, se hace relativamente indiferente al medio que lo rodea y *sacia su apetito hasta el grado de emitir el exceso de su comida por evacuación intestinal.*

Come fácilmente en cautividad y sin haber digerido completamente la comida anterior; si se le da, come diariamente; se nutre tanto de sangre del hombre como de la de los animales. A este

respecto, Davis y Shannon (10), habiendo examinado 652 ejemplares de anófeles en la Argentina, y después de determinar la sangre o sus restos encontrados en el estómago de los zancudos, utilizando las reacciones por "precipitinas específicas" (suero de conejos preparados con glóbulos rojos de otros animales), obtuvieron el siguiente resultado:

Hombre	50.0	%
Perro	21.8	„
Caballo	8.9	„
Carnero	6.2	„
Vaca	5.5	„
Pollo	3.2	„
Cerdo	2.5	„
Gato	1.8	„

De donde se deduce que el Anopheles pseudopunctipennis ataca, siempre que puede, más al hombre que a todas las especies de animales domésticos.

Distribución geográfica.—La especie puede considerarse como la más ampliamente distribuída en Guatemala, hallándose desde los 5,000 pies de altura sobre el nivel del mar, hasta la costa misma. Prácticamente en dondequiera que se ofrezcan condiciones para su desarrollo, es seguro encontrarlo en gran número, con aparente predilección por las altiplanicies montañosas del país.

Como es el mosquito más común en la región Oriental de Guatemala, en donde las condiciones higrométricas son de muy escaso volumen, puede decirse que esta especie está bien adaptada a lugares altos, secos y templados, sin desdeñar la costa misma como se ha dicho.

Un mapa de distribución geográfica de esta especie, tendría que abarcar todos los departamentos de la República, excepto tal vez Totonicapán.

En la Ciudad de Guatemala, y sólo en sus alrededores se le encuentra en una proporción menor que el Anopheles hectoris y mayor que el Anopheles Nyssorhynchus argyritarsis.

EPIDEMIOLOGIA

Según puede observarse en los datos que se exponen a continuación, las opiniones acerca de la epidemiología del Anopheles pseudopunctipennis, no son uniformes en todos los países:

"Cuidadosas investigaciones llevadas a cabo en California, Panamá y Venezuela, concluyen que en estos países el Anopheles

pseudopunctipennis no es un vector de importancia sanitaria" (6).

Herm (1919) establece que en California debe ser considerado como un despreciable factor en la malaria.

Williams (1937) dice que no obstante haberlo encontrado en el Oeste de Texas y en el Valle de Pecos en Nuevo México, no es un transmisor en los Estados Unidos de Norteamérica.

En Granada (Pequeñas Antillas), Earle en 1936 opinaba que en las regiones epidémicas, no se considera como un vector de importancia.

Las investigaciones de Paterson (1911), Mühlens (1925), Davis (1927) y otros investigadores, lo han reconocido desde hace muchos años como el principal transmisor de la malaria en las provincias Noroccidentales de la República Argentina.

Dyar (1928) en una opinión general, dice que el Anopheles pseudopunctipennis es probablemente el principal vector de la malaria en las regiones secas.

En 1933, Shannon establece que el mismo anófeles es el único que existe en el Valle de Rumac (Perú) y la sola especie abundante en la vertiente Occidental de los Andes peruanos; se le encuentra a menudo dentro de las viviendas y en el Perú es considerado como transmisor.

Hoffmann (1932) lo considera como responsable de la malaria endémica en una gran extensión del centro de México, a 6,000 ó 7,000 pies sobre el nivel del mar. Lo cree además el causante de la malaria de primavera en el Sur y Oeste del mismo país. En una comunicación posterior (1938) Hoffmann y Samano, dicen que en las regiones secas de México, el Anopheles pseudopunctipennis es el único vector de la malaria.

Vargas, Casis y Earle (11) confirmaron las conclusiones de Hoffmann por observaciones llevadas a cabo en Temixco (México), con el citado anófeles, al que consideran como un vector peligroso en ese país.

El Doctor J. Romeo de León (8), opina que el Anopheles pseudopunctipennis, considerado bajo su aspecto epidemiológico y con base únicamente en la observación de la frecuencia del paludismo en ciertas regiones de Guatemala (donde esta especie predomina y es aún exclusiva), ha dado lugar a la sospecha de ser un transmisor peligroso.

Giaquinto Mira (5), robustece esa opinión, afirmando que considera esa especie como la causante de los brotes de malaria en villas y playas del Lago de Atitlán, la que, además, transmite mejor el Plasmodium vivax que el Plasmodium falciparum, (?) y en general es un vector del paludismo en las alturas.

Cree también el Doctor de León, que en muchos lugares de clima templado y en otros de altura en el país, debe tenerse presente este mosquito a la hora de considerarlo como transmisor de la enfermedad: el caso agudo lo constituye en la actualidad la Ciudad de Cobán (1,320 metros sobre el nivel del mar), impaludizado en sólo el año de 1942 en forma alarmante, y donde se encuentran dos de los anófeles de altura de Guatemala: el Anopheles hectoris y el Anopheles pseudopunctipennis, a los que separada o conjuntamente debe culparse de ser los vectores en esa región.

Resumiendo, muchas poblaciones de la altiplanicie guatemalteca, se hallan infestadas a corta distancia por focos anofélicos cuyas condiciones son apropiadas para el desarrollo de las especies de Anopheles hectoris y Anopheles pseudopunctipennis; pero para establecer cuál de dichas especies haya de tenerse como la verdadera transmisora del paludismo, o en qué proporción lo son ambas, es menester un acucioso trabajo de investigación que permita deducir el índice de infección anofélico, el que se establecería disecando suficiente número de dichos mosquitos capturados a domicilio y por pruebas biológicas en insectario.

Por su parte, el Doctor Julio Roberto Herrera (12), ha observado que el Anopheles pseudopunctipennis se encuentra en la República de Guatemala, desde una altura de 1,500 metros hasta Zacapa (127 metros sobre el nivel del mar); y opina que puede tenerse como el vector potencial de la meseta central y región montañosa del país, así como el causante de las siguientes epidemias locales:

—Santiago Atitlán (1,550 metros), epidemia de 1930 (Giaquinto Mira).
—Rabinal y Cubulco (Mira, 1930).
—San Pedro Pinula (1937-38, Dr. J. Romeo de León).
—Panajachel (1939, Dr. Julio Roberto Herrera).
—Villa Nueva (1940).

Agrega, además, el Dr. Herrera, que hay fuerte sospecha de que puedan existir variedades de esta especie en número de dos (tierras altas y bajas), y que la frecuencia del Anopheles pseudopunctipennis en las tierras bajas, coincide con la estación seca y con los índices más bajos de infección palúdica, lo que induce a pensar que el anófeles de los litorales sea biológicamente diferente de los que se encuentran en la meseta central.

El presente trabajo pone de relieve la susceptibilidad de la especie Anopheles pseudopunctipennis (pseudopunctipennis) para desarrollar en su organismo el parásito de la malaria, tomado de

los portadores gametíferos, y su capacidad para transmitirlo al hombre sano, de tal manera que podría utilizarse como punto de partida para futuros trabajos, pues hasta hoy, las conclusiones sacadas sobre el peligro de este mosquito, se han basado en el hallazgo predominante de esa especie en los lugares azotados por la endemia malárica.

MATERIAL DE LABORATORIO

1º—El insectario.—A falta de un insectario bien construído y en buenas condiciones para la crianza y desarrollo de los zancudos, fue necesario improvisar uno que diera el máximum de seguridad en cuanto a temperatura, humedad, etc., durante la incubación del parásito en el cuerpo del insecto.

Para el caso, utilizamos una caja grande, de 2 metros de alto por 1.50 de ancho y un metro de fondo, forrada con cartón grueso por dentro y fuera para asegurar un espacio intermedio (tipo termo) y evitar en lo posible los cambios bruscos de temperatura por radiación.

La caja-insectario tenía puerta y cortina protectora para poder entrar y salir sin riesgo de evasión de los zancudos; además, 2 ventanas: una para asegurar la ventilación (protegida con tela metálica) y otra con material transparente, usada para observar.

Tres termómetros: uno colocado cerca del piso, otro cerca del techo y el tercero de máxima y mínima en una de las paredes de la caja.

En la parte baja, un depósito grande con arena blanca, que se podía humedecer a voluntad, agregando más o menos agua. Un aparato eléctrico de calefacción, graduable desde veinte grados hasta cuarenta y cinco.

