

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS



La Gota Gruesa Sanguínea

Sus Posibilidades Diagnósticas en Hematología y en Parasitología
Sanguínea.

Fundación del Departamento en el Hospital General
de Guatemala.

Experiencias Personales con 27,000 Exámenes.

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad
de Ciencias Médicas de la Universidad de San
Carlos de Guatemala, por

BIENVENIDO M. MICHELEN

Ex-interno de las siguientes salas en el Hospital General: Servicio de Emergencia, Oftalmología de Hombres, Urología Sección "A", Cirugía de Niñas, 3a. Sala de Cirugía de Hombres, Sala Cuna No. 2; y Practicante Externo de los servicios de Medicina, Cirugía y Maternidad del mismo establecimiento.

Ex-Interno de la Sala de Ginecología y de la Sala de Oncología del Hospital San José.

Ex-Interno del Hospital Militar y de la Sala de Medicina de Jefes y Oficiales del mismo centro.

Ex-Técnico de Laboratorio del LIMA HOSPITAL, Lima Nueva, Honduras. Ex-Practicante del Consultorio de la Cruz Blanca, No. 2. Ex-Catedrático de la Escuela Nacional de Bancos de Sangre.

FUNDADOR Y EX-JEFE DEL DEPARTAMENTO DE GOTA GRUESA SANGUINEA DEL HOSPITAL GENERAL.

Ex-Director del HOSPITAL NACIONAL "SAN BENITO", Departamento de El Petén; y Médico de la Base Militar de Ciudad Flores, del mismo Departamento.

NOVIEMBRE 1956

PLAN DE TESIS

- I. INTRODUCCION
- II. INTRODUCCION —Continuación—
(Bibliografía)

PRIMERA PARTE GENERALIDADES

CAPITULO PRIMERO

- I. Un Poco de Historia Sobre la Coloración y Técnica de la Gota Gruesa Sanguínea
(Bibliografía)
- II. Frote y Gota Gruesa. Estudio Comparativo
(Bibliografía)

CAPITULO SEGUNDO

Modus Operandi

- I. Equipo, Limpieza y Preparación del Material
(Bibliografía)
- II. Preparación del Colorante
- III. Preparación del Agua Destilada
(Bibliografía)
- IV. Hechura de la Gota Gruesa:
 - 1) Toma de la Sangre
 - 2) Extensión de la Muestra
 - 3) Batido (Desfibrinación)
 - 4) Secado, y
 - 5) Identificación
(Bibliografía)

V. Coloración de la Gota Gruesa:

- 1) Método Lento por Unidad
- 2) Método Lento en Serie
- 3) Método Rápido (Urgente)
- 4) Detalles a Tomar en Cuenta, y
- 5) Indicaciones Prácticas Resumidas
(Bibliografía)

SEGUNDA PARTE

SISTEMATIZACION Y EXAMEN DE LA
GOTA GRUESA SANGUINEA

CAPITULO PRIMERO

Examen Macroscópico

- I. Generalidades
- II. Hipocromía
- III. Autoaglutinación
(Bibliografía)

CAPITULO SEGUNDO

Examen Microscópico

- I. Generalidades
- II. Cuadros Normales
 - A. Elementos de la Serie Blanca
 - 1) Los Granulocitos
 - a) Granulocitos Neutrófilos
 - b) Granulocitos Acidófilos
 - c) Granulocitos Basófilos
 - 2) Los Linfocitos
 - 3) Los Monocitos
(Bibliografía)

B. Elementos de la Serie Roja

- 1) Policromasia
 - 2) Punteado Basófilo
- C. Las Plaquetas

(Bibliografía)

CAPITULO TERCERO

Cuadros Anormales

- I. Generalidades
- II. Hallazgos Hematológicos
 - A. Serie Blanca
 - 1) Leucocitosis
 - 2) Leucocitosis con Neutrofilia
 - 3) Leucocitosis con Linfocitosis
 - 4) Leucopenia
 - 5) Eosinofilia
 - 6) Conteo de Eosinófilos
 - a) Conteo Porcentual
 - b) Conteo Cubomilimétrico
 - 7) El pH y el Eosinófilo
 - 8) Basofilia
 - 9) Monocitosis
 - 10) Leucemia Linfoide
 - 11) Leucemia Mieloide
 - 12) Fórmula Leucocitaria
 - B. Serie Roja
 - 1) Policromasia
 - 2) Punteado Basófilo
- III. Manera de Informar
- IV. Hallazgos de Parásitos
(Bibliografía)

TERCERA PARTE

LOS PARASITOS DE LA SANGRE

CAPITULO PRIMERO

Generalidades

CAPITULO SEGUNDO

Los Plasmodios

- I. Clasificación
- II. Hitos en la Lucha Contra el Paludismo
 - 1) Primer Período
 - 2) Segundo Período
 - 3) Tercer Período
 - 4) Cuarto Período, y
 - 5) Quinto Período
(Bibliografía)
- III. Evolución. Ciclos, Etapas y Fases Diversas de Reproducción
 - A. Ciclo Asexual o Esquizogónico
 - B. Ciclo Sexual o Esporogónico
- IV. *Plasmodium vivax*
 - 1) Consideraciones Generales
 - 2) Morfología y Etapa Evolutiva en el Hombre
 - 3) Aspecto Microscópico en el Frote, y
 - 4) Aspecto Microscópico en la Gota Gruesa
- V. *Plasmodium malariae*
 - 1) Consideraciones Generales
 - 2) Morfología y Etapa Evolutiva en el Hombre
 - 3) Aspecto Microscópico en el Frote, y
 - 4) Aspecto Microscópico en la Gota Gruesa
- VI. *Plasmodium falciparum*
 - 1) Consideraciones Generales
 - 2) Morfología y Etapa Evolutiva en el Hombre
 - 3) Aspecto Microscópico en el Frote, y
 - 4) Aspecto Microscópico en la Gota Gruesa

VII. *Plasmodium ovale*VIII. *Infecciones Mixtas*

IX. Detalles a Tomar en Cuenta

X. Manera de Informar y Conteo de Parásitos

XI. Trastornos Hematológicos Observables en la Gota Gruesa Positiva de Plasmodio

XII. Causas de Errores y Confusiones
(Bibliografía)

CAPITULO TERCERO

Las Filarias

CAPITULO CUARTO

Los Tripanosomas

CAPITULO QUINTO

Las Borrelias

(Bibliografía)

APENDICE

FUNDACION DEL DEPARTAMENTO DE
GOTA GRUESA SANGUINEA EN EL
HOSPITAL GENERAL

- I. Palabras Obligadas
- II. Informe Sobre los 2,000 Primeros Exámenes
- III. Algunos Extractos de Observaciones Clínicas con Diagnósticos Desviados

CONCLUSIONES

- I. Para la Primera Parte
- II. Para la Segunda Parte
- III. Para la Tercera Parte
- IV. Para el Apéndice

PRIMERA PARTE

GENERALIDADES

I

INTRODUCCION

“La personalidad creadora —tanto en la medicina como en las otras ciencias— no efectúa cambios por el puro ejercicio de una poderosa voluntad (del modo que la mayor parte de las historias biográficas sugiere), sino sintetizando elementos tradicionales en nuevas formas, apenas diferentes de aquellas que las han precedido. Thomas Hardy nos ha proporcionado una excelente analogía para explicar eso que parece ser “súbitos prodigios”: “Un arrecife de coral que apenas sobresale a la superficie del océano no es, para el horizonte, más que si no hubiera nunca nacido, y el último toque es lo que con frecuencia parece crear un hecho que durante largo tiempo ha sido algo acabado.”¹

Difícilmente hubiese podido encontrar dentro de mi léxico, las palabras adecuadas para vestir con ropaje propio, los conceptos de Bernhard J. Stern; de ahí que los haga míos, exponiéndolos como cita.

Y es que al bosquejar los múltiples aspectos del presente trabajo, creí ser original en muchos de ellos, mas a medida que acrecentaba mi bibliografía al respecto, iba restringiéndose más y más mi supuesta originalidad, hasta llegar a un grado en que me di cuenta de que lo que había estado haciendo la mayor parte del tiempo era “sintetizando elementos tradicionales”, algunos de ellos “en nuevas formas, apenas diferentes de aquellas que las han precedido.”

Lo original quedaba, desde luego, como se tendrá ocasión de comprobar en el transcurso del presente trabajo, pero en una extensión menor de lo que inicialmente había supuesto.

Lo sintetizado se erguía mucho más rico y variado; algo de ello en forma nueva y, sobre todo, ordenada, como la sistematización en el estudio y examen —macroscópico y microscópico— de la gota gruesa.

Una parte de las posibilidades hematológicas de la misma fueron comprobadas más tarde en los estudios de

autores serios, consultados en el bagaje bibliográfico que en todo tiempo ha acompañado al presente trabajo.

Dichos datos, que se encontraban dispersos en obras de laboratorios unos, en tratados de medicina tropical otros y en revistas médicas los más (muchos de los cuales no habían sido suficientemente profundizados), aunados a la experiencia obtenida en el examen de miles de muestras, constituyen la parte medular del presente estudio, que más que tesis, ha resultado ser una monografía al respecto; y que en aras de la utilidad práctica que pueda ofrecer, bien puede considerársele como MANUAL DE GOTA GRUESA SANGUINEA.

La utilidad práctica no sólo deriva hacia el técnico de laboratorio, sino que resalta ostensiblemente para el médico general, que en los pueblos apartados tiene que ser, al mismo tiempo, médico, cirujano, partero y microscopista.

Y he aquí que, después de estar por varios años percutiendo sobre el mismo tema, hemos obtenido los siguientes resultados de nuestra labor:

- 1) Fundación del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea en el Hospital General de esta ciudad, cuyas motivaciones y labores iniciales se exponen al final del presente trabajo constituyendo el APÉNDICE del mismo;
- 2) Desarrollo de dos cursillos teórico-prácticos sobre EL HEMATOZOARIO DE LAVERAN EN GOTA GRUESA SANGUINEA, para los estudiantes de medicina y técnicos de laboratorio;
- 3) Conferencias y pláticas ofrecidas en la Facultad de Ciencias Médicas y en la Dirección General de Sanidad Pública;
- 4) Trabajos —en número de dos— presentados a los congresos nacionales de medicina; y,
- 5) En fin, y derivada de los puntos anteriores, la conciencia que se ha hecho en el cuerpo médico-estudiantil que labora en el Hospital General con respecto al paludismo como máximo simulador en los cuadros clínicos que a diario se presentan en dicho centro.

II

INTRODUCCION (Continuación)

Hace poco, todavía a fines de la década pasada, el paludismo en nuestro país producía de 10,000 a 15,000 defunciones anuales (a), de tal manera que, dada su importancia, toda insistencia sobre el tema es poco. De ahí que cualquier contribución a la lucha contra esta enfermedad, no importa lo pequeña que sea, debe ser divulgada y puesta en manos de personas que puedan desarrollar mejor dicha ayuda, como es el caso de nuestros médicos generales en los pueblos, con respecto a la TERCERA PARTE del presente trabajo.

En ese pasado tan cercano, de cada 100 muertes ocurridas en Guatemala, 18 se debían a la infección palúdica; esta cifra de por sí pavorosa, tomaba proporciones apocalípticas al descontar de esas 100 muertes las 36 debidas a enfermedades no previsibles (vejez, cáncer, ciertos accidentes, etc.). El dato así obtenido volvíase entonces monstruoso: de cada 64 personas muertas de enfermedades previsibles, 18 eran debidas al paludismo.

Y siguiendo con el análisis retrospectivo, podríamos seguir, diciendo: se perdían anualmente 5 millones de jornadas de trabajo las que, convertidas en pérdidas *medibles* constituyen 5 millones de quetzales por término medio. Porque las cantidades *no medibles*, las pérdidas inconmensurables en forma de apatía e inercia, reflejada en la mala y pobre producción de nuestro campesino, así como la desnutrición consecutiva a la infección crónica, constituyendo la antesala a otras enfermedades graves, vienen siendo como un problema de ajedrez con sus múltiples variantes, cada una de las cuales constituye el núcleo de otro problema.

(a) Estos datos numéricos, más los siguientes que se refieren al paludismo en Guatemala, son tomados de un artículo periodístico publicado por el Dr. Epaminondas Quintana en Abril de 1951.²

Alving expresa que: "Con toda probabilidad, el paludismo es la enfermedad que asume mayor importancia mundial. Se calcula que hay unos trescientos millones de palúdicos, con un índice de mortalidad de tres millones al año. Aparte del factor sufrimiento humano, las consecuencias de esta afección, estimadas en costo directo y en baja de producción agrícola-industrial, constituyen un serio obstáculo en el desenvolvimiento de innumerables regiones de todo el mundo."³ Y Boyd dice: "La malaria presenta un problema médico y de sanidad pública de primera magnitud, para el bienestar de la humanidad, bien sea desde el punto de vista de su esfera de actividad, morbilidad o mortalidad. Desde el primer punto de vista, existen muy pocas regiones, potencialmente favorables, donde no se haya introducido y arraigado endémicamente. Como causa de morbilidad está a la cabeza de las otras infecciones, y como causa de mortalidad, es formidable."⁴

Con la creación, en 1955, de la División de Malaria y Fiebre Amarilla, adscrita al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, la lucha contra este flagelo, que se ha sentido con derecho a domicilio hasta en el último rincón de nuestro suelo, se ha iniciado por primera vez de manera técnica y coordinada.

Técnica hasta el grado máximo, porque en contraste con las campañas anteriores cuyas metas eran las de *control*, la actual, más ambiciosa, persigue la completa *erradicación* de la enfermedad.

Coordinada, porque es una campaña cuyas actividades se desarrollan, no sólo dentro de los límites del territorio guatemalteco, sino que también se compaginan íntimamente con las de los demás países de Centro América y Méjico.