2º—Tinajas de barro cocido, grandes y de boca ancha, a las cuales se había quitado el fondo en una extensión igual o mayor a la boca; esta abertura estaba protegida por tela metálica y la boca por una manga de tela para poder maniobrar en su interior, sin que los zancudos pudieran escapar.

3º—"Cajas incubadoras" de madera y tela metálica, dentro de las cuales hacen eclosión las ninfas, dejando al zancudo recién nacido, prisionero dentro de la caja.

4º—Cristalizadores de boca ancha y fondo bajo para la crianza y alimentación de las larvas.

5º—Equipo de disección entomológica: microscopio binocular, agujas de disección. Soluciones fisiológicas, soluciones colorantes, etc.

6º—Laboratorio de Malariología, puesto gentilmente a nuestra disposición por la Dirección General de Sanidad Pública.

7º—Psicrómetro y Tabla psicrométrica de Lambrecht, para medir el grado de humedad del aire, dentro y fuera del insectario.

8º—Cilindros de vidrio de 3 á 5 centímetros de diámetro, por igual medida de largo; abiertos en una o las dos extremidades, las cuales fueron protegidas por tul, dando en conjunto la semejanza de un pequeño tambor. Sirven para contener los zancudos antes y durante la picadura.

9º—Tubos de ensayo, cortos, para la captura de zancudos dentro del insectario, las tinajas o las cajas metálicas.

MATERIAL DE ESTUDIO

Larvas.—Llevadas al Laboratorio en recipientes con el agua misma que las contenía, se las guardaba en cristalizadores de vidrio de bajo fondo, que eran colocados dentro de las cajas de madera y tela metálica.

Dos cuidados son necesarios: *a*).—Nutrir las larvas con alimento pulverizado, para perros, rico en vitaminas y adaptado para este uso, el que se les administró día de por medio; *b*).—Separar los adultos en depósitos adecuados, con temperatura y grado higrométrico apropiados.

Adultos.—Deben separarse las especies, pues de todas las larvas salen adultos no sólo de Anopheles pseudopunctipennis, sino también de Anopheles hectoris, argyritarsis y muy pocas o ninguna de las otras especies de la Capital: el Anopheles eiseni y el Anopheles guatemalensis.

Se les coloca a la temperatura ordinaria, en ambiente *muy húmedo.* (Tinajas de barro ordinario que han absorbido gran cantidad de agua y que mantienen la humedad constante gracias a la porción de arena colocada en su fondo).

Alimentadores de anófeles.—Llamamos de esta manera a ciertos individuos, indemnes de paludismo, que voluntariamente alimentaron a los mosquitos después de la comida infectante, los días 3º, 5º y 7º. La falta de manifestaciones palúdicas en los alimentadores, sirvió de control para determinar a qué número de días después de infectado el mosquito, era capaz de transmitir la infección.

INFECCION EXPERIMENTAL

Los donadores.—En el esfuerzo de experimentar con una cepa única, se escogieron individuos del Departamento de Guatemala (de Villa Nueva y Petapa, principalmente), quienes debían llenar las siguientes condiciones:

a) Individuos gametíferos y con una buena concentración de parásitos por campo microscópico.

b) Portadores de gametocitos adultos de Plasmodium vivax exclusivamente. Esta determinación se hacía por exámenes en serie, en los Laboratorios de Sanidad.

c) Que dichos individuos no hubieran tenido ningún tratamiento antipalúdico por lo menos dos semanas antes. (Debe controlarse este dato, pues frecuentemente es falseado por los donadores, quienes niegan haber recibido tratamiento, en la creencia de que así se les atenderá más rápidamente).

Los anófeles.—La única condición requerida es el ayuno obligado de 24 á 48 horas.

La técnica aconsejada por James, que consiste en poner los zancudos en la hielera a 3.5 ó 5.5 grados centígrados, una o varias horas, no fue seguida por nosotros, ni tampoco la recomendación de dar un baño de agua tibia sobre la región que se deba picar, para calentar la piel y reblandecer la epidermis.

En cambio nos resultó muy fácil y de mucho efecto, frotar la región y hacer picar sobre las partes cubiertas de vello: el antebrazo principalmente, en su parte posterior.

El objeto de frotar la piel era, además, de calentar la región, producir cierto olor característico—sobre todo en los donadores poco escrupulosos de su aseo personal—lo cual constituye un buen estímulo para el zancudo, según pudimos observar.

Técnica de la picadura.—Los mosquitos encerrados "unipersonalmente" en sus tambores de vidrio, se aplican sobre la piel ya sea quitándoles el tul de la abertura, o mejor con todo y él.

Si el zancudo que generalmente está en la parte superior del tubo, no baja, se invierte el frasco muy suavemente hasta ponerlo en contacto con la piel; si esta tentativa también fracasa, se oscurece el fondo del tubo con la mano ahuecada, y de esta manera se logra hacerlo salir y posarse sobre la piel.

En ningún caso debe golpearse el frasco, porque el insecto se asusta y no se conseguirá que pique.

En general la operación es fácil, pero en otras ocasiones el éxito logrado no es sino el triunfo de la paciencia.

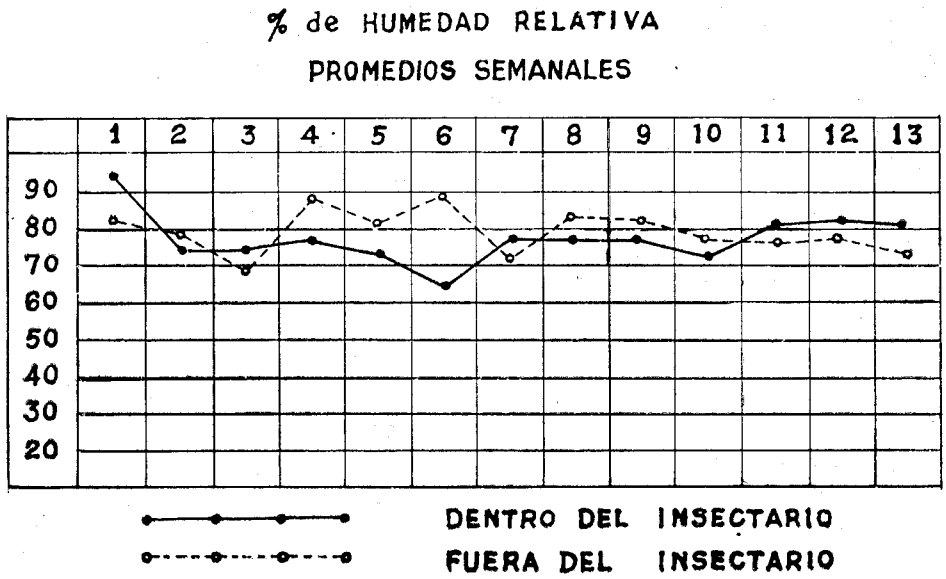
Los ejemplares *marcados* (número de orden, fecha, etc.) pasan a las tinajas colocadas dentro del insectario donde se lleva a cabo la incubación del parásito del zancudo.

La temperatura de incubación más favorable para el Plasmodium vivax es de 28 grados centígrados; fuera de esta temperatura dicen Stratman y Thomas (13) hacia arriba (37.5°), el ciclo evolutivo del parásito jamás es completado. Hacia abajo,

la duración del ciclo se retarda desproporcionadamente desde 8 días a 28°, hasta 14 días con 22.5° y 38 días con 16°.

Por debajo de esta última temperatura, la incubación fracasa.

Por todo lo anterior, nosotros graduamos el insectario a 28 grados centígrados, con variaciones de 6 á 8 décimos en máxima y mínima y un grado de humedad vecino a la saturación, como puede verse en la gráfica siguiente:



Cuidados consecutivos.—Los mosquitos que el mismo día y más o menos a la misma hora han hecho su comida infectada, constituyen un lote, el cual se "marca" con esa fecha a fin de poder llevar un dato exacto acerca de las defunciones naturales que ocurran y las que se provoquen (por cloroformización) con objeto de buscar en las autopsias los quistes embrionados en las paredes del estómago y los esporozoítos en las glándulas salivales.

La fecha anotada sirve también de referencia para saber los días en que deben comer nuevamente los zancudos.

Según las capacidades del insectario, se puede trabajar con varios lotes a la vez.

Número de comidas infectadas.—Es variable naturalmente, pero con muchos pacientes donadores, es preferible darles una o dos comidas, ya que la repetición de las mismas aumenta las posibilidades de conseguir la transmisión experimental.

Efectuadas las comidas, los zancudos pasan, ya sean sueltos, dentro de las tinajas y aún dentro de sus propios frascos "unipersonales", al insectario con temperatura constante a 28 grados centígrados y en ambiente muy húmedo.

Allí deben permanecer y sólo serán cogidos nuevamente para su alimentación. A este respecto, los experimentadores aconsejan que cada 2 días piquen sobre un cobayo o conejo inmovilizados, y aún sobre pollos a los que se haya desplumado en la región dorsal.

Nosotros encontramos facilidades para nutrirlos exclusivamente con sangre humana, proporcionada por individuos indemnes de paludismo (alimentadores), que generosamente se prestaron a ello, soportando buen número de picaduras.

Hay que hacer notar que dichos individuos daban de comer a los mosquitos infectados, o sospechosos de estarlo, tres veces por lo menos, es decir, hasta el 8° día de incubación, sin que en ningún caso se haya presentado el paludismo.

Después de esa fecha, la alimentación se efectuó con el propósito de realizar la transmisión experimental.

DIAGNOSTICO DE LOS ANOFELES INFECTADOS

Cuando un anófeles ha hecho su comida sobre un paciente que se encuentra en buenas condiciones para transmitir el parásito al cuerpo del insecto, se presenta el problema de averiguar si el mosquito ha quedado infectado o no.

Este problema ha sido resuelto satisfactoriamente desde hace mucho tiempo; basta para ello hacer la disección del estómago y de las glándulas salivales y buscar ya sea el parásito en vías de reproducción alojado bajo la forma de quiste (oocisto) en las paredes del estómago o del intestino medio, o bien los esporozoítos en las glándulas salivales.

Estas investigaciones deben ser hechas en un tiempo determinado para encontrar tal o cual forma del parásito.

El gran inconveniente del método consiste en trabajar con anófeles que han muerto naturalmente, o bien, que hay que matar por cloroformización, así es que en ninguno de los dos casos el ejemplar servirá más, cuando se trata de hacer la prueba de la transmisión experimental de la malaria, sacrificándose a veces los ejemplares más aptos para la transmisión.

A pesar de este gran inconveniente, el método de disección fue el empleado por nosotros, en vista de que hasta hoy es el que proporciona mayor seguridad para determinar el tanto por ciento de insectos infectados.

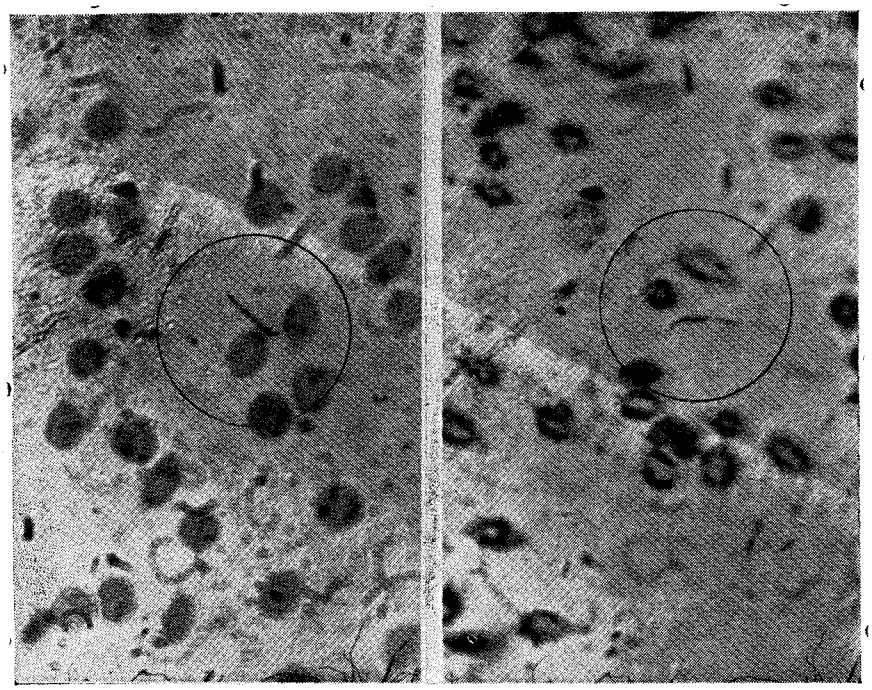
Sin embargo, *en el curso de nuestros trabajos con el Anopheles pseudopunctipennis criollo, un hecho de observación nos llevó a la solución del mismo problema, por un procedimiento diferente.*

El Anopheles pseudopunctipennis, como algunos otros mosquitos, rebasa por glotonería sus capacidades digestivas y después

de haberse llenado de sangre, picando aún, expele por defecación (casi en un ciento por ciento de los casos), un exceso de la misma sangre del paciente en el que efectúa la picadura, y en tal cantidad, que es suficiente para hacer varios frotes con esta evacuación sanguinolenta.

En vista de lo anterior, decidimos hacer frotes de estas evacuaciones, para comprobar, después de su coloración, *si el mosquito había recibido gametos del donador* (cuando se trataba de la comida infectante) y en el curso de las otras comidas también se hacían los frotes por rutina.

Los frotes efectuados en los anófeles números 73 y 77 del IV lote, cuando hacían sus comidas en el paciente a quien se trataba de transmitir la enfermedad, nos revelaron la presencia de esporozoítos libres en las evacuaciones sanguíneas del mosquito, como puede apreciarse en las microfotografías siguientes, que pertenecen a dos ejemplares diferentes:



Esporozoítos recuperados en las evacuaciones intestinales del Anopheles pseudopunctipennis criollo.—(Microfot. original).

A continuación describo la técnica que para obtener dichos frotes usamos con el Dr. J. Romeo de León y la que, a menos que se demuestre prioridad, la describo como legítimamente suya:

Se prepara una laminilla cubre-objetos, perfectamente limpia y desgrasada; en una de sus esquinas se le fija una tira de esparadrapo de un centímetro de ancho y 6 de largo, en tal forma, que doblada en dos, se adhiere por encima y por debajo de la misma esquina de la laminilla, para que sirva de manguito, consiguiendo de esa manera que ningún movimiento de la mano se transmita bruscamente a la laminilla.

Mientras el anófeles se encuentra *prendido haciendo su comida,* se levanta el frasco que lo contiene y tomando la laminilla cogida por el esparadrapo, en la mano derecha, se espera que el zancudo se llene de sangre y haga salir sus pequeñas gotas de excremento; entonces cautelosa y suavemente se le acerca la laminilla para apoderarse de la gota por contacto. La misma operación se repite las veces que sea necesario, hasta que haya sangre suficiente para 3 ó 4 frotes.

Estos frotes muestran después de coloración, esporozoítos típicos, si el zancudo estaba infectado y en incubación suficiente (más de ocho días).

Tales esporozoítos tienen la misma forma y tamaño de los que se encuentran en los frotes hechos con las glándulas salivales de zancudos infectados.

COMENTARIO.

¿Cómo explicar que la evacuación intestinal del anófeles contenga estos esporozoítos?

Cuatro hipótesis son posibles:

Primera hipótesis.—El mosquito infectado contenía en su estómago quistes maduros (oocistos), y en el interior de éstos, una enorme cantidad de esporozoítos; dichos quistes, en lugar de romperse hacia la cavidad general del zancudo, como acontece generalmente, lo hacían hacia el interior, es decir, hacia la cavidad misma del estómago.

La base de esta hipótesis es cierta, ya que Schaudinn, cuando estudiaba la penetración del glóbulo rojo por el esporozoíto (*), observó varias veces que estos oocistos se rompían hacia el interior del estómago.

Pero si nuestros anófeles habían hecho una sóla comida infectante, es de suponer que todos los oocistos alojados en las paredes de su estómago estuvieran más o menos en igual grado de desarrollo, y además trabajando con mosquitos incubados a 28 grados centígrados, el ciclo de madurez se cumple casi invariablemente

(*) Penetración que a su vez ha sido desmentida.

al cabo de 8 días (13), de tal manera que después de esta fecha, todos los quistes deben haber desaparecido para dar salida a los esporozoítos, que luego se alojarán en las glándulas salivales.

Sería, pues inexplicable que al cabo de 20 ó más días puedan romperse quistes, y romperse hacia el interior del estómago; y si el hecho hubiera sido excepcional ¿cómo pudieron aparecer dos veces al mismo tiempo en distintos ejemplares (mosquitos 73 y 77 del IV lote), en el curso de nuestra experimentación?