¡Y por primera vez en la Historia de la Patria Grande, el redescubrimiento y estudio de nuestra común Patología Geográfica se superpone a nuestras mezquinas y estereotipadas geografías políticas!

Las autoridades correspondientes deben de estar seguras de que las inversiones que se hagan a este respecto, producirán crecidos dividendos en forma de salud y productividad, ya que se ha comprobado de manera palpable, una reducción de casos de paludismo en los hospitales de la República; reducción que ha corrido paralela a las actividades desarrolladas por la división antes mencionada.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Stern, Bernhard J.: Los Progresos de la Sociedad y de la Medicina. Editorial Americalee, Buenos Aires, ps. 68 y 69.
- 2.—Quintana, Dr. Epaminondas: No es Insensatez, es Ignorancia. El Imparcial, 20 de Abril de 1951, Guatemala, p. 3.
- 3.—Alving, Alf. S.: Búsqueda de Mejores Drogas Anti-palúdicas. Abbotterapia, N° 107, p. 2.
- 4.—Boyd, M. F.: Am. J. Trop. Med. 19:1, 1939.

CAPITULO PRIMERO

I

UN POCO DE HISTORIA SOBRE LA COLORACION
Y TECNICA DE LA GOTA GRUESA

En el año 1879, Ehrlich logra hacer la diferenciación de los colorantes en ácidos y básicos;¹ y por primera vez se da una explicación, *microquímica* podríamos decir, de los diferentes colores que toman los elementos figurados de la sangre.

El 6 de Noviembre de 1880, Charles Louis Alphonse Laveran, cirujano militar francés destacado en Constantine, Algeria, descubre el parásito del paludismo en una muestra de sangre fresca, tomada de paciente tenido clínicamente como palúdico.² Estaba efectuando el examen microscópico de un cuerpo esférico pigmentado, cuando súbitamente vió proyectarse varios "flagelos" de la superficie de dicho elemento (microgametos), al cual llamó *Oscillaria malariae*.^(a)

Desde ese momento en adelante es imposible delimitar los campos históricos precisos de la creación y uso de nuevos colorantes y de los estudios de los parásitos del paludismo, iniciados con el descubrimiento de Laveran. Ambos hechos se complementan de tal manera que, aún hoy, 75 años después, siguen estimulándose recíprocamente.

El primero que logró ver el parásito coloreado fué Marchiafava, en 1883, quien usando azul de metileno en un frote de sangre, constata los trofozoítos pequeños (formas en anillos); esto le dió base para negar la validez del descubrimiento de Laveran y creer que el único parásito productor del paludismo en el hombre era el descubierto

(a) Este género —*Oscillaria*— con que se bautizó al parásito del paludismo, no pudo sostenerse mucho tiempo debido a que ya existía un ser organizado clasificado bajo esa denominación. (Leyes de Prioridad en las Reglas Internacionales de Nomenclatura Zoológica).

por él, sin darse cuenta, desde luego, que ambos estaban en lo cierto, con la diferencia de que habían observado el parásito en diferentes estadios de su evolución.³

En San Petersburg, Rusia, en 1891, Romanowsky logra ser la primera persona que, en frotos sanguíneos, colorea el núcleo del parásito, dando así un impulso enorme al estudio morfológico del mismo.

Con este investigador se inician las coloraciones policromas, de capital importancia en los exámenes y estudios de preparaciones microscópicas, tanto hematológicas como parasitológicas.

Usando una mezcla de azul de metileno y eosina, ambas en solución alcalina, Romanowsky logra colorear una porción del núcleo del parásito (la cromatina), tomando ésta un tono carmesí o "rojo-rubí". Sin embargo, la técnica no siempre daba los efectos que se esperaban debido a que el autor desconocía los principios fundamentales de la coloración.^{1a}

No fué sino más tarde que se descubrió que el efecto Romanowsky se debía a una substancia que Nocht (1898) denominó *Rojo de Azul de Metileno*; Michaelis (1901) reconoció esa substancia como *Azur de Metileno*, fundamentando sus investigaciones en los estudios previos de Berthsen (1885).

Quedaba demostrado, por consiguiente, que la substancia por la cual la cromatina nuclear tomaba la coloración roja era el azur de metileno. Por ese mismo tiempo Reuter, Ziemann y Leishman mejoraban los métodos de coloración.⁴

En 1902, Gustavo Adolfo Giemsa, basándose en los estudios anteriores logra, por un procedimiento secreto, aislar el azur de metileno al cual denominó Azur I. Mezclando ese componente con el azul de metileno en partes iguales, obtiene el eosinato de Azur II. A la substancia así obtenida le agrega una pequeña cantidad de Azur II, puro, y por primera vez se logra obtener un colorante en polvo que disuelto en glicerina y alcohol metílico mantiene sus cualidades por tiempo indefinido. Bastaba, en el momento preciso de ser usado, mezclarlo con agua destilada neutra o ligeramente alcalina, en proporciones pre-establecidas, para obtener bellas coloraciones policromas, siempre las mismas en calidad e intensidad.

Dos años después (1904), la Casa Grüber preparaba el producto para la venta.^{1a}

En el mismo año en que Giemsa lograba preparar su fórmula definitiva, surgía la gota gruesa sanguínea, cuando Sir Ronald Ross presentaba su trabajo: *METODO MEJORADO PARA EL DIAGNOSTICO DE LA FIEBRE INTERMITENTE*, ante el Instituto de Salud Pública en Londres.^{1b}

En él exponía sus investigaciones desde sus experimentos iniciales en 1895, para la búsqueda de un método más rápido y más seguro que pudiese poner en evidencia el hematocario.

"Es una coincidencia", dice Aimee Wilcox, "que la técnica de la gota gruesa sanguínea, ahora reconocida como el método más seguro para el diagnóstico de la malaria, y el colorante Giemsa, el más satisfactoriamente usado aún con este método, hayan sido puestos en uso casi al mismo tiempo, aunque pasó un número de años antes de que los dos fuesen usados juntos en gran escala."^{1a}

Sir Ronald Ross secaba la muestra de sangre sin fijarla, y la hemolizaba haciendo actuar una solución acuosa de eosina durante quince minutos. Lavaba e inmediatamente después coloreaba con azul de metileno. La preparación estaba, entonces, lista para ser examinada. Una muestra, decía él, tomada y preparada de esa manera, era 25 veces mejor para el diagnóstico del paludismo que un simple frote sanguíneo coloreado; además de que, en igualdad de tiempo, se podía examinar de 16 a 30 veces más sangre.

Después se sucedieron otros investigadores buscando mejorar el método. Unos tratando de combinar la hemólisis con la fijación, ya fuese con alcohol y éter; ácido acético y formalina o con una mezcla de alcohol y ácido clorhídrico al 1% (Williams M. James, 1911). A pesar de todo y de las múltiples innovaciones que se le han querido introducir a la técnica de la gota gruesa, los principios fundamentales enunciados por Sir Ronald Ross en su trabajo original: secado sin fijación y hemólisis, han permanecido incommovibles hasta la fecha.

En 1907, Alemania envía al Africa Oriental una expedición dirigida por Koch para el estudio de la enfermedad del sueño. En la búsqueda microscópica de los tripanosomas los miembros adoptan la gota gruesa como rutina; y aportan a la técnica de la misma, un hecho por ellos comprobado: el agua del Giemsa diluido servía como hemolizante, al mismo tiempo que el proceso de coloración seguía su curso.^{1a}

He aquí una adquisición de gran valor, ya que disminuyendo los tiempos de coloración —un solo lavado— la manipulación es menor y por consiguiente, no sólo se ahorra tiempo sino que el procedimiento adquiere mayor exactitud.

Dicha expedición dió a la gota gruesa el espaldarazo que la consagró, desde ese momento, como método superior al frote para la investigación de protozoarios en la sangre circulante.

En los Estados Unidos de Norteamérica se usaron indistintamente varios procedimientos. Al principio, la Sección de Malaria del Servicio de Salud Pública empleaba, para sus encuestas parasitológicas, el procedimiento de Williams M. James; después se sucedieron las modificaciones de Taylor, Mayne y las de S. P. James (1920) quien hemolizaba la gota gruesa de sangre con agua corriente durante 10 minutos.^{1c}

Pero no fué sino hasta 1924 cuando nuestros países —incluyendo los Estados Unidos de Norteamérica— empezaron a usar las modificaciones a la técnica de la gota gruesa introducidas por Barber y Komp; modificaciones que llenaban casi todas las necesidades requeridas para evitar los errores producidos por el material utilizado, y la toma y coloración de las muestras en unidades o en series.⁵ La hemólisis y coloración simultáneas, usada por estos autores, era sensiblemente la misma que introdujeron los componentes de la expedición alemana anteriormente citada.

La imposibilidad en que se encontraron las naciones aliadas para conseguir el colorante Giemsa europeo durante la guerra pasada, dió base y estímulo a los investigadores de este lado del océano para el estudio y producción de los componentes del mismo. Y el resultado ha sido halagador, pues actualmente existe en el mercado el colorante Giemsa en polvo, producido por varias casas norteamericanas.

El Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General ha usado más de uno de dichos productos y ha podido constatar los buenos resultados de los mismos. Tales resultados se consiguen siempre que el producto sea aconsejado o certificado por la Oficina de Estandarización de Colorantes Biológicos de los Estados Unidos de Norteamérica.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Wilcox, Aimee: Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 33.
 - 1a. Id. p. 34
 - 1b. Id. p. 38
 - 1c. Id. p. 35
- 2.—Russell, Paul F., West, Luther S. and Manwell, Reginald D.: Practical Malariology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, 1946, p. 6.
- 3.—Bispham, William N.: Malaria: Its Diagnosis, Treatment and Prophylaxis. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1944, p. 6.
- 4.—Nocht, Bernhard und Mayer, Martin: Die Malaria, Verlag von Julius Springer. Berlin, 1936, p. 113.
- 5.—Barber, M. A. and Komp, W. H. W.: Some Modifications of Thick Film Method in the Examination of Blood for Malaria Parasites. United Fruit Co., Boston, Mass.

II

FROTE Y GOTA GRUESA

ESTUDIO COMPARATIVO

Para llegar al diagnóstico positivo del paludismo es necesario poner en evidencia el hematozoario. E inversamente, se puede asentar que todo cuadro clínico rotulado como palúdico debe considerarse un simple diagnóstico provisional mientras no se demuestre la existencia del parásito por medios directos, es decir, a través del examen microscópico.

A este respecto M. F. Boyd¹ hace ver la improbabilidad de que los métodos indirectos —no importando la alta especificidad que éstos puedan tener— lleguen a desplazar las búsquedas directas ya que “La conveniencia y simplicidad del método y lo incontrovertible de los hallazgos positivos mantendrán el examen microscópico en primer lugar.”

Y a mayor abundamiento, Craig y Faust² dicen: “El diagnóstico exacto del paludismo consiste en la demostración de los parásitos en la sangre del paciente.” Y no por lacónico, menos concluyente, Bispham³ expresa: “El examen microscópico de la sangre es el único método para llegar al diagnóstico positivo en las infecciones palúdicas.”

Dejando a un lado el examen microscópico de sangre fresca, el de la muestra obtenida por punción esternal y el del producto colectado por escarificaciones en diversas regiones de la piel^(a) por razones que no compaginan con el presente trabajo (el primero por la inseguridad en poner en evidencia el hematozoario en muestras positivas, aun en manos expertas; los otros dos, porque para manejarlos eficientemente hay que dominar la técnica del fro-

(a) Este último método se muestra bastante promisorio. La abundancia del parásito en las muestras obtenidas por escarificación parece ser debida a un mayor depósito del hematozoario en el Sistema Reticulo Endotelial, parte del cual está formado por elementos histológicos de la piel.

te y de la gota gruesa), nos concretaremos, como lo informa el título del presente capítulo, al estudio comparativo de los dos métodos que puestos en práctica convenientemente, pueden dar resultados más aceptables, aun en manos de médicos generales no familiarizados con las técnicas de microscopía.

En el frote sanguíneo(b) los elementos figurados se encuentran en un mismo plano y por consiguiente en un solo espesor, siendo éste determinado, única y exclusivamente, por el espesor de cada uno de los elementos de la serie roja o blanca; debiendo de estar prudentemente separados unos de otros, para obtener los mejores resultados en el momento de la fijación, coloración y examen microscópico del mismo.

Se ha calculado⁴ que para producir trastornos perceptibles clínicamente, el hematozoario debe de estar en una concentración de 1×100.000 glóbulos rojos, en el supuesto de que el enfermo tuviese la cantidad media normal de estos elementos por milímetro cúbico de sangre. En otras palabras, para llegar al *umbral clínico* son necesarios 50 parásitos por cada 5,000.000 de glóbulos rojos. (c)

Estos datos más o menos aproximados nos darán idea del trabajo agotador a que se ve sometido el microscopista que trata de investigar el hematozoario en el frote sanguíneo de un palúdico incipiente, ya que tiene que hacer pasar bajo su vista una cantidad que oscila alrededor de los 100.000 glóbulos rojos, examinándolos hasta donde es posible uno por uno, para lograr visualizar unos cuantos parásitos en la cantidad de elementos figurados acabada de mencionar.

Cien campos microscópicos, dice James,^{1a} en un frote corriente son examinados en 10 minutos. Este rendimiento nos parece muy pobre a primera vista, pero es

(b) Para la hechura de un buen frote sanguíneo remitimos al lector, como recordatorio, a cualquier libro de hematología, laboratorio o Patología Tropical.

(c) No está de más encarecer al lector la prudencia con que se deben tomar los datos numéricos en disciplinas biológicas; más aún en Fisiopatología, en donde las causas que influyen en los fenómenos no sólo son difíciles de encontrar, sino que también imposibles, la mayoría de las veces, de expresar en cantidades medibles.

todo lo contrario si se piensa que en cada campo hay múltiples elementos figurados, los cuales tendrán que ser examinados con atención.