Segunda hipótesis.—Los esporozoítos que han quedado libres en la cavidad general, después de la ruptura de los quistes, teniendo la facultad de atravesar los tejidos del zancudo (hecho cierto ya que para infectar las glándulas salivales tienen que atravesar sus paredes), pueden perfectamente atravesar las paredes de la cavidad general hasta la cavidad misma del estómago (trayecto inverso).

La hipótesis parecería factible, si en los anófeles, después de 20 días de infectados y conservados a 28 grados centígrados, se encontraran esporozoítos libres en cualquier otro lugar de su organismo fuera del interior de las glándulas salivales.

Tercera hipótesis.—Como consecuencia de picaduras infectantes anteriores, el individuo a quien se trataba de transmitir el paludismo, albergaba en su sangre circulante esporozoítos libres que, absorbieron al picarlo, los mosquitos que presentaron estos esporozoítos en su evacuación sanguínea. Podría suponerse que tal absorción de esporozoítos se efectuó por un proceso análogo al que tiene lugar cuando el zancudo ingiere con la sangre de un donador malárico, los gametos hembras y machos, u otras formas del parásito.

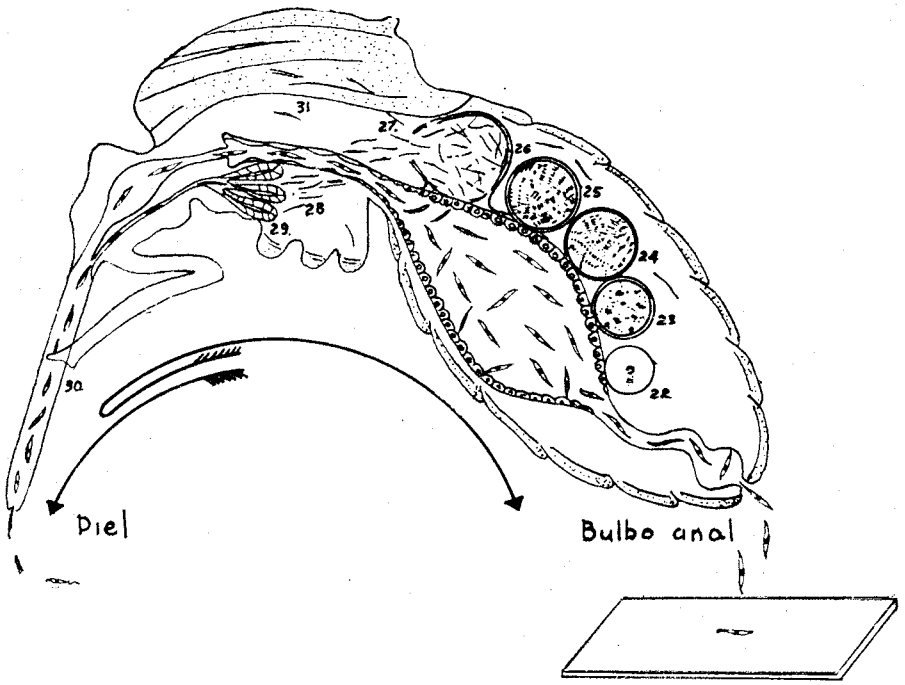
Tal hipótesis la desechamos de plano por las siguientes razones:

a) El individuo a quien se trataba de transmitir el paludismo por picadura de los anófeles que evacuaron esporozoítos, no presentó—después de múltiples exámenes de sangre—ningún esporozoíto ni otra forma cualquiera del parásito.

b) Que tales esporozoítos libres en la sangre circulante del hombre, no han sido nunca encontrados.

Cuarta hipótesis.—El zancudo que contiene esporozoítos en sus glándulas salivales, inyecta al picar—junto con su saliva—parte de estos gérmenes; otra parte es arrastrada hacia el esófago, estómago, etc., por la corriente sanguínea de dirección ascendente (contraria a la de la saliva) que se establece cuando el zancudo absorbe sangre; es decir, que estos esporozoítos arrastrados a "contra corriente" son los que aparecen en la evacuación del mosquito.

Aceptamos esta última hipótesis como la verdadera para explicar la presencia de esporozoítos libres entre los glóbulos rojos encontrados en la evacuación sanguínea del anófeles y hemos bautizado este recorrido, como "la esporofagia en el Anopheles pseudopunctipennis y recuperación de los esporozoítos en su evacuación sanguínea" (14).



El esquema muestra la probable trayectoría de los esporozoítos, que después de salir de las glándulas salivales del anófeles y pasar al esófago del mismo, suben por "sialofagia" hacia el estómago, intestino, etc., de donde salen por evacuación intestinal.

CONSECUENCIAS.

De la discusión anterior se pueden deducir las siguientes consecuencias:

Primera.—Los esporozoítos evacuados por los anófeles números 73 y 77 del IV lote, no pertenecían al sujeto a quien se estaba transmitiendo el paludismo, sino a los propios zancudos, puesto que el resto de los ejemplares del mismo lote no presentaron en sus evacuaciones estas formas infectantes del parásito.

Segunda.—La presencia de tales esporozoítos en el zancudo, puede darse como un signo cierto de que el insecto había quedado infectado, es decir, que alojaba en sus glándulas salivales las formas del parásito que señalan la fase última del ciclo esporogónico.

Frente al descubrimiento de esporozoítos en las evacuaciones sanguinolentas del zancudo y ante la interpretación que le hemos dado, se plantean las cuestiones siguientes:

¿Qué se hace el resto de los esporozoítos que se encuentran en el interior del estómago del mosquito?

¿Son digeridos? ¿Se evacuarán en su totalidad posteriormente? ¿Comienza un nuevo ciclo del parásito, hasta hoy desconocido?

La respuesta a estas otras hipótesis merecen ulteriores investigaciones.

INDUCCION PALUDICA (*)

En la inducción de la infección palúdica hay que considerar dos operaciones:

a) La infección experimental del mosquito nacido sano en el Laboratorio, por parásitos tomados de un "dador."
b) La transmisión del parásito y el desarrollo de la enfermedad en el hombre sano, por picadura de anófeles infectados.

a) *Infección del anófeles.*—Sumariamente quiero recordar que, en la sangre periférica de un individuo atacado de paludismo terciano por el Plasmodium vivax, se encuentra la mayor parte de las veces, formas diferentes del parásito que corresponden a las fases del ciclo esquizogónico: pequeños trophozoítos, grandes trophozoítos, esquizontes presegmentados, segmentados, etc., y la serie que se desvía hacia la reproducción sexuada: gametos machos o microgametocitos y gametos hembras o macrogametocitos.

El mecanismo por el cual el hombre enfermo y portador de gametos infecta al mosquito, puede esquematizarse de la siguiente manera: el mosquito al picar absorbe varias formas del parásito, las cuales, *a excepción de los gametos,* no sobreviven a la acción de los jugos digestivos (15).

Los gametos principian entonces el proceso llamado de *maduración,* en el cual hay cambios morfológicos y cambios en la cromatina nuclear, dando probablemente lugar, como en los elementos genéticos humanos, a eliminación de cromatina. (Expulsión de glóbulos polares, etc.)

(*) "Empleamos esta denominación que permite establecer una diferencia entre el paludismo provocado por *inoculación directa con sangre de palúdico* y el producido por la picadura *intencionada del mosquito infectado.*"—Nocht y Mayer (17).

Marchoux y Chorine (15), han sugerido que la acidez del medio es un factor muy importante en los procesos de maduración y fertilización; las conclusiones a que llegaron con el Hemoproteus paddæ, indican que un Ph 7.6 á 9, es necesario para que el proceso se verifique y que éste es negativo con un Ph 7.3 ó menos.

La maduración del microgametocito da lugar al fenómeno de *exflagelación* o sea la emisión de los elementos fecundantes (microgametos) en número de dos o cuatro, al cabo de 4 á 8 minutos. (Este fenómeno puede apreciarse *in vitro* bajo el microscopio).

Raffaele (15), que ha estudiado en detalle el fenómeno, describe en cada microgameto dos elementos: un flagelo citoplásmico y un delgado filamento que contiene la cromatina fertilizante.

Los cambios efectuados en el macrogametocito durante el mismo proceso de maduración, permanecen en la incertidumbre, pero se sabe que en el Plasmodium vivax no existe la partenogénesis del macrogametocito, como había sugerido Schaudinn.

La conjugación de los elementos genéticos da lugar a la formación del *oocineto* (huevo movible), el cual por movimientos propios perfora la pared del tubo digestivo y se enquista en su espesor hacia el límite externo de la pared, llamándosele entonces *oocisto* o sencillamente quiste.

Un mosquito infectado puede alojar hasta un centenar de estos quistes y no por ello se acorta la vida del insecto.

Todo este proceso se lleva a cabo en 24 ó 48 horas, teniendo entonces los quistes unas 5 micras de diámetro.

Luego el crecimiento tiene lugar rápidamente, los oocistos llegan a medir hasta 50 micras y forman entonces un tumor herniado hacia la cavidad general del anófeles.

Al cabo de 5 ó 6 días, dentro del oocisto tiene lugar la formación de esporozoítos.

Cada quiste puede encerrar hasta 10,000 esporozoítos, que al llegar a cierto grado de desarrollo, rompen la pared del quiste y caen, salvo rarísimas excepciones, en la cavidad general del anófeles.

Desde allí, a causa de sus movimientos propios, perforan el epitelio de las glándulas salivales y alojándose en sus cavidades acinosas, quedan de esta manera listos para ser inyectados junto con la saliva, en el cuerpo del hombre en la próxima picadura.

El esporozoíto, o sea la forma infectante para el hombre, es un parásito de forma alargada en huso, de 13 micras de longitud aproximadamente (doble tamaño que un glóbulo rojo normal) y provisto de grueso núcleo, que se colora fuertemente y sin dar lugar a la formación de grumos cromáticos.

Stratman-Thomas (13) haciendo estudios en el Anopheles cuadrimaculatus, estableció que la temperatura constante de 28° centígrados, es la óptima para completar el ciclo en 8 días hasta la aparición de esporozoítos en las glándulas salivales del mosquito, lo cual demuestra que las variaciones de temperatura tienen una gran influencia en el desarrollo del parásito alojado en el cuepo del anófeles y que las temperaturas bajas alargan desproporcionadamente la duración del ciclo, de tal manera, que como anteriormente se dijo, a 16 grados dura 38 días y por debajo de esa temperatura el desarrollo del parásito no se verifica.

b) Transmisión del paludismo, del zancudo infectado al hombre sano.—La condición necesaria requerida, es la presencia de esporozoítos vivos y en regular cantidad en las glándulas salivales del zancudo.

Mecanismo.—El anófeles al picar tiene que buscar, después de perforar la epidermis, la luz de un vaso para aspirar con facilidad la sangre que necesita, y decimos *buscar,* puesto que basta haber observado a cualquier anófeles efectuar su picadura, para darse cuenta que hace vàrios ensayos desde las capas superficiales, hacia las profundas y viceversa, y si no encuentra el lugar apropiado, se desprende y ensaya en otro lugar.

Al introducir la trompa, inyecta junto con la saliva y por intermitencias durante la comida, los esporozoítos infectantes.

Al llegar a este punto obscuro, con el cual principia el ciclo o los ciclos del parásito en el cuerpo del hombre, cabe hacerse la pregunta:

¿Qué se hacen los esporozoítos al penetrar en el cuerpo humano por la picadura infectante de un anófeles?

Por la picadura, es indudable que no todos los esporozoítos penetran en el torrente circulatorio en el momento en que el mosquito hace la inyección capilar, tal como los afirmaba la doctrina clásica, sino que el mosquito en sus tanteos, previos a la inyección, deposita por intermitencias cierta cantidad de esporozoítos en el tejido celular inter-capilar.

En confirmación a lo expuesto, Boyd y Kitchen (16), dan la prueba fotográfica de los esporozoítos libres encontrados por ellos fuera de los capilares, en el tejido conjuntivo adyacente a la picadura, por cortes efectuados inmediatamente después de la picadura infectante, a una profundidad de más de tres milímetros.

Estos esporozoítos no sólo fueron encontrados por ellos en el tejido conjuntivo, sino también en los cortes de un ganglio linfático inguinal extirpado 24 horas después de la picadura.

James, Kikuth y otros autores (17) piensan que con la picadura, los esporozoítos no penetran inmediatamente en el torrente

circulatorio y que cumplen un estado intermediario de reposo en pleno tejido celular sub-cutáneo, llegando hasta sospechar que sufren un cierto grado de desarrollo previo, antes de invadir los glóbulos rojos.

La experimentación hecha por Boyd y Kitchen, contradice la anterior hipótesis, ya que la excisión de los tejidos vecinos a la picadura no detiene la infección malárica.

En resumen, los esporozoítos se depositan durante la picadura, por fuera y por dentro de los capilares sanguíneos.

Por otra parte, un hecho está completamente esclarecido: los esporozoítos no penetran *inmediatamente* en los glóbulos rojos, pues de lo contrario, la sangre de un individuo en incubación de paludismo sería infectante para otro individuo inmediatamente; por ejemplo, al hacer con la sangre del primero una o varias transfusiones al segundo. En la práctica no sucede de esta manera: Boyd y Stratmann-Thomas (17), hicieron picar a un individuo por 15 anófeles fuertemente parasitados, y con la sangre de este individuo practicaron inyecciones diarias de 10 c. c. a otros tres sujetos; la sangre del individuo infectado por picaduras no fue infecciosa para los otros tres, sino a los 9, 10 y 11 días respectivamente, presentándose los parásitos típicos a los 8 días de la primera inyección de sangre.

En el individuo picado por los anófeles infectados, se produjo el ataque palúdico 11 días después.

Por su parte, Raffaele (15) confirma, al hacer estudios con el Plasmodium vivax, que la sangre de un sujeto en incubación de paludismo, no es infectante durante los cuatro primeros días subsiguientes a la picadura infectante.

Lo más aceptado, aunque muy controvertido, es que los esporozoítos pueden lograr estados de desarrollo más avanzados en las células del tejido retículo-endotelial, antes de invadir la serie roja; de donde se puede decir, que el paludismo en su principio y aún después, debe considerarse como una enfermedad del sistema retículo-endotelial.

Durante este ciclo exoeritrocítico del Plasmodium, que probablemente sería esporogónico (por diferenciación sexual de los esporozoítos), se produce la multiplicación del parásito; este ciclo de reproducción puede ser continuo y desempeñar un papel muy importante en la latencia de la infección y sus recaídas. Reginald D. Manwell (15).

En el Plasmodium relictun, el esporozoíto puede pasar estas fases de división (Knowles y Basu, 1935) en la sangre del canario y Schuleman y Spies, han confirmado el hecho con el Plasmodium gallinaceum en las aves.

Otro hecho bien establecido es que, a pesar del infinito número de exámenes que en el mundo entero han sido efectuados con la sangre periférica de individuos en incubación de paludismo, durante la infección o después de ella, *jamás han sido encontrados los esporozoítos al estado libre o invadiendo los glóbulos rojos.*

CAUSAS DE ERROR EN LA INFECCION EXPERIMENTAL Y EN LA INDUCCION PALUDICA

Sin tomar en cuenta los defectos en las condiciones dependientes del insectario: grado variable de humedad, falta de aire acondicionado, graduación de luz y de calor, que indudablemente influyen en el éxito, lo mismo que la falta de cópula en los mosquitos cautivos (nuestro trabajo fue hecho con hembras no fecundadas), (*) etc., las otras causas por las cuales se fracasa o se disminuye el tanto por ciento de los anófeles infectados, se pueden resumir de la siguiente manera:

a) No determinar la madurez en los gametos del dador palúdico, madurez que puede ser apreciada *in vitro* (exflagelación del microgametocito) como un examen previo a la infección del mosquito, y cuya técnica es la siguiente:

Se toma sangre periférica tal como se hace corrientemente, y con ella se hacen uno o varios frotes; rápidamente se colocan las láminas en un ambiente saturado de humedad (para lo cual el procedimiento más fácil consiste en colocar los frotes dentro de una caja de Petri, forrada por dentro con papel de filtro, embebido en agua); se colocan en seguida las cajas en un lugar fresco durante 30 minutos, pasados los cuales se coloran los frotes por el método de Giemsa.

Examinando las preparaciones al microscopio, se pone de manifiesto el fenómeno de la exflagelación del microgametocito, que comprueba su madurez.

b) La numeración de los gametos del dador en su sangre periférica, tiene valor en el éxito de la infección del mosquito, ya que a mayor número por campo microscópico o por milímetro cúbico, corresponde mayor probabilidad de infección.

Esta numeración debe ser hecha en vista de la cantidad y la proporción relativa de gametos hembras y machos.