De ahí que los autores que tratan sobre este asunto recalcan la necesidad de darle a cada frote un tiempo de examen de 15 minutos según unos, y de 30 minutos según otros.

La experiencia del autor del presente trabajo le obliga a inclinarse a favor de estos últimos, ya que trabajando en un microscopio corriente (Bausch and Lomb, 970 aumentos), cada campo comprenderá, casi siempre más de un centenar de glóbulos rojos; lo cual le obliga a examinar varios miles de estos elementos antes de rotular la muestra como negativa; trabajo que no le llevaría menos de los 30 minutos calculados por los autores del último grupo mencionado en el párrafo anterior.

Otro factor que se debe tomar en cuenta tratándose del frote sanguíneo y que va en detrimento de la efectividad de éste, sobre todo cuando hay que hacer exámenes en serie en busca del hematozoario, es el fenómeno que llamo *hipnosis óptica*. Es la tendencia del microscopista de concentrar la mirada nada más que en el centro de los campos que se examinan, cuando éstos se suceden uno tras otro, de manera continua, rápida y por centenares; de tal manera que los elementos normales o anormales contenidos en cada uno de ellos no son examinados en su totalidad.

Invirtiendo media hora en cada frote difícilmente se puede examinar más de 16 muestras en un día; las últimas de las cuales, por lo tedioso del procedimiento, son examinadas por el técnico convertido casi en un autómata. De ahí que es prudente tomar unos 10 minutos de descanso por cada hora de trabajo microscópico continuo; éste será entonces más eficiente, ya que el automatismo no hará presa en la responsabilidad del técnico microscopista, ni obnubilará la conciencia del mismo.

La gota gruesa es un método mediante el cual una cantidad de sangre mucho mayor que la utilizada en la confección de un frote, es examinada en un tiempo mucho menor que el empleado en el examen de este último.

Es, por consiguiente, un método no sólo de concentración o enriquecimiento, sino que también de ahorro de tiempo. Difícilmente podremos encontrar otros métodos de laboratorio que gocen de esta dualidad: mayor eficiencia y disminución del tiempo empleado en el examen.

Esto es posible debido a que la cantidad de sangre que se utiliza es extendida en un área relativamente pequeña, en forma de círculo, con diámetro un poco menor de los 2 centímetros. La diferencia entre el frote corriente y la muestra así preparada salta a la vista inmediatamente; de ahí el nombre de gota gruesa dado a esta última. (d) Y si en aquél es indispensable conservar —previa fijación— la morfología del glóbulo rojo; en ésta se trata de hacer todo lo contrario: destruir por hemólisis los glóbulos rojos. Esto hace que la preparación sea ópticamente más homogénea, permitiendo así el examen microscópico en todo su espesor por medio de la luz transmitida.

Y como veremos más adelante, la preparación de la gota gruesa es mucho más sencilla que la de un frote bien logrado; tanto, que una vez se le ha visto hacer, la hechura de la misma no ofrece ninguna dificultad para el principiante.

La gota gruesa preparada por Sir Ronald Ross (inventor e introductor del método), era 25 veces mejor para el diagnóstico del hematozoario que el frote ordinario; además, a igualdad de tiempo empleado en el examen de ambos, con aquélla se examinaba de 16 a 30 veces más sangre.⁵

De aquel entonces a esta parte, en la preparación de la gota gruesa se ha ahorrado varios tiempos y manipulaciones (véase más arriba UN POCO DE HISTORIA SOBRE LA COLORACION Y LA TECNICA DE LA GOTA GRUESA) que la han hecho más exacta; y así podemos decir con W. M. James que un campo de gota gruesa equivale a 30 o 50 campos de un frote corriente. Para otros (Schüffner y Swellengrebel)^{5a} 10 a 50 campos en frote equivalen a uno de gota gruesa. Para el Dr. Ernesto Icaza⁵ 10 campos microscópicos en gota gruesa equivalen a 400 campos en el frote corriente. Lo que equivale a decir, que si esos 10 campos llevan unos segundos en ser examinados en gota gruesa, en frote corriente los 400 campos tendrían que ser vistos, por lo menos, en 40 minutos, trabajando con rapidez. Huelga hacer hincapié en esta diferencia de tiempo.

Para comprender mejor la elasticidad de dichos datos, comparo la gota gruesa a una lente plano-convexa (la

(d) Frote Grueso (Thick Smear) de los ingleses y norteamericanos; Gota Espesa (Goutte Epaisse) de los franceses y Preparación en Gota Gruesa (Dicken-Tropfen-Präparat) de los alemanes.

base o plano descansando sobre el porta-objeto): a medida que se pasa de la periferia al centro, la cantidad de sangre a examinar en cada campo irá siendo mayor, conforme va aumentando el espesor de la misma. Esta lente plano-convexa se hace más ostensible si para su secado invertimos la lámina porta-objeto.

Todos los que manejan la gota gruesa conocen el hecho de que hay campos —en la periferia— equivalente a uno de frote corriente con sus escasos elementos figurados; circunstancia que nos será de utilidad según veremos más adelante. Pero a medida que nos elevamos en la supuesta convexidad, el número de planos ópticos va aumentando y por consiguiente, aumenta también la probabilidad de encontrar el hematozoario.

¿Qué tiempo dar al examen de la gota gruesa? Las opiniones a este respecto discrepan muy poco. En lo que se está totalmente de acuerdo es que el método acorta drásticamente el tiempo a emplear.

Unos investigadores fijan un tiempo límite. Otros, aduciendo razones de cálculo prefieren que el técnico microscopista examine un número determinado de campos microscópicos. Ambas tendencias tratan de eliminar las fallas en la que interviene un indiscutible factor personal; pues, como dice Barber,⁷ “El tiempo empleado varía con el examinador, ya que es difícil *standardizar* habilidad, experiencia y sobre todo conciencia.”

Mi experiencia me obliga a emplear un tiempo no mayor de 5 minutos en cada preparación,^e salvo casos especiales en los cuales queramos obtener otros datos —como los hematológicos que estudiaremos más adelante— o estemos en la búsqueda de otros protozoarios sanguíneos.

Dice Aimee Wilcox^{5b} que un técnico entrenado puede examinar 100 campos microscópicos de gota gruesa en el término de 3 a 5 minutos. Sin embargo, se puede sobrepasar este número sin mayor esfuerzo y hacerlo llegar a 150 o 180 en el tiempo límite. Un principiante deberá examinar un número de campos no menor de 200, antes de rotular como negativa un gota gruesa sanguínea, no importando, desde luego, el tiempo que emplee para ello.

(e) Tiempo que hemos tomado como rutina en el Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General de Guatemala.

Con el fin de seguir alguna pauta al respecto, Barber y Komp^{1b} examinaron una serie de 65 gotas gruesas con el siguiente resultado: Encontraron 29 positivas, cuando emplearon 10 minutos para el examen de cada una de ellas; igual número de hallazgos positivos obtuvieron empleando 5 minutos en la búsqueda del plasmodio en cada una de esas mismas muestras; y por último emplearon 3 minutos para cada una, encontrando 28 positivas. Los resultados son muy demostrativos, pues parecen ser suficientes 5 minutos para cada muestra, salvo como dije más arriba, que se trate de obtener otros datos además de la simple presencia o ausencia del hematozoario.

Muchas veces, como sucede en las infecciones masivas, los hematozoarios se encuentran al sólo enfocar la preparación. En este caso hay que seguir con el examen de la muestra para poner en evidencia alguna posible infección mixta. De la misma manera se debe proceder cuando se encuentran uno o dos parásitos en un número determinado de campos microscópicos; hay que insistir en el examen por un tiempo prudencial para lograr, no sólo el diagnóstico de la especie (véase más adelante), sino que también para poder establecer los diversos estadios evolutivos de ésta; dato, este último, que debidamente aprovechado por la clínica, puede ser de gran utilidad.

De tal manera que en un trabajo corriente —encuesta o rutina— el técnico puede examinar alrededor de 9 gotas por hora o sea un total de 70, más o menos, en la jornada de trabajo. Compárese este rendimiento con el que produce el método del frote y tendremos otra de las ventajas indiscutibles de aquélla sobre ésta.

En cuanto a la mayor probabilidad de encontrar el hematozoario por ambos métodos, he aquí los resultados de unos pocos de los muchos estudios que se han llevado a cabo, y que están a favor de la gota gruesa.

Los colaboradores de Von Ezdorf encontraron cuatro veces más positivas por el método de la gota gruesa que por el del frote, en una serie de 3,613 muestras; además de que el tiempo empleado en aquélla fué de un sexto del empleado en el frote corriente.

En un estudio de 749 casos de malaria, F. B. Johnson obtiene 95.5% de positivos por medio de la gota gruesa y únicamente 62% por medio del frote. Este 33.5% de ventaja en la exactitud de aquélla es suficiente para descartar definitivamente el frote en la investigación del hematozoario.

Sinton y Banerjea⁸ hacen estudios sobre 10 casos comprobados de *P. vivax* y otros 10 casos, también comprobados de *P. falciparum* y obtienen el siguiente resultado:

	P. VIVAX		P. FALCIPARUM	
	Frote	Gota Gruesa	Frote	Gota Gruesa
Proporción de parásitos encontrados en 100 campos microscópicos.	1	4	1	26
Proporción de parásitos encontrados en dos minutos de examen.	1	7.7	1	22
Tiempo necesario, expresado en segundos, para encontrar el primer parásito.	6.6	1	23	1

Como corolario de los dos atributos principales de la gota gruesa —concentración y ahorro de tiempo— resultan otras muchas ventajas que se encuentran implícitas en el estudio anterior: 1) En los casos en que descartar o poner en evidencia el hematozoario es de urgente necesidad. 2) En casos de paludismo reciente o a la inversa, de paludismo crónico, en donde la parasitemia es de baja concentración.

En mi opinión, de acuerdo a la experiencia obtenida, también la gota gruesa tiene ventajas sobre el frote corriente, en el diagnóstico de la especie, por más que la mayoría de los autores expresen que siempre es necesario el estudio del frote que inexorablemente —dicen— debe de acompañar a la gota gruesa; ya que en éste las condiciones que se presentan para el estudio morfológico del parásito (integridad del glóbulo, un solo plano óptico, etc.) son óptimas.

De esta opinión tan generalizada, participan todos los laboratoristas y técnicos microscopistas que hemos consultado. “Para diagnosticar la especie”, dicen ellos, “hay que hacer el frote y estudiarlo; y de preferencia hacer la gota gruesa en el extremo del frote.” También es así como lo expone la mayoría de las obras que tratan de este supuesto inconveniente o desventaja de la gota gruesa.

En ocasión en que presenté al Segundo Congreso Nacional de Medicina el trabajo intitulado FUNDACION DEL DEPARTAMENTO DE GOTA GRUESA SANGUINEA EN EL HOSPITAL GENERAL DE GUATEMALA^(f) se me preguntó la razón por la cual no hacía el frote (extendiéndolo en la misma lámina que la gota gruesa) como era de recomendar, para el diagnóstico de la especie de hematozoario.

Contesté con los siguientes argumentos y poco más o menos con estas palabras:

Si consideramos a la gota gruesa como un método de concentración o enriquecimiento, como en verdad lo es, se tendrá ocasión de ver, en un corto espacio de tiempo, varios, sino muchos parásitos en la muestra (toda vez que sea positiva); cosa que no sucede siempre en el frote, en donde mucha veces hay que emplear el tiempo limite en su totalidad —media hora— para ver uno o dos parásitos en total.

Los que están familiarizados con ambos métodos habrán notado con seguridad, la dificultad de encontrar uno o dos hematozoarios en el frote, cuando la gota gruesa ha sido calificada con una (X) de hematozoario (Véase más adelante la manera de informar).

Después les hice la siguiente comparación:

Cuando por sobre nuestras cabezas pasa volando un ave, difícilmente podemos darnos cuenta de algo más que eso; fuera, tal vez, del tamaño o algún otro detalle grueso. Pero si en vez de pasar una, pasan varias o pasa una bandada, podremos obtener otros datos, según los detalles que vayamos percibiendo, no en una de ellas, porque sería imposible obtener todos los datos de una sola, sino que en todas y cada una de las que vayan pasando por nuestra vista, en distintas proyecciones o ángulos de visión. Por acá percibiremos el tamaño, por allá el color, por acullá la forma del cuello, etc.

Lo mismo, decía, sucede con el frote —el caso de un solo pájaro— y con la gota gruesa —el caso de la bandada—.

En apoyo de esta opinión a primera vista presuntuosamente viene Aimee Wilcox en el Boletín No. 180 del Instituto Nacional de Salud Pública de los Estados Unidos, cuando

(f) Congreso celebrado a mediados de Noviembre de 1951.

dice en la página 5, refiriéndose a la gota gruesa que "... puede ser de gran ayuda, debido a la aumentada densidad de los parásitos, en identificar el tipo de malaria, en casos en que solamente una o dos formas jóvenes pueden ser encontradas en el frote."

M. F. Boyd^{1c} dice también: "Un microscopista experimentado puede, sin embargo, frecuentemente hacer diagnósticos específicos con sólo la gota gruesa."

El Dr. Icaza, ya mencionado anteriormente, Jefe del Laboratorio del Hospital Santo Tomás, de Panamá, expresa a este respecto: "Sin embargo, la experiencia y el estudio dejan en la mayoría de los casos muy poca duda en su clasificación".^{6a}

Para mayor peso aduzco como apoyo a mi opinión, la experiencia de mi maestro Dr. J. A. Newbery, Ex-Jefe del Laboratorio del Hospital de Lima Nueva, Honduras (1940-42), quien no usaba el frote como medio de clasificación, ni me lo requería —desde luego que después de un lapso prudencial de entrenamiento— en mis trabajos como técnico de laboratorio durante mi permanencia en dicho centro.