Los experimentadores Aimee Wilcox y Lucile Logan (18) dan las cifras mínimas de 5 gametos hembras y 5 gametos machos

---

(*) Este dato no lo damos como rigurosamente exacto, a pesar de haber tenido sumo cuidado en separar los anófeles machos, antes de las doce horas de haber nacido. Sin embargo, creemos que el *vuelo nupcial* no pudo efectuarse, dadas las reducidas dimensiones de las cajas incubadoras.

para el Plasmodium vivax, y una mayor concentración para el Plasmodium falciparum, por campo microscópico.

Darling (15) cree que es necesaria una cantidad de 12 gametos por milímetro cúbico de sangre.

Nosotros no efectuamos dichas pruebas, por carecer del material necesario (láminas graduadas, etc.)

c) Otra causa de los probables errores, es la influencia que sobre el parásito puedan tener las *reacciones de inmunidad*—aún no claramente establecidas—de los humores del individuo enfermo, o las consecuencias que se derivan en detrimento del parásito por tratamientos anteriores (Quinina, etc.)

Bajo este punto de vista, un individuo que tuviera buena cantidad de parásitos, puede ser un *mal infectador* porque sus reacciones contra el parásito disminuyen sus capacidades reproductivas en el cuerpo del anófeles, e igual cosa podría suceder al parásito, por reacciones desarrolladas en el cuerpo del mosquito.

De las condiciones anteriores se origina la división que Boyd (19) hace de los infectadores humanos en dos categorías: *pobres* y *buenos infectadores.*

RESULTADOS DE LA INFECCION EXPERIMENTAL

Primer lote de Anopheles pseudopunctipennis.

Dadores:

a) Enfermo de 26 años, procedente de Villa Nueva, con paludismo desde hace 4 meses. Ha sido tratado con "remedios caseros." Dice no haber recibido inyecciones, ni haber tomado quinina u otro antipalúdico.

Diagnóstico clínico.—Paludismo crónico y anemia palúdica consecutiva.

Diagnóstico microscópico.—Plasmodium vivax, con abundantes gametos.

b) Enfermo de Villa Nueva, de 22 años de edad. Con "fríos y calenturas", durante 28 días; es la primera vez que padece de la misma enfermedad. Nunca ha estado en la costa. Tampoco ha sido tratado por antipalúdicos.

Diagnóstico clínico.—Paludismo agudo.

Diagnóstico microscópico.—3 exámenes de sangre: abundantes parásitos de tipo vivax.

c) Enfermo de 22 años de edad, procedente de Villa Nueva. Ha padecido de "fríos y calenturas" en 3 ocasiones. Ha sido tratado las 2 primeras por "pastillas y píldoras" y además, 7 inyecciones en la región glútea (quinina probablemente).

Diagnóstico clínico.—Paludismo crónico.

Diagnóstico microscópico.—Abundantes gametos de Plasmodium vivax.—(2 exámenes en 2 días seguidos).

Resultados:

Anopheles pseudopunctipennis nacidos en el Laboratorio y que han hecho una picadura en los dadores infectados	26
Disecciones efectuadas sobre anófeles muertos naturalmente	9
Portadores de quistes	0
Ejemplares vivos después del 10º día	17
Esporozoítos en el excremento, tomados los frotes durante la picadura	0
Tanto por ciento de infección de anófeles infectados	0%
Transmisión experimental	Negativa.

Segundo lote de Anopheles pseudopunctipennis.

Dadores:

a) Enfermo de Morán, de 51 años, con síntomas de paludismo desde hace un año, en dos ocasiones; esta última vez desde hace dos meses. Dice haber sido tratado irregularmente.

Diagnóstico clínico.—Paludismo crónico.

Diagnóstico microscópico.—Abundantes gametos de Plasmodium vivax en dos exámenes.

b) Enfermo de Petapa, de 25 años de edad. Con "fríos y calenturas" que le dan diariamente desde hace dos meses. No se ha hecho ningún tratamiento.

Diagnóstico clínico.—Paludismo agudo.

Diagnóstico microscópico.—Gran cantidad de gametos de Plasmodium vivax.

Resultados:

Anopheles pseudopunctipennis nacidos en el Laboratorio y que han hecho 2 picaduras en los dadores infectados	19
Disecciones efectuadas sobre anófeles muertos naturalmente	6
Portadores de esporozoítos en las glándulas salivales	0

Ejemplares vivos después del 10º día. 13
Esporozoítos en el excremento, tomados los frotes durante la picadura. 0
Tanto por ciento de anófeles infectados. 0%
Transmisión experimental. . . . . Negativa.

TERCER LOTE DE ANOPHELES PSEUDOPUNCTIPENNIS.

Dadores:

a) Enferma de 23 años, procedente de la Villa de Guadalupe. Con "fríos y calenturas" desde hace un mes. No ha tenido tratamiento. Estuvo en Escuintla hace 2 meses. No ha tenido ninguna manifestación de enfermedad durante su permanencia en esa ciudad.

Diagnóstico clínico.—Paludismo agudo.

Diagnóstico microscópico.—Gran cantidad de gametos, de Plasmodium vivax en 2 exámenes.

b) Enferma de la Capital, de 27 años de edad; padece de "fríos y calenturas" desde hace 7 meses. Con intervalos. Actualmente hace 15 días que no le dan ni fríos ni fiebre, sólo escalofríos por las noches. Además, padece de tos con expectoración mucosa desde hace mes y medio.

Diagnóstico clínico.—Paludismo crónico. Bronquitis crónica y anemia secundaria.

Diagnóstico microscópico.—Gametos de Plasmodium vivax en regular cantidad.

c) Enferma procedente de la finca "Eureka", de 28 años de edad. Con "fríos y calenturas" que le dan día de por medio. desde hace 22 días. No ha tenido ningún tratamiento.

Diagnóstico clínico.—Paludismo agudo.

Diagnóstico microscópico.—Abundantes gametos maduros de Plasmodium vivax en 2 exámenes.

Resultados:

Anopheles pseudopunctipennis nacidos en el Laboratorio y que han hecho 2 picaduras en los dadores infectados. 25
Disecciones efectuadas en anófeles muertos naturalmente. 12
Portadores de quistes en las paredes del estómago 0
Portadores de esporozoítos en las glándulas salivales. 0

Ejemplares vivos después del 10º día	13
Esporozoítos en el excremento de los zancudos, tomados durante su picadura	0
Tanto por ciento de anófeles infectados	0%
Transmisión experimental	Negativa.

CUARTO LOTE DE ANOPHELES PSEUDOPUNCTIPENNIS.

Dadores:

a) Enfermo de Villa Nueva, de 56 años de edad. Padece de "fríos y calenturas" desde hace dos meses, se le practicaron al principio 4 inyecciones de quinina. Ultimamente no ha tenido ningún tratamiento.

Diagnóstico clínico.—Paludismo crónico con gran esplenomegalia.

Diagnóstico microscópico. — Gran cantidad de gametos de Plasmodium vivax controlados por 2 exámenes.

b) Enfermo de Villa Nueva, de 14 años de edad. Con síntomas palúdicos desde hace más o menos, mes y medio. Fiebre continua al principio durante 10 días. Luego diariamente. Hace una semana que no tiene fríos francos, pero sí siente que le da fiebre en las mañanas antes del almuerzo. Le han hecho "remedios caseros" y tomó bromoquinina 2 días al principio de la enfermedad.

Diagnóstico clínico.—Paludismo agudo.

Diagnóstico microscópico.—Abundantes gametos de Plasmodium vivax en dos exámenes.

Resultados:

Anopheles pseudopunctipennis nacidos en el Laboratorio y que han hecho 2 picaduras en los dadores infectados	21
Disecciones efectuadas sobre anófeles muertos naturalmente	10
Portadores de quistes en las paredes del estómago	0
Ejemplares vivos después del 10º día	11
Esporozoítos en el excremento de los anófeles, tomados durante su picadura	2
Tanto por ciento de infectados	9.5%
Transmisión experimental	Positiva.

Como ya se ha dicho anteriormente, en dos ejemplares que picaron al sujeto en experimentación y que tenían 10 días de haber hecho dos comidas consecutivas sobre donadores infectados, se encontraron esporozoítos en la sangre de su defecación y se siguieron encontrando varios días después.

Con esta base se hizo el diagnóstico anticipado de la transmisión experimental del paludismo, quedando en observación el sujeto sometido a la prueba para poder medir el tiempo de incubación.