Al principiante le aconsejamos efectuar los estudios con ambos métodos. En sus investigaciones iniciales tal vez se contente con diagnosticar el hematozoario en la gota gruesa y diagnosticar la especie en el frote. Pero a medida que vaya familiarizándose con el *modus operandi* de aquélla, se recurrirá menos y menos frecuentemente al frote, hasta hacerlo innecesario. (g)

Y así seguiríamos aduciendo datos, razones, etc., en favor del método que motiva el presente trabajo, pero no se continúa para no caer en redundancia. Bástenos decir por último, que el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de Norte América lo usa rutinariamente desde 1928.

(g) El estudio detallado del diagnóstico de las distintas especies de hematozoario en frote y en gota gruesa se hará más adelante (TERCERA PARTE, CAPITULO SEGUNDO).

BIBLIOGRAFIA

Y <

- 1.—Boyd, M. F.: *Malariology*. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, 1949, Vol. 1, p. 155.
 - 1a. Id. p. 170
 - 1b. Id. p. 170
 - 1c. Id. p. 172
- 2.—Craig, C. F. y Faust, E. C.: *Parasitología Clínica*. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, México, 1951, p. 230.
- 3.—Bispham, W. N.: *Malaria: Its Diagnosis, Treatment and Prophylaxis*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1944, p. 89.
- 4.—James, W. M. (1911). Practical Value of the Ross Thick Film Method in the Diagnosis of Malaria. *South Med. J.*, 4:688. Citado por Wilcox, A. en *Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man*. U. S. Public Health Service, Washington, D. C. Bulletin No. 180, p. 6.
- 5.—Wilcox, Aimee: *Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man*. National Institute of Health, Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 6.
 - 5a. Id. p. 6
 - 5b. Id. p. 7
- 6.—Icaza, E.: *El Uso de la Gota Gruesa en Hematología Clínica*. Memoria del IV Congreso Médico Centroamericano. Tipografía Nacional, Guatemala, C. A. Febrero de 1938, p. 184.
 - 6a. Id. p. 190
- 7.—Barber, M. A. (1936). The Time Required for the Examination of Thick Blood of Films in Malaria Studies, etc. *Am. J. Hyg.*, 24:25. Citado por Aimee Wilcox en Ref. No. 5.
- 8.—Sinton y Banerjea. Cuadro expuesto por Joyeux, Ch.: *Precis de Medicine Coloniale*, Masson et Cie. Paris, 1944, p. 724.

CAPITULO SEGUNDO

MODUS OPERANDI

I

EQUIPO, LIMPIEZA Y PREPARACION
DEL MATERIAL

He aquí la lista de los implementos y material necesarios e indispensables para el trabajo en gota gruesa:

- 1) Alcohol etílico o éter sulfúrico.
- 2) Algodón hidrófilo esterilizado.
- 3) Lanceta automática o cualquiera de sus equivalentes.
- 4) Colorante Giemsa.
- 5) Agua destilada; en su defecto agua hervida corriente.
- 6) Bicarbonato de Sodio.
- 7) Papel indicador del pH.
- 8) Láminas porta-objetos.
- 9) Microscopio con su correspondiente lámpara.

En seguida, una explicación somera de la razón de ser de dicha lista:

1) *Alcohol Etílico o Eter Sulfúrico.* El alcohol que se usa corrientemente para la antisepsia de la región a pinchar es de 85°; parece ser que llena las condiciones necesarias para desempeñar su cometido, siempre que se use convenientemente: hay que frotar energicamente la región con el algodón embebido en alcohol, no sólo para producir una mayor congestión, sino que para obtener un efecto de limpieza o arrastre de cuerpos extraños (partículas de tierra, microbios, esporas, etc.) que harían menos nítida la preparación, confundiendo, por consiguiente, al principiante. Si el algodón resultase sucio —color de tierra— después de esta maniobra (caso muy común debido a las condiciones higiénicas en que ingresan los enfermos a

nuestros hospitales), habría que repetirla con otro nuevo, hasta que se cumpla con la limpieza primero y con la antisepsia después. Insistiendo en estos detalles se evitan infecciones que no por pequeñas son menos molestas.

Una vez cumplido esto, será necesario esperar que el alcohol se evapore; o se secará con otro algodón, siempre estéril, evitando así que la sangre se mezcle con dicho líquido, que siendo un fijador potente, impediría la total hemólisis ulterior de la muestra, inconveniente este, que no deja de ser grave.

Hay técnicos que se inclinan por el uso del éter. Este, como el alcohol, tiene sus ventajas y desventajas: disuelve las grasas y se evapora más rápidamente. Hay personas, sin embargo, a quienes molesta más el olor del éter que el del alcohol (ya que aquél, dicen, "huele a sala de operaciones"), agregándose esta molestia a la del futuro pinchazo. Fuera de eso, cabría preguntar si no convendría más no desgrasar por completo, para que la sangre que brotase no se extendiera por la piel circunvecina—molestia corriente— y tuviese así verdadera forma de gota, trasladándose entonces al porta-objeto mucho más fácilmente. Tanto es así que hay autores serios¹ que sin tratar específicamente de la gota gruesa, recomiendan bañar con una delgada capa de vaselina estéril el área a pinchar, ya que con la marcada discrepancia de tensión superficial conseguida, la sangre no se extendería sino que se concentraría en gotas bien logradas; ayudando también, este pequeño recurso, a prevenir una rápida coagulación.

2) *Algodón Hidrófilo Esterilizado*. No podríamos aquí añadir nada, fuera de que es de desear que se fragmente en pedacitos de, más o menos, una pulgada cuadrada de extensión; evitando así el feo aspecto de los pedazos informes, *deshilachados*, arrancados, más que tomados del paquete.

3) *Lanceta automática o cualquiera de sus equivalentes*. Es de preferir la automática a la espatulada de Francke debido a varias razones: a) Se puede graduar la penetración, detalle importante, puesto que no tiene el mismo espesor la piel del adulto que la del niño, ni la de un campesino agricultor que la de una persona de vida sedentaria. Tomando en cuenta estos datos se evitará el cuadro de sangramiento profuso por penetración exagerada;

- b) Disminuye la aprensión natural del paciente al pinchazo, debido a que éste se verifica de una manera oculta y sin que el disparo sea un movimiento visible para aquél; y
c) Por la razón expuesta anteriormente, es la lanceta ideal para ser usada en los niños.

Se puede tomar como desventaja la facilidad con que el mecanismo automático se descompone cuando está sometido a un trabajo continuo. Sin embargo, para el médico general, por la facilidad en el manejo, es de utilidad suma, puesto que no la usará tan frecuentemente como el técnico de laboratorio, ni necesitará de ningún entrenamiento como es el caso de la lanceta espatulada o de cualquier otro sustituto.

El microscopista tiene otros equivalentes en su arsenal: 1) La lanceta espatulada acabada de mencionar; 2) La pluma para tinta, una de cuyas mitades ha sido rota o doblada, atravesando con la otra, un tapón de corcho hasta que el extremo puntiagudo de la misma aparezca por el lado opuesto en la longitud deseada; haciendo las veces el tapón de limitador de profundidad al pinchar; y 3) La que usamos en el Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General de Guatemala, que está constituida por una aguja hipodérmica gruesa, de bisel largo, que como la anterior, atraviesa un tapón de corcho, que sirve a la vez de limitador de profundidad y de mango para sostenerla y manipularla. Este tapón debidamente recortado, puede adaptarse a la boca de un frasco pequeño de antibiótico, medianamente lleno de alcohol etílico, obteniendo de esta manera que el extremo de la aguja esté constantemente humedecido en dicho líquido y por ende, continuamente estéril. De estos implementos se pueden tener varios en el laboratorio, que con seguridad se harán indispensables por lo económico y eficaces.

4) *Colorante Giemsa*. De ello se hablará en el Punto II del presente capítulo en ocasión de tratar sobre la preparación del colorante.

5) *Agua Destilada; en su defecto agua hervida corriente*. También de esto hablaremos más adelante, en el Punto III de este capítulo.

6) *Bicarbonato de Sodio*. Dadas las íntimas relaciones que tiene con el agua a preparar, trataremos este tema juntamente con el del agua destilada.

7) *Papel Indicador del pH*. La utilidad que presenta en este caso se tratará conjuntamente con los dos anteriores.

8) *Láminas Porta-Objetos*. En el mercado hay de diferentes calidades y precios. Se deben obtener las de casas reconocidas como serias, ya que en caso contrario, las láminas se empañan fácilmente con el continuo lavado y uso.

Nunca hay que usar láminas nuevas sin haberlas previamente sometido a una limpieza esmerada, pues se encuentran cubiertas de una delgadísima película de grasa debido al pulimento a que se ven sometidas en los procesos de fabricación. Esto impide la adherencia perfecta de la muestra de sangre, la cual se despegaría fácilmente en el transcurso de la manipulación.

Para evitar esto hay que someterlas a la acción del agua jabonosa en ebullición, por unos minutos (no deben usarse los supuestos jabones aceitosos; de preferencia elíjase el jabón líquido de uso corriente en los hospitales). Después quítese toda traza de jabón por medio de agua caliente simple, enjuagando continuamente. Como dato importante "Nunca permita que el agua se enfríe antes de que todo el jabón haya sido removido," dice Wintrobe^{1a}. Terminado esto, se sumergen en alcohol a 90°, en un recipiente de boca ancha herméticamente cerrado —evitando la volatilización del líquido— y de donde se sacarán, según los requerimientos del trabajo diario de laboratorio, para ser secadas y frotadas con un pedazo de género delgado, limpio, pero viejo; es decir, que haya sufrido muchas lavadas, pues es entonces que se encuentra en condiciones de no desprender hilachas ni *pelusas* que se mezclarían a la muestra de sangre con sus inevitables interferencias en el examen microscópico. Retazos de seda o lino son excelentes para ello.

En el caso de láminas usadas se pueden limpiar con algodón empapado en xilol para quitar el aceite de cedro. Después, seguir los pasos anteriores: ebullición en agua jabonosa, enjuague abundante con agua caliente, almacenamiento en recipientes con alcohol etílico, etc. Este procedimiento ha dado resultado satisfactorio siempre que el porta-objeto quede meticulosamente limpio de aceite de cedro antes de seguir con los tiempos siguientes.

Para el laboratorio convenientemente equipado, el uso de la mezcla *sulfocrómica* tiene ventajas indiscutibles, dado los magníficos resultados que con ella se obtienen, para la limpieza de los porta-objetos usados. Su fórmula y aplicación son tan conocidas que me abstengo de reproducir aquélla y explicar ésta, remitiendo al lector a cualquier libro que trate de ello.

Todo porta-objeto rayado, empañado o corroido será descartado por razones obvias.

No está de más insistir en la necesidad de tomar los porta-objetos por los bordes —nunca por sus caras— en cualquier manipulación (limpieza, almacenamiento, etc.) para evitar que se ensucien con la grasa de las yemas digitales.

El Departamento de Gota Gruesa Sanguínea usa el papel toilette para envolver los porta-objetos: una vuelta por cada uno de éstos. Se podrá así, desenvolver uno por uno, a medida que se necesiten, sin necesidad de ver el siguiente que estará, entonces, al abrigo de cualquier suciedad. Luego se almacenan en paquetes de 25 unidades cada uno.

En el caso del médico general sería de desear que tuviese en su maletín de visitas unos 5 o 6 porta-objetos listos para ser usados; envueltos de la manera acabada de indicar para evitar las partículas de polvo o la grasa de los objetos circundantes.

9) *Microscopio con su correspondiente lámpara*. Un microscopio para los trabajos corrientes de laboratorio llena los requisitos para el examen de gota gruesa sanguínea. Debe provenir de casas serias, conocidas, cuyos productos hayan sido aceptados, a través de los años, por laboratoristas competentes. El médico general, poco familiarizado con la calidad y usos del microscopio, deberá consultarlos en la compra de éstos, sean nuevos o usados.

En cuanto a iluminación, es preferible una lámpara eléctrica, ya que no se puede depender de la luz solar, por lo inconstante y lo variable de su intensidad a distintas horas del día. En el caso de que no se pueda salvar esta dificultad, úsese ésta, pero no captándola directamente con el espejo, lo que dañaría los ojos en corto plazo, sino que obteniéndola indirectamente, del norte o del sur, de preferencia cuando el cielo está cubierto de nubes blancas,² lo que hace la luz más difusa.

Dadas las constantes calidades de la luz eléctrica hay que preferirla a cualquier otra. Para darle una tonalidad parecida a la diurna puede interponerse, entre la fuente luminosa y el espejo reflector del microscopio, un matraz lleno de la siguiente solución:

Sulfato de Cobre	15 grs.
Amoniaco de 28° Ba.	90 c.c.
Agua destilada	810 c.c.

La luz obtenida con este artificio es monocromática, haciendo el matraz las veces de filtro y condensador.³

Hay microscopios en los cuales la fuente luminosa puede adaptarse directamente bajo el condensador, descartando, por consiguiente, el espejo reflector. Casi siempre este aditamento se acompaña de la resistencia respectiva para graduar la intensidad luminosa.

El estudio atento de las indicaciones contenidas en los libros de laboratorio y en los folletos que acompañan a cada microscopio —junto con la práctica esmerada— harán del médico general un microscopista capaz de desenvolverse eficazmente frente a los trabajos corrientes. Sin embargo, he aquí unos cuantos consejos elementales que le ayudarán a obtener el máximo de provecho siempre que se cumpla rutinariamente con ellos:

a) Si el microscopio es monocular, procure mantener abierto el ojo que no está siendo ocupado para el examen. Es imposible mantener guiñado el ojo por largo tiempo sin producir cansancio. Los ojos son órganos creados para funcionar como una sola unidad; esta sinergia debe mantenerse a toda costa. ¡Mantenga ambos ojos abiertos! “Esta habilidad,” dice Kolmer,⁴ “puede conseguirse por medio del uso de un cartón negro de 3x6 pulgadas de dimensión, en una de cuyas extremidades más estrechas se practica una abertura, lo suficientemente ancha para que pueda adaptarse a la parte superior del tubo interno después de quitar el ocular. Este cartón negro se proyecta dentro del campo visual del ojo que no se usa, y su superficie ennegrecida refleja muy poca o ninguna luz dentro del referido ojo. Después de un cierto tiempo el cartón puede ser retirado.”

b) Además, alternese el uso de ambos ojos en el transcurso del trabajo. Esto se hace de mayor necesidad en el examen de la gota gruesa ya que hay que estar con-

tinuamente manipulando el tornillo micrométrico para el enfoque de los diversos planos dentro del mismo eje óptico, produciendo esto un trabajo de acomodación ocular mucho mayor que el necesario para el examen de un simple frote.

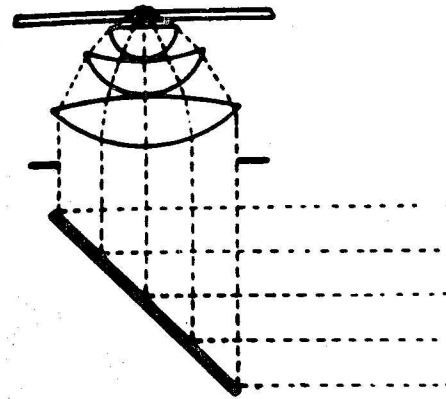
c) Para una mayor iluminación del campo microscópico en las muestras coloreadas (como es el caso de la gota gruesa sanguínea), debe usarse el condensador; pero es un error sumamente frecuente, aun en el microscopista experimentado, usarlo con el espejo cóncavo en lugar de hacerlo con el espejo plano. Recuérdese que el condensador está compuesto de una serie de lentes que hacen converger los haces luminosos paralelos procedentes del espejo plano, de tal manera que forman un cono cuyo vértice se forma inmediatamente arriba del lente superior de la serie, es decir, en el plano del objeto. Por consiguiente, si se usa el espejo cóncavo los rayos luminosos serán convergentes antes de salir del lente superior del condensador y por ende, el vértice del cono luminoso se formará dentro de éste y no en el plano del objeto. ¡Usese, pues, únicamente el espejo plano con el condensador!⁵

Una explicación gráfica de lo anterior se ofrece en los diagramas de la *Fig. 1*.

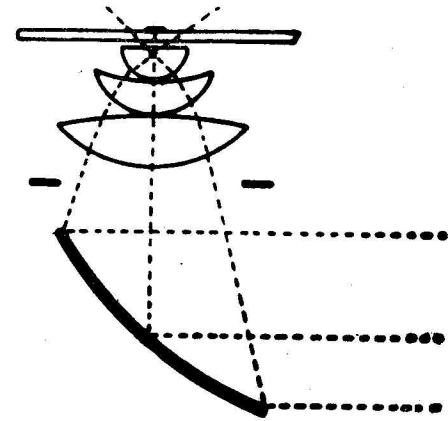
d) Enfoque siempre de abajo arriba. Esto es necesario cuando se trabaja con objetivo de inmersión ya que la distancia del lente inferior de éste al objeto a examinar es pequeña (alrededor de un milímetro). Si se enfocara de arriba abajo el resultado sería muchas veces la rotura del porta-objeto, o la desnivelación o daño del lente antes mencionado. Así es que para no incurrir en dicha probable falla será necesario —y esto va para los principiantes— inclinar la cabeza para poner la vista a nivel de la platina microscópica y controlar el descenso del objetivo hasta una distancia poco menos de un milímetro; recién después, se inicia el enfoque de abajo arriba, fin que se alcanzará muy prontamente, garantizando de esta manera, al sistema óptico, contra un posible y grave desperfecto.

Recordemos que hay microscopios que tienen sus tubos deslizables, como catalejos. Hay que darles la distancia conveniente; generalmente ésta está grabada para cada objetivo. Por regla general dicha distancia es de 160 mm. para la mayoría de ellos. Hay que tener en mente este *pequeño gran detalle*, ya que unos cuantos milímetros en defecto o en exceso en la longitud de los tubos dará una imagen de contornos indefinidos. Y

e) Para obtener una buena iluminación, evitando tanteos innecesarios, se recomienda descender hasta el límite el condensador y abrir el diafragma al máximo; hecho esto se quita el ocular para ver dentro del tubo a través del objetivo de menor aumento y se mueve adecuadamente el espejo hasta conseguir que el interior del tubo se ilumine de manera homogénea. Se repone el ocular, se cambia el objetivo en seco por el de inmersión, se coloca en la platina el porta-objeto con la gota coloreada y se asciende el condensador que juntamente con el juego del diafragma logran obtener la iluminación óptima que no siempre es la más intensa.



(A).—Iluminación del objeto con condensador y espejo plano. ¡Modo correcto!



(B).—Iluminación del objeto con condensador y espejo cóncavo. ¡Modo incorrecto!

Fig. 1.—Tomada de "The Use and Care of the Microscope", por Edward Bausch.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Wintrobe, Maxwell M.: Clinical Hematology. Second Edition. Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 239.
1a. Id. p. 271
- 2.—Gradwohl, R. B. H.: Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. Second Edition. The C. V. Mosby, Company, St. Louis, U.S.A., 1938, p. 26.
- 3.—Gil Girón, Alicia: Microscopía. Editorial Hobby, Buenos Aires, Argentina, 1945, p. 56.
- 4.—Kolmer, John A. y Boerner, Fred: Métodos de Laboratorio Clínico. The University Society Incorporated, New York, 1943, p. 7.
- 5.—Bausch, Edward: The Use and Care of the Microscope. Bausch & Lomb Optical Co., Rochester 2, New York, 1948, p. 14.

II

PREPARACION DEL COLORANTE

Recuérdese lo que se asentó en la Primera Parte del presente trabajo (Punto III) al tratar sobre la historia y coloración de la Gota Gruesa: "el colorante Giemsa, el más satisfactoriamente usado aun con este método..."

Actualmente se puede conseguir el producto ya sea en polvo o en forma líquida, este último listo para ser usado mediante la adición de agua. El primero deberá mezclarse con glicerina y alcohol metílico por medio de un proceso que luego se explicará. El segundo, la forma líquida, constituye la solución madre, la cual servirá, una vez adicionada el agua, para la coloración de la muestra.

Se debe preferir el polvo Giemsa cuando se cuenta con el material necesario para preparar la solución madre en el laboratorio. El producto de procedencia europea debe de ser, para mayor garantía, de la Casa Grübler. El norteamericano debe de estar certificado por la Oficina de *Standarización* de Colorantes Biológicos, por la misma razón. De estos productos he usado 2 o 3 de diferentes marcas y obtenido resultados satisfactorios siempre, repito, que llenen el requisito arriba indicado.

Es de aconsejar al médico general que se provea del producto en forma líquida, ya sea pidiéndolo a las casas productoras, o lo que es mejor, obteniéndolo de los laboratorios clínicos de esta ciudad capital; ya que entonces esta solución madre habrá sido comprobada —por el laboratorista proveedor— en sus calidades tintoriales, con muestras de sangre palúdica; y lo que es más, habrá podido establecer, mediante esas comprobaciones, el tiempo óptimo necesario para conseguir coloraciones exquisitas.

Con cualquier colorante Giemsa en polvo de garantía certificada se procede siempre de manera igual: Ogrs. 75 de polvo se disuelven muy lentamente —en mortero de vidrio— en 50 grs. de glicerina neutra. Este primer tiempo es de mucha importancia ya que si no se disuelve por completo el producto, parte quedará descartado en la fil-

tración —última operación— al permanecer en el papel-filtro utilizado para ella. Por consiguiente, los resultados serán diferentes a los esperados. No es raro que el autor emplee varias horas (hasta 4 o 5) en tal operación distribuidas en varios días sucesivos, si no se cuenta con tiempo suficiente en uno solo. Los resultados compensan el tiempo empleado.

Acto seguido, la mezcla así obtenida se traslada a un recipiente de boca ancha y se somete al baño-maría durante 24 horas, a una temperatura que oscile entre los 56°C y 60°C, mezclando frecuentemente. Para ello se usa de preferencia la estufa inactivadora de uso corriente en Serología. Debido al alto poder higroscópico del compuesto, el recipiente que lo contiene será cubierto con papel —el encerado es el de máxima seguridad— el cual será perforado en el centro, en un diámetro igual al de la varilla de vidrio que servirá para la mezcla frecuente. Dicha varilla permanecerá todo el tiempo que dura esta operación, dentro del recipiente, para evitar que el colorante moje el papel.

Muchos autores denominan a este segundo tiempo *incubación*, tal vez por una falsa analogía con la incubación —inactivación— que sufren los sueros en la estufa antes citada. Tengo para mí que el objeto de someter la solución al baño-maría es el de homogeneizar, el de completar la disolución total del polvo —partículas que hayan quedado suspendidas en la glicerina— y el de conseguir probablemente un tenue cambio en sus propiedades químicas, y por ende, una mejor calidad tintorial. Más valdría llamarle *maduración*, *primera maduración*, para no confundirla con otra posterior, que se obtiene por el simple envejecimiento de la solución madre.

Recién terminada esta *primera maduración*, se agregan 50 c.c. de Alcohol Metílico Absoluto (libre de acetona), siempre lentamente, para evitar una exagerada volatilización de este líquido. Antes de verificar esta operación, el autor por la misma razón, deja transcurrir unas 3 o 4 horas, logrando, durante este lapso, la vuelta del compuesto a la temperatura ambiente. Después: filtración con embudo de vidrio y papel filtro, directamente en un frasco también de vidrio, obscuro y de neutralidad comprobada. Este frasco permanecerá herméticamente cerrado y al abrigo de la luz. Únicamente se abrirá para suplir la cantidad necesaria de solución madre al pequeño frasco gotero destinado al propósito. Esta precaución de-

be exagerarse en los climas húmedos o calientes, pues de lo contrario, algunos de los componentes del colorante pueden precipitarse o volatilizarse con el consiguiente fracaso en la coloración. (a)

Es de desear que el compuesto se deje reposar por un tiempo no menor de 5 a 6 días.

Queda así preparada la solución madre del colorante Giemsa. Respetando las indicaciones acabadas de hacer, ésta queda inalterable por tiempo indefinido, mejorando más bien sus calidades tintoriales, repetimos, con el envejecimiento, que en este caso constituye la *segunda maduración*.

Bastará agregar el agua en las proporciones que se fijarán cuando se trate de la coloración de la muestra, y el colorante estará listo para su uso inmediato.

(a) En climas como el del Municipio de San Benito, Departamento de El Petén, en donde el autor estuvo como director del Hospital Nacional, la humedad y la temperatura ambiente son muy elevadas; esta última ha llegado a los 47°C a la sombra. Por esta razón, en más de un descuido llegó a perder la SOLUCION MADRE en su totalidad.

III

PREPARACION DEL AGUA DESTILADA

El agua, sea destilada o no, libre de contaminaciones (bacterianas o por compuestos químicos en solución), en otras palabras, lo que se considera generalmente como *agua pura*, es de reacción ácida, en mayor o menor grado, debido entre otras razones, al anhídrido carbónico de la atmósfera.

El agua a usar con la solución madre del colorante Giemsa en la investigación del hematozooario debe ser ligeramente alcalina más que neutra. En lo que respecta al pH que debe tener, los autores se inclinan, unos¹ y ² por un pH 7.2 y otros³ por un pH 7.6.

En opinión del autor se pueden obtener coloraciones regulares con aguas que sean neutras o alcalinas hasta un pH 7.5; pero hay que repetir que las coloraciones óptimas se obtienen únicamente con agua ligeramente alcalina, no importando la exquisitez o exactitud de un supuesto pH 7.2, 7.3, etc., siempre que no exceda con mucho el pH 7.5.

Al laboratorista o microscopista entrenado se le remite a los libros de laboratorio que tratan de las soluciones "tampones". Sin embargo, debido a la facilidad del procedimiento, recomiendo el de los cristales de hematoxilina, conocido de todos y cuya descripción omito por obvia; pero recordándoles la descripción que hace Wintrobe en la página 278, de la Segunda Edición de su Hematología Clínica, en donde⁴ dicho procedimiento está exquisitamente explicado. Una vez conseguida la neutralización, agréguese una gota de solución de carbonato (sea de sodio o de potasio) al 1%, por cada 25 c.c. de agua a mezclar.⁵

Al médico general recomiéndole proveerse de lo siguiente:

1) Agua destilada o agua corriente, hervida y filtrada; 2) Bicarbonato de Sodio; y 3) Papel indicador del pH

(de preferencia el pHydrión Paper, de la Casa Micro Essential Laboratory, Brooklyn, N. Y.), obtenible en las agencias de artículos médicos de esta ciudad.

En un frasco de 250 c.c. de capacidad, de cierre hermético y de preferencia que haya contenido originalmente alcohol metílico absoluto o glicerina neutra —para uso de laboratorio— se coloca la cantidad de agua —unos 200 c.c.—que se desea alcalinizar. Se le determina el pH, que seguramente estará bajo de 7 y poco a poco se le agregará cantidades muy pequeñas de bicarbonato de sodio, mezclando continuamente con una varilla de vidrio —dedicada exclusivamente para dicho uso— y midiendo el pH con frecuencia, hasta obtener la reacción colorimétrica que se acerque al pH 7 más que al pH 8. Así tendremos un agua alcalina con un pH que no pasará de 7.5.