Diez y ocho días después de las primeras picaduras apareció un paludismo franco de tipo terciano (TB). (Véase la observación siguiente).

PRUEBA DE LA TRANSMISION EXPERIMENTAL

Transcribo la observación tomada por el Dr. J. Romeo de León:

"Estudiante Rafael Ramírez Rojas, quien se somete voluntariamente a la prueba experimental de la transmisión del paludismo, tipo Plasmodium vivax, por medio de las picaduras de Anopheles pseudopunctipennis.

Generales.—Rafael Ramírez Rojas, de 35 años de edad, soltero, originario de Managua, Nicaragua, y residente en la Capital de Guatemala, desde hace más de 10 años.

Antecedentes personales.—Dice haber sido siempre muy sano. Indemne de paludismo durante sus primeros 18 años, transcurridos en la Capital de Nicaragua. Habiéndose trasladado en 1925 al puerto de Corinto en la misma República, contrajo paludismo de tipo cotidiano. (No conoció la clase de parásito infectante). Estuvo enfermo durante 4 meses: fue curado radicalmente con sales de quinina *per os.* Se trasladó a la Ciudad Capital de Guatemala, donde ha permanecido ininterrumpidamente desde 1932.

Antecedentes hereditarios y colaterales.—Sin importancia.

Exámenes previos a la experimentación.

Examen general.—Individuo bien nutrido. Estatura: 1.75 metros. Peso: 186 libras. Temperatura: 37° centígrados. Pulso: 72 por minuto. Respiraciones: 18 por minuto. Presión sanguínea: 12 máxima por 6½ mínima.

Cabeza.—Cráneo normal. Ojos y nariz: normales. Boca: lengua ligeramente saburral. Dientes en buen estado (faltan dos piezas molares). Amígdalas, sanas.

Cuello.—Normal.

Tórax.—Ancho, bien musculado, sin ninguna anormalidad.

Aparato pulmonar.—Normal.
Aparato cardio-vascular.—Normal.
Abdomen.—Suave, indoloro. Hígado y bazo, normales.
Genitales.—Normales.
Sistema linfático.—Normal.
Exámenes complementarios.—Rayos X de pulmones y corazón.—El informe que tengo a la vista, suscrito por el Dr. Luis Velásquez, dice literalmente:

"En el pulmón izquierdo hay 3 pequeñas sombras en la parte superior, bajo la clavícula, con apariencia de ganglios calcificados."

Exámenes de sangre.—Recuento globular:

Glóbulos rojos	6.010,000
Glóbulos blancos	8,600
Hemoglobina	100% (Tallquist).

Fórmula leucocitaria:

Polinucleares neutrófilos	68 %
Polinucleares eosinófilos	1 „
Polinucleares basófilos	0 „
Linfocitos	14 „
Medios mononucleares	8 „
Grandes mononucleares	7 „
Formas de transición	2 „

Otros exámenes de sangre.—Investigaciones de Hematozoario: 4 exámenes en la sangre periférica: Negativos.

Como una prueba más de que el paciente estaba indemne de infección palustre, él mismo asegura que en el año de 1937, dió sangre a dos pequeñas enfermas con indicación de transfusión en el Servicio de Niñas del Hospital General, y otra nueva transfusión el año de 1940, sin que ninguna de las personas receptoras presentara síntomas de paludismo o cualquier otro accidente después de las transfusiones.

HISTORIA DE LA TRANSMISIÓN EXPERIMENTAL.

El día 3 de Marzo de 1942, sufre las primeras picaduras de anófeles que habían hecho una o dos picaduras sobre dadores palúdicos. Dichos anófeles tenían más de 8 días de incubación.

La inducción del paludismo fracasa después de espera prudencial, con los lotes números I, II y III.

Al experimentar con el lote IV, aparecen después de 18 días de las primeras picaduras, los síntomas de la enfermedad.

Se hace constar que en 2 ejemplares de este último grupo, y al décimo día de haber sido infectados, se descubre por primera vez en los frotes hechos con la sangre de los excrementos de estos mosquitos, la presencia de esporozoítos libres entre los glóbulos rojos, que presentaban igual morfología que los encontrados por la disección de glándulas salivales: elementos en huso, con núcleo cromático y de unas 14 micras de largo.

La presencia de estos esporozoítos indujo a pensar que la transmisión, esta vez, sería positiva y efectivamente, el día 16 de Mayo de 1942 se inicia la enfermedad de la manera siguiente:

El 15 de Mayo: ligeros escalofríos, malestar, falta de apetito, pero sin fiebre.

El 16 de Mayo por la tarde, hay un estado nauseoso, sensación de frío, malestar general, fuerte cefalea. Dolor en los globos oculares y en las articulaciones.

La fiebre sube sin frío franco a 39.8 grados centígrados a las 9 de la noche, hora en que se presentaron vómitos alimenticios y biliosos.

Por el examen se comprueba: fiebre 39.8°, y dolor a la palpación de los globos oculares.

El hígado se siente aumentado de volumen, ligeramente doloroso; el bazo es percutible. Por lo demás, el pulso y la presión sanguínea en relación con el grado de la fiebre.

El día 18 la fiebre sube nuevamente, precedida de frío y acompañada de transpiración abundante durante la noche, que anuncia la salida de la fiebre.

Debe hacerse notar que durante los 3 primeros días de la enfermedad, se tomó gran cantidad de frotes con resultado negativo de hematozoario. No fue sino hasta el día 18, cuando el examen de sangre dió el siguiente resultado:

"Laboratorio de Sanidad.—Muestra de sangre perteneciente a Rafael Ramírez Rojas:

Investigación de Hematozoario.—Positiva: Abundantes Esquizontes y Gametos de P. vivax.—(f) *E. Marroquín,* Jefe del Laboratorio.—Guatemala, 18 de Mayo de 1942."

Después los accesos se repiten cada dos días en número de 7, al cabo de los cuales principia el tratamiento de ataque.

Tratamiento.—Se administran 3 ampollas de atebrina por vía endovenosa, la primera de 15 centigramos y de 10 centigramos las 2 siguientes, una cada día; luego, 3 días sin tratamiento y desde el cuarto en adelante: 2 grs. de biclorhidrato de quinina (10 comprimidos en el día, de 20 centigramos cada uno), durante 18 días, tomando en total 36 gramos.

No se vuelve a presentar ningún síntoma.

Se tomaron frotes de sangre que dieron el siguiente resultado:

"Laboratorio de Sanidad.—Fórmula Leucocitaria (según Schilling):

1.—Eosinófilos segmentados	0.0	%
2.—Basófilos segmentados	0.0	„
3.—Neutrófilos jóvenes	1.6	„
4.—Neutrófilos con núcleo en cayado	6.4	„
5.—Neutrófilos con núcleo segmentado	47.2	„
6.—Linfocitos	31.2	„
7.—Mononucleares y formas de transición	13.6	„

Investigación de Hematozoario: Negativa.

Guatemala, 29 de Mayo de 1942."

(f) E. Marroquín,
Jefe del Laboratorio.

"Hemoglobina Tallquist	100%
Hemoglobina por 100 c. c.	grs.
Eritrocitos	5.980,000
Leucocitos	9,750
Valor globular	0,84
Tamaño de los eritrocitos	7,00

Fórmula Leucocitaria (según Schilling):

1.—Eosinófilos segmentados	2	%
2.—Basófilos segmentados	0	„
3.—Neutrófilos jóvenes	0	„
4.—Neutrófilos con núcleo en cayado	2	„
5.—Neutrófilos con núcleo segmentado	56	„
6.—Linfocitos	32	„
7.—Mononucleares y formas de transición	8	„

Investigación de Hematozoario: Negativa.

Guatemala, 14 de Noviembre de 1942."

(f) C. E. Urrutia,
P. Jefe del Laboratorio.

El 2 de Diciembre de 1942, o sea 6 meses después, se presenta una recaída por accesos tercianos, y el examen de sangre fue el siguiente:

"Laboratorio de Sanidad.—Sección de Malaria y Enfermedades Endémicas.—Servicio de Hematología.—Muestra de sangre perteneciente al Sr. Rafael Ramírez Rojas, ha dado el siguiente resultado:

"Investigación de Hematozoario.—Positiva: Regular cantidad de Gametos de P. vivax."

Guatemala, 4 de Diciembre de 1942."

(f) C. E. Urrutia,
P. Jefe del Laboratorio.

El paciente queda en nuevo tratamiento hasta la fecha.

Guatemala, Diciembre 10 de 1942.

(f) J. Romeo de León.