Lo anteriormente descrito parecerá a primera vista un procedimiento *muy grueso*. Sin embargo, la escala colorimétrica del papel indicador antes citado tiene dos columnas, una a cada lado. En la columna A, están diferentes colores numerados con sus respectivos pH: 2-4-6-8; en la columna B están otros 5 diferentes colores numerados con sus respectivos pH: 1-3-5-7-9. La diferencia en la intensidad de los colores es tan marcada sobre todo del pH 7 al pH 8 (del neutro a lo francamente alcalino) que difícilmente se puede errar —en defecto o en exceso— de manera grosera. Con un poco de práctica y de paciencia al agregar las cantidades pequeñas de bicarbonato, se puede medir un pH que no exceda de 7.5.

Es tan práctico este procedimiento que actualmente es el que emplea la Preparadora de Colorantes de los Laboratorios Centrales del Hospital General de esta ciudad para alcalinizar el agua destilada que se emplea en los trabajos corrientes de Hematología.

Satisface al autor el hecho de que haya sido del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea de donde surgió dicho procedimiento, como innovación para los laboratorios antes mencionados; ya que a la simplicidad en su ejecución se agrega la rapidez con que se pueden preparar grandes o pequeñas cantidades, según las necesidades del trabajo diario.

Al médico general le sería más cómodo, una vez preparada el agua de la manera arriba indicada, mantener un pequeño frasco gotero con la cantidad necesaria —como en

el caso de la solución madre del colorante Giemsa— evitando así destapar con frecuencia el frasco grande, ya que esto haría descender lentamente el pH del contenido, con el consiguiente mal resultado en la coloración de las muestras.

En ocasión en que se hable del examen microscópico de la gota gruesa habrá oportunidad de constatar la reacción del agua empleada, ya que ésta guarda una estrecha relación, de causa a efecto, con los diversos matices obtenidos en la coloración.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Wilcox, A. : Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 21.
- 2.—Boyd, M. F. : Malariology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, Vol. 1, p. 166.
- 3.—Icaza, E. : El Uso de la Gota Gruesa en Hematología Clínica. Memoria del IV Congreso Médico Centroamericano, Tipografía Nacional, Guatemala, C. A. Febrero de 1938, p. 189.
- 4.—Wintrobe, Maxwell M. : Clinical Hematology, Second Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 278.
- 5.—Gradwohl, R. B. : Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. The C. V. Mosby Company, St. Louis, U.S.A., 1938, p. 327.

IV

HECHURA DE LA GOTA GRUESA

Para obtener la muestra y hacer la gota gruesa hay que pasar, de manera escalonada, por los siguientes tiempos:

- 1) *Toma de la sangre*
- 2) *Extensión de la muestra*
- 3) *Batido (desfibrinación)*
- 4) *Secado*
- 5) *Identificación*

He aquí la descripción de cada uno de ellos:

1) *Toma de la Sangre*. Las regiones a pinchar son, corrientemente, el pulpejo de los dedos, el lóbulo de la oreja y en los niños el dedo gordo del pie o la parte posterior de la cara plantar del talón. Aunque el lóbulo de la oreja es menos sensible al pinchazo, el autor prefiere siempre el pulpejo de los dedos, debido a que, en la mayoría de los casos, el lóbulo auricular tiene abundantes vellos que interfieren con la buena toma de la muestra, aglutinando elementos figurados, de preferencia plaquetas,¹ que al examen microscópico se pueden ver formando verdaderos *bancos* o grupos aislados; otras veces este número aumentado de plaquetas se desparrama por unidades en toda la extensión de la preparación, confundiendo en ocasiones al microscopista principiante, como se tendrá oportunidad de explicar más adelante.

Ahora bien, ¿el dedo de qué mano, cuál de los dedos y qué lugar del pulpejo se debe pinchar? A primera vista parece una manera exagerada de contemplar esta pequeña operación; pero es precisamente por medio de la disciplina en los pequeños detalles —convertidos después en rutina— que las técnicas de laboratorio logran garantizar la máxima exactitud en los resultados y la mínima molestia para el paciente. Y recuérdese lo que se dijo más arriba: “Insistiendo en estos detalles se evitan infecciones que no por pequeñas son menos molestas.”

La mano izquierda, el dedo anular o cuarto dedo y la cara lateral es lo que aconseja el autor. Véase por qué: 1) *La mano izquierda*, porque siendo la mayoría de las personas *derecha* en el sentido de la habilidad manual y digital, pinchando en la izquierda se evitaría, en parte, la aprensión de ciertas personas a usar el miembro pinchado, que para ellos no es sino un miembro herido, molestia mayor si es el más diestro. El factor psíquico en los pacientes es muchas veces desestimado por el laboratorista. La alteración de este factor manifiéstase en la exageración en mayor o menor grado, de la emotividad, comprendiendo los matices que oscilan entre la aprensión acabada de mencionar que aunque indica un menor grado, siempre sigue siendo emotividad, que no por pequeña debe ser menos respetada, hasta el breve desvanecimiento —vahido— que sufren algunas personas con esta pequeña operación que está informando sobre una reacción emotiva mayor; 2) *El dedo anular* y no el dedo medio como quieren varios autores, por la razón siempre en mente, del respeto al enfermo; el pulpejo del dedo medio es el que más sobresale, por ser éste de mayor longitud; por consiguiente, la pequeña solución de continuidad producida por el pinchazo estará más expuesta a los roces ambientales. El dedo anular, por el contrario, está protegido, desde el punto de vista de sus caras laterales por no ser *jefe de línea*; 3) *La cara lateral del pulpejo*, por varias razones: a) Los motivos de protección acabados de mencionar; b) Menos sensible que la región propiamente ventral del pulpejo; y c) Debido a que la piel en esa región presenta un espesor más o menos uniforme, no así la región ventral que tendrá espesores distintos según la profesión u oficio del paciente, como se expuso anteriormente al hablar de la lanceta automática. Recuerdese la ventaja que posee este instrumento, al ser graduable la penetración a voluntad del técnico, quien, si no toma en cuenta este detalle, puede dar un pinchazo en *blanco* o puede hacer sangrar profusamente produciendo las molestias consiguientes.

Del antiséptico a usar y de la manera de efectuar la limpieza y antisepsia de la región a pinchar se ha hablado en detalle en el Punto I del presente capítulo. Se puede agregar ahora, que descarto por completo la costumbre de ciertos técnicos de pinchar intencionalmente la piel todavía humedecida por el alcohol, con el objeto, dicen, de con-

seguir una mayor antisepsia. Fuera de lo aleatorio del supuesto mejor resultado de ésta, existe la desventaja enorme de que el alcohol, llevado indefectiblemente por el extremo de la lanceta, fijará la sangre desde el momento en que brota del fondo mismo de la pequeña herida; error de trascendencia, ya que la *fijación* es, precisamente, el fenómeno que se trata de salvar, puesto que una vez producida se opondrá tenazmente a la hemólisis, que actuando simultáneamente con el colorante, constituyen los fundamentos y la originalidad del método en estudio.

Al pinchar, es de aconsejar que la parte ancha de la lanceta esté perpendicular a las líneas de la piel (en este caso las que producen las huellas digitales), ya que así se secciona transversalmente gran número de capilares, conteniendo entonces la muestra una mayor proporción de esta calidad de sangre que de líquido o jugo tisular. Cuando se ha verificado una buena limpieza de la región y el antiséptico se ha volatilizado totalmente antes del pinchazo, se puede utilizar la sangre desde la primera gota; en caso contrario descártese ésta enjugándola con gasa seca y, desde luego, estéril; y no con algodón, para evitar las hilachas que frecuentemente se desprenden de este material.

El pinchazo debe ser lo suficientemente profundo para hacer brotar la sangre espontáneamente o con una ligera expresión de las partes que circundan la pequeña herida —no menos de un centímetro de distancia—. Si se hace poco profunda, será necesario exprimir la herida, cambiando por consiguiente la calidad sanguínea, obteniéndose una muestra más rica en jugo tisular que en elementos figurados, falla esta que influirá decisivamente en el resultado del examen microscópico.

No está de más señalar que se evitará obtener la muestra en regiones inflamadas, edematizadas o congestionadas.

Una vez tomada la cantidad de sangre necesaria, se enjugará la restante con un pedazo de algodón empapado en alcohol, el cual cubrirá después el lugar del pinchazo; una ligera presión mantenida por el pulgar del paciente sobre el algodón cohibirá en pocos segundos la pequeña hemorragia.

2) *Extensión de la Muestra*. Se tomará la lámina porta-objeto por uno de sus extremos, siempre por sus bordes, entre dos dedos de la mano derecha —el pulgar y el índice de preferencia—. Se acerca la cara inferior de aquélla a la sangre que emerge en forma de gotas, hasta que estén en franco contacto, pero sin que la lámina toque la piel. Se

depositan de 3 a 5 gotas, según el volumen de éstas, en un área reducida del porta-objeto, calculando que la gota gruesa resultante al unir y extender las gotas tomadas, deberá tener un diámetro no mayor de 2 centímetros. Para una mejor comprensión de este tiempo, el autor divide imaginariamente la lámina porta-objeto en tres partes de igual extensión: la primera que llama *talón*, es el área del extremo por el cual está tomada; la segunda es el tercio medio o *cuerpo* de la misma; la tercera es la *cabeza*, y abarca el área del extremo libre opuesto al *talón*.

Es en el *talón* en donde deben depositarse las gotas para ser extendidas, ya que estando más cerca de los dedos que la sostiene es el área más manejable de las tres. Instintivamente los dedos que hacen presa en dicho extremo se colocarán de manera que el técnico siempre podrá ver lo que está haciendo a través del vidrio.

Hay microscopistas que prefieren tomar la muestra apoyando el borde menor de la *cabeza* en la ranura ungueal del pulgar izquierdo, que hace veces de bisagra, llevando la lámina al contacto de la gota hacia el punto deseado. El autor prefiere la primera modalidad porque a lo sencillo en la ejecución se agrega lo práctico de sus resultados.

Una vez obtenidas las gotas necesarias, se les fusiona en una sola, extendiendo la sangre circularmente hasta que tenga el diámetro antes indicado (área un poco menor que la de una moneda de diez centavos). Esto se hace con un ángulo de otro porta-objeto o con la extremidad quebrada de un palillo. La preferencia está por el primero, ya que en las técnicas se trata de simplificar en lo posible los procedimientos, evitando hasta donde sea lógico, la intromisión de otros elementos o implementos, siempre que no sufran menoscabo los resultados finales. Este es el caso presente, en que la lámina que ha servido para la extensión y batido de la muestra —véase más adelante— será usada, previa limpieza del ángulo con el mismo algodón que se ocupó en la antisepsia, para hacer en ella otra gota gruesa, ya que generalmente y por prudencia, deben hacerse dos por cada muestra de sangre.

3) *Batido (Desfibrinación)*. Ya extendida la muestra en la forma acabada de indicar, se bate, siempre con el ángulo del porta-objeto, por medio de movimientos circulares, tratando de no deformarla; 10 a 15 de estos movimientos son suficientes para conseguir la completa desfibrinación de la gota.

Las razones para colocar estos dos últimos tiempos —extensión y batido— en puntos separados, fueron de orden didáctico, ya que, como se comprende, el batido o desfibrinación de la muestra se inicia al mismo tiempo que el de la extensión o formación de la gota. Estos dos tiempos deben considerarse, para los efectos de la práctica, como simultáneos.

Hay autores que prefieren verificar estos dos tiempos de la manera siguiente: una vez conseguido el contacto entre la sangre y la lámina, imprimen a ésta movimientos circulares, manteniéndola horizontal, siempre en contacto con la sangre que fluye, pero sin tocar la piel. Se obtiene de esa manera la extensión y la desfibrinación de la muestra, pero en opinión del autor esta última no se verifica tan completamente como con el procedimiento primeramente descrito.

4) *Secado*. Se inicia poniendo en perfecta horizontalidad la lámina porta-objeto. Cualquier inclinación deformaría la gota haciéndola perder sus calidades de tal: una parte de ella tendría tan exagerado espesor, que la haría ópticamente imposible de examinar por medio de la luz transmitida; otra región sería de una delgadez tal que la convertiría en un simple frote con las ostensibles desventajas para la búsqueda del hematozooario y otros datos hematológicos.

La muestra se puede secar a la temperatura ambiente en un tiempo mayor o menor, según sea ésta baja o alta, seca o húmeda. En climas cálidos y secos bastan unos pocos minutos; en climas fríos y húmedos se necesita de un tiempo mucho mayor. En estos casos y si el resultado del examen se requiere con urgencia, puede pasarse la lámina varias veces por encima de la llama de un mechero de alcohol, pero alejada prudencialmente, de modo a conseguir nada más que una pequeña elevación de temperatura, *pero nunca lo suficiente para fijar la muestra*. Comparando la temperatura adquirida por la lámina con la del dorso de la mano (recurso muy conocido en las prácticas de microscopía bacteriológica) puede llegarse, con un poco de práctica, a equiparar ambas groseramente —más o menos 37°C.— y dentro de los límites de seguridad para los ulteriores resultados. El autor ha hecho gotas gruesas en regiones del país en donde la temperatura ambiente ha sobrepasado con mucho los 37°C. El secado fué siempre bastante rápido y a pesar de tan alta temperatura la hemólisis se llevó a cabo perfectamente.

Si se cuenta con una estufa de las usadas en Bacteriología, puede colocarse la muestra en ella a una temperatura de 37° C., para sacarla inmediatamente después de seca. Si las gotas son numerosas —por encuestas o por trabajos de hospital— puede recurrirse al aire caliente producido por un secador eléctrico de mano, para el cabello,² y que puede ser paseado, proyectando el aire sobre el conjunto de láminas extendidas en una mesa libre de polvo, para evitar la contaminación de las muestras. Sin embargo, en las encuestas y en los trabajos hospitalarios de rutina no se necesita de ese artificio; basta guardarlas para ser coloreadas a los 30-40 minutos (o al día siguiente si así lo exige el trabajo) con la condición de que permanezcan durante ese lapso al abrigo de polvo, cucarachas, moscas y otros insectos, no sólo para impedir la contaminación bacteriana producida por ellos, sino también porque darían cuenta de la sangre (sobre todo las moscas) en un tiempo sorprendentemente corto.