CONCLUSIONES

1ª—El Anopheles pseudopunctipennis (pseudopunctipennis) criollo de la Ciudad de Guatemala, puede ser infectado experimentalmente con Hematozoario de tipo Plamodium vivax.

2ª—La proporción de insectos infectados experimentalmente fue de 2.2% en el total de 91 ejemplares.

3ª—Dicho anófeles es capaz de transmitir experimentalmente al hombre, el paludismo terciano (TB) de tipo Plasmodium vivax, y en consecuencia, se le puede considerar como un vector potencial del paludismo.

4ª—El Anopheles pseudopunctipennis efectúa, casi en un ciento por ciento de las veces, una evacuación intestinal sanguinolenta, mientras hace su picadura, fenómeno que no encontré descrito en la literatura consultada.

5ª—Se puede diagnosticar la infección del Anopheles pseudopunctipennis sin necesidad de sacrificarlo, buscando los esporozoítos en los frotes hechos con la evacuación intestinal que efectúa en el momento de su picadura, cuando ya tiene más de 8 días de haber picado a un donador gametífero e incubado a 28 grados centígrados.

Los esporozoítos encontrados en dichos frotes, son idénticos en forma, tamaño, etc., a los que se encuentran por disección en las glándulas salivales.

6ª—Este nuevo método de diagnóstico y su técnica, descubiertos por el Dr. J. Romeo de León y usado por primera vez en el presente trabajo, puede ser aplicable a todos aquellos anofelinos que posean cualidades fisiológicas similares, es decir, que efectúen evacuaciones intestinales durante la picadura.

7ª—El ciclo esporogónico del Plasmodium vivax en el cuerpo del zancudo infectado experimentalmente, e incubado a 28° centígrados, es siempre mayor de 8 días. Este dato fue confirmado observando a nuestros *alimentadores* de Anopheles pseudopuncti-

pennis, quienes quedaron indemnes de paludismo, no obstante haber sido picados durante los días 3º, 5º y 7º que siguieron a la picadura hecha sobre dadores gametíferos.

8ª—La transmisión del paludismo terciano de tipo Plasmodium vivax al individuo sano, fue positiva cuando los anófeles transmisores tenían más de 8 días de infectados y se encontraron esporozoítos en las deyecciones de los insectos.

9ª—En todos los casos en que no se encontraron esporozoítos en las evacuaciones del zancudo, la transmisión experimental del paludismo fue negativa.

10ª—La aparición de los síntomas del paludismo terciano, tuvo lugar a los 18 días después de las primeras picaduras en el hombre sano.

11ª—Durante el período de incubación de la enfermedad y aún tres días después de haber principiado los síntomas, no se pudo encontrar en los frotes de la sangre periférica, ninguna forma del parásito malárico.

RAFAEL RAMÍREZ ROJAS.

Imprímase,

RAMIRO GÁLVEZ A.,
Decano.

REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFIA

(1) *Le Dantec.*—"Précis de Pathologie Exotique."

(2) *L. W. Hackett.*—"La Complejidad del parásito malárico." (Tijeretazos sobre malaria.—Caracas, Venezuela).

(3) *C. C. Hoffmann.*—"La Formación de razas en los Anopheles mexicanos."—An. Inst. Biol., X, 347, 1939.
J. Romeo de León.—"La formación de razas de los Anopheles guatemaltecos."—*"Ciencia"*, Vol. I, Nº 8, México, D. F., I. 10, 1940.

(4) *J. Penna y A. Barbieri.*—"El Paludismo", 1927.

(5) The Army Medical Bulletin., Nº 59.—(Special issue), January, 1942.

(6) *W. V. King y G. H. Bradley.*—"General Morphology of Anopheles and classification of the Nearctic species."—(A Symposium on Human Malaria, 1941).

(7) *J. Romeo de León.*—"Los Anopheles de Guatemala, Ciudad Capital."—(Boletín Sanitario de Guatemala, Nº 40, Diciembre 1933).

(8) *J. Romeo de León.*—Comunicaciones personales.—Septiembre 1942.

(9) *H. W. Komp.*—"Notes on the identification of Anopheles pseudopunctipennis, Theobald 1901."—June 1937.

(10) "Tijeretazos sobre Malaria", Vol. III.—Caracas, Venezuela.

(11) *L. Vargas, G. Casis* y *W. C. Earle.*—"Anopheles pseudopunctipennis, Theobald, a vector of malaria in Mexico." (The American Journal of Tropical Medicine, Vol. 21, Nº 6).

(12) *Julio Roberto Herrera.*—Comunicación personal.—Guatemala, Diciembre de 1942.

(13) *Warren K. Stratman-Thomas.*—"The influence of temperature on Plasmodium Vivax."—January 29, 1940.

(14) *J. Romeo de León.*—"Esporofagia en el Anopheles pseudopunctipennis y recuperación de los esporozoítos en su evacuación sanguínea." — Comunicación inédita, Mayo 1942.

(15) *Reginald D. Manwell.*—"The morphology, life cicle and physiology of Plasmodium Vivax."—(A Symposium on Human malaria, 1941).

(16) *Mark F. Boyd* and *S. F. Kitchen.*—"The demonstration of sporozoites in human tissues."

(17) *Bernhard Nocht Martin Mayer.*—"El Paludismo", 1938.
(18) *Aimee Wilcox* and *Lucile Logan.*—"The detection and differentiae diagnosis of malarial parasites in the Schizogonous and sporogonous cycles."
(19) *Mark F. Boyd.*—"On the varying infectiousness of different patients infected with vivax Malaria."—January, 1942.
(20) *Mark F. Boyd.*—"The comparative susceptibility of two strains of Anopheles cuadrimaculatus to infection with human Malaria parasites."

Barber, M. A.—"Further observations (1938) on the Anopheles of New Mexico." — Amer. J. Trop. Med., 19, 345.

Blanchard, R.—"Les moustiques Histoire naturelle et médicale."

Boyd, Mark F.—"Historia natural de la Malaria."—(Tijeretazos sobre Malaria, Caracas, Venezuela, 1940).

Boyd, Mark F.—"Encuestas sobre la Malaria."—(Tijeretazos sobre Malaria, Caracas, Venezuela, 1940).

Boyd, Mark F. and *S. F. Kitchen.*—"Demonstrable maturity of gametocytes as a factor in the infection of Anophelines with Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum", Septiembre 1938.

Brugsch, Theodor. — "Tratado de Patología Médica", 1933.

Brumpt, E.—"Précis de Parasitologie", 1936.

Bulletin de L'Organisation D'Higiene.—Vol. IX, Nº 2, Geneve, 1940.

Enríquez, Laffitte, Laubry, Vincent.—"Tratado de Patología Interna."—1927.

Giaquinto Mira, Mario.—"Una Nueva especie de Anopheles en Guatemala."—(Boletín de la Dirección General de Salubridad, Septiembre de 1931).

Hehis, Patrick.—"Malaria in India", Julio 1927.

Komp. W. H. W.—The anopheline Mosquitoes of the Caribbean Region, 1942.

Simmons, James Stevens.—"The transmission of malaria by the mosquitoes of North America."—(A Symposium on Human Malaria).

Simmons, J. S. and *Thomas H. G. Aitken.*—"The Anopheline Mosquitoes of the northern, half of the western hemisphere and of the Philippine Islands", January, 1942.

PROPOSICIONES

Anatomía Descriptiva	Vías motrices centrales.
Anatomía Patológica y Patología General	Corio-epitelioma.
Anatomía Topográfica	Conducto inguinal.
Bacteriología	Bacillus mallei.
Botánica Médica	Physostigma venenosum.
Clínica Quirúrgica	Inyección endovenosa.
Clínica Médica	Auscultación.
Física Médica	Higrometría.
Fisiología	Eritropoyesis.
Higiene	Profilaxia del paludismo.
Histología	Del bazo.
Medicina Legal y Toxicología	Intoxicación por la estricnina.
Obstetricia	Placenta previa.
Patología Quirúrgica	Contusiones del abdomen.
Patología Médica	Enfermedad de Hodking.
Patología Tropical	Tripanosomiasis africana.
Pediatría	Síndromo de Little.
Psiquiatría	Síndromo maníaco-depresivo.
Parasitología	Plasmodium vivax.
Técnica Operatoria	Ligadura de la arteria lingual.
Química Biológica	Reacción de Campbell.
Química Inorgánica	Yodo.
Química Orgánica	Fenol ordinario.
Terapéutica	Atebrina.