Una vez hecha, la gota gruesa no debe de ser tan espesa como para que no se pueda leer a través de ella algún material impreso (*Fig. 2*), ni tan delgada que parezca frote, desmereciendo con ello sus ventajas de método de enriquecimiento. Nótese en la figura arriba indicada la extensión que ocupa la muestra en el *talón* del porta-objetos.

Una gota demasiado espesa se agrieta o descascara con el secado o es fácilmente arrastrada con el agua de lavado del colorante.

5) *Identificación.* Para identificar las muestras tomadas en laboratorios particulares, se aconseja escribir las iniciales del paciente, con lápiz graso, en la *cabeza* del porta-objeto (lado opuesto al de la gota). El nombre completo se registraría en el libro correspondiente. En los exámenes hospitalarios de rutina, tal como se estila en el Departamento de Gota Gruesa del Hospital General, es preferible colocar un número de registro (véase en la *Fig. 6* la identificación de la muestra central) que corresponderá a otro igual colocado en la primera columna del libro de informes que se lleva para el efecto en dicho departamento (*Fig. 3*). Esta manera de llevar el control de labores no sólo informa del nombre del paciente, sino que también de la sala donde se encuentra y del número de la cama que ocupa.

En las encuestas sanitarias pueden hacerse, con personal entrenado, varios centenares de preparaciones en un

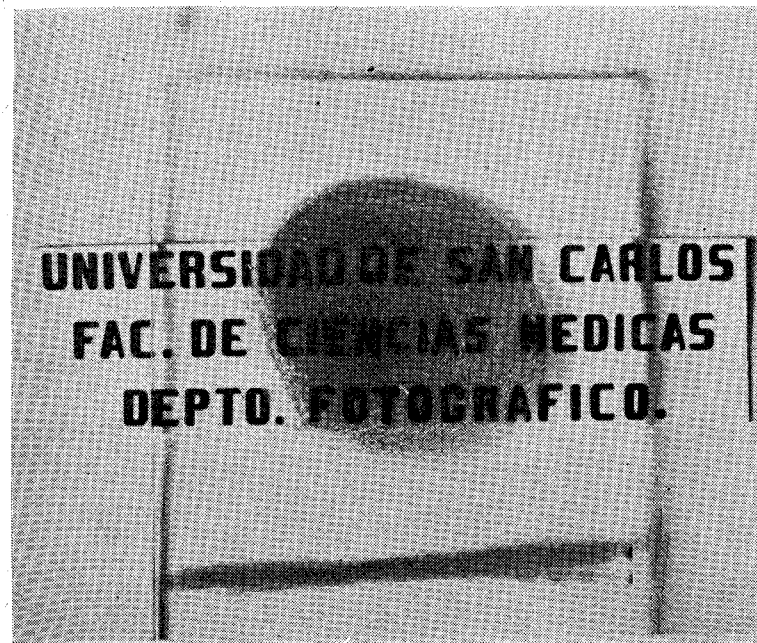


Fig. 2.—La gota gruesa no debe ser tan espesa como para que no se pueda leer a través de ella algún material impreso.

(Fotografía original).

tiempo relativamente pequeño. Previamente se hará uso de un cuaderno o libro a propósito, cuyas páginas estarán divididas en tres columnas verticales: la primera angosta, para el número de registro; la segunda ancha, para el nombre de la persona; y la tercera angosta, para la edad de ésta.

Uno de los componentes del personal habrá anotado en el cuaderno los dos datos mencionados; en la *cabeza* del porta-objeto escribirá únicamente el número de registro. Hecho esto y estando las personas que se sujetarán a la encuesta en fila y en el orden sucesivo correspondiente al del cuaderno, pasará un segundo integrante del personal haciendo la antisepsia en la región respectiva. Un tercer individuo verificará el pinchazo y tomará la muestra de las personas, a medida que se vayan acercando a la mesa en donde tendrá lo necesario para desempeñarse satisfactoriamente. Las muestras así tomadas y aún frescas se colocarán en cajas apropiadas para mantenerlas resguardadas y en posición horizontal durante su secado; terminado éste, dichas cajas serán enviadas a los laboratorios respectivos, ya sin ningún cuidado, puesto que dichos depósitos están diseñados para salvar cualquier eventualidad que pueda surgir en el transporte de los mismos.

No. de Registro	Sala Hospitalaria	Cama	Nombre del enfermo
271	52	751	Aracelis Dorcas — Control de...
272	12	752	Julio Rojas...
273	12	753	Manuel Salgado
274	12	754	Abraham Casarola
275	12	755	Jacinto Casarola
276	12	756	Manuel de J. Arilla
277	12	757	Walter Armas, Inojado
278	12	758	Clotilde Rodriguez
279	12	759	Concepcion Hernandez, Managua
280	12	760	L. Maria Alvarado
281	12	761	Maria Luisa Garcia
282	12	762	Elba Buitrago, b. Fajard
104	12	763	José Buitrago
105	12	764	Francisca Diaz
106	12	765	Luzmila Padilla
107	12	766	Concepcion Casarola
108	12	767	Gerardo Blas
109	12	768	Antonina Figueroa
110	12	769	Maria Teresa Castellanos
111	12	770	Lidia Charro
112	12	771	Isabel Garcia
113	12	772	Rafael M. Casarola
114	12	773	Roberto Figueroa
115	12	774	Alberto Salgado

Fig. 3.—Página izquierda del Libro de Informes, en donde se hace constar el No. de Registro, Sala Hospitalaria, cama y nombre del enfermo. (Fotografía original).

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Varela, Manuel Enrique: Fundamentos de la Hematología. El Ateneo, Buenos Aires, 1947, p. 296.
- 2.—Young, Martin D. (1938): A Rapid Method of Drying Thick Blood Films. Public Health Rep., 53: 1256. Citado por Wilcox, A. en Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 20.

V

COLORACION DE LA GOTA GRUESA

- 1) Método Lento por Unidad
- 2) Método Lento en Serie
- 3) Método Rápido (Urgente)
- 4) Detalles a Tener en Cuenta
- 5) Indicaciones Prácticas Resumidas

1) *Método Lento por Unidad.* Es el comúnmente usado en los trabajos corrientes: 1 gota de solución madre de colorante Giemsa por X gotas de agua; ambos líquidos preparados de la manera que se ha indicado anteriormente.

Las gotas —colorante y agua— se depositarán por medio de cuenta-gotas dedicados exclusivamente para ello, en un tubo corriente de Kahn (7.5 cms. de largo por 1 cm. de diámetro). Cuando el tubo es nuevo, previamente se le habrá lavado perfectamente y llenado hasta el máximo, permaneciendo así por unos días (4 o 5) con el agua que sirve para mezclar la solución colorante. Esta precaución tiene por objeto neutralizar por completo las paredes interiores del tubo.

Se dejan caer primero las gotas del colorante en el fondo del tubo y después las de agua; una vez hecho esto, se mezclan, agitándose suavemente o invirtiendo el tubo, usando la yema del pulgar como tapón, perfectamente limpio y seco, para evitar sobre todo la humedad del sudor.

Para este método y el Método Rápido (Urgente) la preparación recibirá el colorante colocada horizontalmente sobre dos varillas de vidrio o de madera, constituyendo el conocido puente puesto sobre el recipiente —de peltre o de vidrio— en que más tarde caerá el agua de lavado.

Error muy frecuente es el de mezclar sacudiendo con demasiada energía, dando por resultado la ulterior precipitación parcial del colorante en la lámina porta-objeto.

Se cubre totalmente la preparación con el colorante, ayudándose para la distribución del mismo con los bordes del tubo de Kahn. Se le deja actuar por 10 minutos. Acto seguido se lava profusamente, arrastrando el colorante hasta que el agua que se use permanezca completamente transparente. Un frasco de Eriehnmeyer con tapón perforado por dos tubos de vidrio, uno para la entrada del aire y otro para la salida del agua en forma de chorro continuo que se dejará actuar, no encima de la gota sino en su vecindad, es lo más apropiado.

Después, se le dejará secar en posición inclinada para que el agua restante resbale a lo largo de la preparación. El secado puede verificarse de la misma manera que la descrita para el secado de la sangre: a la temperatura del laboratorio (siempre al abrigo del polvo); en la estufa a 37°C; o en ausencia de ésta, pasando varias veces el porta-objeto por encima de la llama de un mechero de alcohol, pero siempre, desde luego, a una distancia prudente, para lograr obtener una temperatura que oscile alrededor de los 37° C. El autor ha podido conseguir iguales resultados aún con el calor de la llama producida por un pedazo de algodón empapado en alcohol. Hay que insistir en no acercarse demasiado el porta-objeto a la llama, pues en caso contrario la gota se agrietará por el excesivo calor.

El lector habrá notado en la *figura 2* una línea transversal que cruza la lámina a cierta distancia de la gota gruesa. Es hecha con lápiz grueso y tiene por objeto evitar, aprovechando la discrepancia de tensiones superficiales, que el colorante se extienda innecesariamente a toda la superficie del porta-objeto; esto redundaría en beneficio del procedimiento puesto que entonces casi la totalidad del líquido actuará sobre la muestra con sus consiguientes beneficios. Además, el ahorro de colorante es palpable, debido a que con este artificio no hay necesidad de cubrir toda la lámina. Y por último, la posición de la gota gruesa en una de las áreas extremas del porta-objeto —*el talón*— hace el manipuleo de éste mucho más cómodo y aseado puesto que se tomará por el extremo opuesto. Con un poco de cuidado el técnico microscopista puede colorear una gota del modo descrito arriba sin mojarse los dedos, cosa que no sucedería si la muestra estuviese situada en el centro o *cuerpo* del porta-objeto.

Es entonces que la gota, una vez preparada, coloreada y secada, está lista para el examen microscópico —bajo el objetivo de inmersión—.

2) *Método Lento en Serie*. A Barber y a Komp¹ pertenece el mérito indiscutible de haber creado el método para las coloraciones en serie de las gotas gruesas. Esta innovación hizo posible la coloración simultánea de centenares y aún miles de preparaciones, con el ahorro consiguiente de tiempo, de colorante y de personal. Y lo que es más, hizo también viable la uniformidad de coloración en cada serie (objetivo imposible de alcanzar con el método de coloración por unidad) con sus consecuentes ventajas para el examen microscópico.

Método de inestimable valor, sigue siendo el de elección en las encuestas sanitarias, tanto civiles como militares —levantamientos de índices parasitarios— en trabajos hospitalarios de rutina y en fin, en todo laboratorio clínico cuyo trabajo en este aspecto sea abundante.

Consiste, esencialmente, en colocar las láminas porta-objeto en paquetes de a 25 cada uno, separadas entre sí por cartoncitos cuadrados, de lados iguales al de la anchura de la lámina; y cuyo espesor sea aproximadamente igual al de ésta. Colocados alternadamente, cartón y lámina, en el extremo opuesto al de la gota, se sostiene el todo bajo presión, por tiras elásticas —hules— enrolladas tal como lo indican las *figuras 4 y 5*. Esta presión impide que se toquen los extremos libres en donde están las gotas.

La primera y la última lámina —jefes de línea— se colocan con la preparación mirando hacia adentro para eludir en las manipulaciones un probable roce de éstas y su deterioro consecutivo.

Hay autores, los creadores del método entre ellos, que antes de enrollar las tiras elásticas coronan el extremo con papel grueso, para evitar, dicen, que las aristas de las láminas extremas corten dichas ataduras. Pero si se tiene el cuidado de colocar también cartoncitos cuadrados antes de la primera y después de la última lámina, éstos impedirán —por la mayor blandura de sus bordes— que las tiras elásticas se corten.

Las *figuras 4 y 5* nos muestran dos paquetes y el recipiente para el colorante. En la *figura 4* el recipiente, primitivamente hecho para contener 8 láminas como máximo, enseña cómo deben de ser colocadas éstas en las ranuras respectivas; como se comprenderá, para colorearlas se hace necesaria una regular cantidad de colorante, ya que hay

que bañarlas por entero en él. La *figura 5* nos muestra ese mismo recipiente conteniendo los dos paquetes de 25 láminas cada uno y en cuya coloración es indiscutible que se usará mucho menos colorante, ya que el mayor volumen producido por las 50 láminas porta-objetos introducidas en el recipiente desalojará una cantidad de líquido proporcionalmente más grande que la desalojada por las 8 láminas antes mencionadas.

El espacio entre una lámina y otra es suficiente para que el colorante ascienda entre ellas ocupando un mismo nivel y actuando por ende, uniformemente.

En líneas anteriores se ha hecho ver una de las ventajas al hacer la gota gruesa en un área extrema del porta-objeto. Ahora podemos agregar otra: Este método de coloraciones en serie se haría más dificultoso, si no imposible, en el caso de que las muestras estuviesen colocadas en el centro del porta-objeto.

El Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General emplea 1 c.c. de la solución madre de Giemsa por cada 25 c.c. de agua. De acuerdo con el número de láminas a colorear se preparará la cantidad necesaria del colorante. La mezcla se hará, dado el volumen de la misma, en una probeta graduada destinada exclusivamente para este uso y con las condiciones de aseo y neutralidad requeridas para el tubo de Kahn mencionado anteriormente. Una vez que estén, la solución madre y el agua, dentro de la probeta, se invertirá ésta varias veces —colocándole, desde luego, su respectivo tapón esmerilado previamente— para completar la mezcla de ambas. Hecho esto, se reparte el líquido en el número determinado de recipientes, tratando de que no se produzca espuma en dicha operación. Se colocan los paquetes de la manera indicada en la *figura 5* y se deja actuar el colorante durante 25 minutos. Terminado este tiempo, se sacan, siempre verticalmente, para ser sumergidos varias veces, en esta posición, en recipientes conteniendo el agua que arrastrará el exceso de colorante. Es de aconsejar la preparación de varios de estos recipientes, colocados en serie —3 son suficientes— para sumergir sucesivamente los paquetes en ellos a medida que vayan siendo sacados. El agua, en esta operación, nunca llegará a mojar los cartoncitos, los cuales, si se humedecen, mantendrán una atmósfera entre las láminas que impedirá el perfecto secado de las mismas.

Se colocan después los paquetes sobre papel filtro o secante para absorber el agua que por gravedad se acumu-

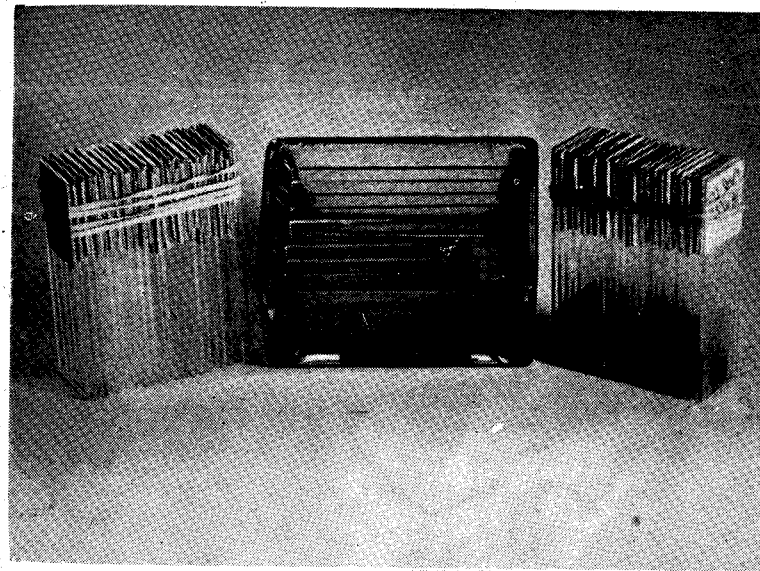


Fig. 4.—Recipiente originalmente hecho para colocar 8 láminas. A los lados, los paquetes de 25 láminas cada uno, para ser coloreados al mismo tiempo y en el mismo recipiente. (Fotografía original).

lará al pie de los porta-objetos. Este tiempo sustituye el sacudimiento de los paquetes que debe ser proscrito desde todo punto de vista, ya que estando húmedas todavía, las preparaciones pueden despegarse fácilmente.

El secado se hará, sea dejando los paquetes al aire ambiente hasta el siguiente día —siempre protegidos— o colocándolos en la estufa a 37° C.

3) *Método Rápido (Urgente)*. Es el método de elección en los casos siguientes: 1) En la clínica particular del médico general, en la cual el paciente puede esperar el resultado, con las ventajas consiguientes para empezar el tratamiento de inmediato; 2) En la clínica del especialista en Patología Tropical, por las mismas razones; 3) En los casos en que los servicios del laboratorista son requeridos con urgencia por el médico tratante, dada la gravedad del caso en consulta; y 4) En los casos hospitalarios, por las razones apuntadas en el número anterior.

Las ventajas en los casos comprendidos en los números 1 y 2 son ostensibles, tanto para el paciente como para el médico, puesto que para aquél será un recargo menos en su presupuesto; y para éste, será la oportunidad de confirmar o descartar su impresión clínica dentro de un lapso a todas luces breve. En las posibilidades contempladas en los números 3 y 4, la rapidez de este método puede salvar más de una vida humana.

II gotas de solución madre de Giemsa se mezclan con III gotas de agua en el tubo de Kahn descrito en el Método Lento por Unidad. Se cubre la preparación con la mezcla durante 4 minutos, no olvidando hacer la línea transversal con el lápiz grueso tal como aparece en la *figura 2*, por las razones expuestas con anterioridad. Los demás tiempos del procedimiento —lavado y secado— serán iguales a los del método acabado de mencionar.

Si la muestra es tomada, coloreada y examinada en la clínica, el tiempo transcurrido deberá ser menor de 20 minutos.

4) *Detalles a Tener en Cuenta*. Por más cuidado que se ponga en la preparación de las soluciones madres del colorante Giemsa, cada una tendrá un tiempo óptimo de coloración, ya sea en los métodos lentos o en el Rápido. En este último puede haber diferencias de un minuto en más o en menos, por lo cual se hace necesario la búsqueda de dicho tiempo por medio de la coloración de gotas gruesas

positivas que el laboratorista, sea particular u hospitalario, podrá obtener fácilmente. Este problema no existe para el médico general ya que sus proveedores —los laboratoristas— le indicarán dicho tiempo cada vez que le surtan de solución madre.

En el Método Rápido se le buscará dando a cada unidad de una serie de muestras positivas, un tiempo de coloración que irá aumentando progresivamente con diferencia de un minuto entre ellas. A la primera se le dará 3 minutos de coloración, a la segunda 4, a la tercera 5, y así sucesivamente hasta llegar a 8 minutos. Si dentro de este margen, no se consiguen resultados de coloración satisfactorios para el Método Rápido, la solución madre debe ser descartada por defectos de preparación, siempre que el agua de la mezcla se haya usado con su pH apropiado.

En las búsquedas del tiempo óptimo de coloración para los métodos lentos por unidad y en serie, el procedimiento es el mismo, únicamente que el margen de tiempo será mayor —unos cinco minutos entre una y otra coloración de las muestras positivas—.

Hay que tener en mente que las gotas gruesas viejas tardan más en colorearse que las recientes; por consiguiente, el método rápido no es el conveniente para aquéllas.

Si por descuido en el tiempo de coloración ésta se ha exagerado, puede disminuirse dicho defecto empleando en el lavado de la muestra coloreada un tiempo mucho mayor que el corriente. Puede introducirse la preparación por varios minutos en un recipiente que contenga el agua necesaria para ello.

Hay que descartar una vez por todas, las indicaciones que todavía traen algunos autores en ediciones recientes de sus obras (y que todavía ha visto hacer el autor del presente trabajo más de una vez) de hemolizar la gota gruesa sanguínea con agua destilada antes de someterla a la acción del colorante. Recomendar todavía este tiempo previo es índice del estancamiento en una de las etapas primitivas o iniciales en la evolución y perfeccionamiento de la técnica de la Gota Gruesa Sanguínea.

Recuérdese lo que se dijo a este respecto en la HISTORIA DE LA COLORACION Y TECNICA DE LA GOTA GRUESA SANGUINEA: "...el agua del Giemsa diluído servía como hemolizante, al mismo tiempo que el proceso de coloración seguía su curso." Y a continuación se expo-

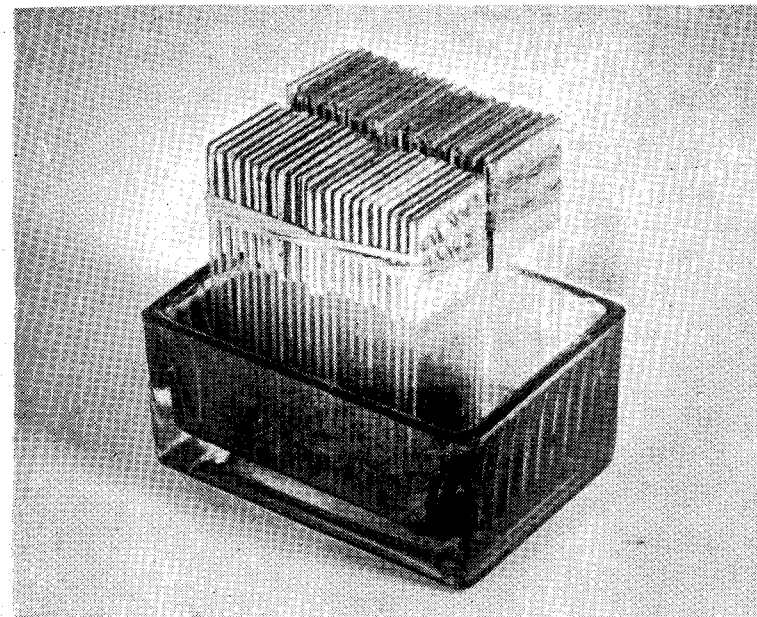


Fig. 5.—Los dos paquetes de láminas colocados en el recipiente, para el método de coloración en serie. (Fotografía original).

nía: "He aquí una adquisición de gran valor, ya que disminuyendo los tiempos de coloración —un solo lavado— la manipulación es menor y por consiguiente, no sólo se ahorra tiempo sino que el procedimiento adquiere mayor exactitud."

Lo mismo puede decirse de las indicaciones que dan otros autores sobre la necesidad de descartar siempre el primer colorante, después de un tiempo prudencial, para cubrir de nuevo la preparación con otra cantidad igual, ya definitivamente.

El colorante diluido será usado dentro de las dos primeras horas siguientes a su preparación; y una vez usado no se empleará de nuevo sino que se desechará definitivamente.

Lo gota gruesa bien coloreada tomará un color azul-violáceo que con el secado a 37°C se tornará en franco y hermoso azul que recuerda algo el de Prusia. Colores débiles, indefinidos, amarillo-verdosos o coloraciones aparentemente normales en el centro pero con aureolas de diferentes matices (rosadas la mayoría de las veces) serán descartadas desde ese mismo instante, para ahorrar el examen microscópico, ya que estas láminas adolecerán de graves defectos en la coloración, sean estos debidos a descuidos en la preparación de la solución madre, o a fallas groseras en el pH del agua empleada.(a)

5) *Indicaciones Prácticas Resumidas.*

(I) Método Lento por Unidad:

- 1) Mézclense I gota de Giemsa con X gotas de agua en el tubo de Kahn corriente, agitando suavemente.
- 2) Viértase la mezcla en la preparación cubriendo totalmente la gota.
- 3) Déjense transcurrir 10 minutos.

(a) El autor no ha encontrado, en las obras y artículos consultados, los mismos tiempos de coloración que se han descrito en el presente trabajo. Todos ellos emplean un tiempo no menor de 45 minutos; algunos emplean hasta la hora completa. Más adelante se volverá sobre esto, cuando se trate de los CUADROS NORMALES DE LA GOTTA GRUESA (SEGUNDA PARTE, Capítulo Primero).

- 4) Arrástrese el colorante con agua hasta que la preparación lo deje de desprender.
- 5) Séquese a la temperatura ambiente o en la estufa a 37° C.
- 6) Examínese bajo el objetivo de inmersión.

(II) Método Lento en Serie:

- 1) Hágase el número de paquetes necesarios, conteniendo cada uno 25 láminas.
- 2) Prepárese la cantidad de Giemsa diluido de acuerdo al número de paquetes, en la proporción de 1 c.c. de solución madre por 25 c.c. de agua.
- 3) Mézclese en la probeta herméticamente cerrada, invirtiéndola varias veces, sin hacer espuma.
- 4) Repártase la solución en los recipientes preparados de antemano.
- 5) Introdúzcanse en ellos los paquetes —dos en cada uno— y déjese actuar el colorante durante 25 minutos.
- 6) Extráiganse los paquetes sin sacudirlos y sumérjanse varias veces en recipientes conteniendo el agua que arrastrará el exceso de colorante. Después, colóquense verticalmente sobre papel filtro o secante.
- 7) Séquense a la temperatura ambiente o en la estufa a 37° C.
- 8) Abranse los paquetes, de uno en uno, a medida que se vayan necesitando, extendiendo ordenadamente las láminas en la mesa y al alcance del microscopista, para su examen final bajo el objetivo de inmersión.

(III) Método Rápido (Urgente):

- 1) Mézclense II gotas de solución madre con III gotas de agua, en el tubo de Kahn corriente, agitando suavemente.
- 2) Viértase la mezcla en la preparación cubriendo totalmente la gota.
- 3) Déjense transcurrir 4 minutos.
- 4) Arrástrese el colorante con agua hasta que la preparación lo deje de desprender.
- 5) Séquese a la temperatura ambiente o en la estufa a 37° C.
- 6) Examínese la muestra bajo el objetivo de inmersión.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Barber, M. A. and Komp, W. H. W. (1929): Method for Preparing and Examining Thick Films for Diagnosis of Malaria. Public Health Rep., 44: 2330. Citado por Wilcox, A. en Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, 1943, p. 22.

SEGUNDA PARTE

SISTEMATIZACION Y EXAMEN
DE LA GOTA GRUESA SANGUINEA

CAPITULO PRIMERO

EXAMEN MACROSCOPICO

I

GENERALIDADES

Como impresión primera parecerá presuntuoso examinar macroscópicamente (a simple vista) una muestra de sangre colectada en forma de gota. Pero aunque tal cosa pareciera, no por eso se deben dejar de informar ciertos datos tan ostensibles, que abstenerse de anotarlos es franca expresión de pereza, desidia o falta de compenetración del papel que debe desempeñar el que examina una muestra, sea ésta la que fuera.

Aunque la gota gruesa sanguínea no es una pieza de anatomía patológica, la cual debe sufrir inexorablemente los exámenes macro y microscópico, no menos cierto es que un laboratorista consciente debe informar sobre todas las anormalidades que observe o encuentre en las muestras examinadas, no importando que estas anormalidades sean consideradas por él como obvias. Hay que anotar e informar toda anormalidad por muy superflua que se le considere. La supuesta utilidad o inutilidad de estos datos nunca podrá ser considerada por el laboratorio sino por el médico tratante quien, en posesión del informe, hará la interpretación clínica correspondiente.

Al SISTEMATIZAR de esta manera el examen —macroscópico y microscópico— de la gota gruesa sanguínea, creo colaborar en la honestidad, conciencia y escrupulosidad con que se debe revestir todo técnico de laboratorio.

II

HIPOCROMIA

Recordemos que es a la hemoglobina, proteína en cuya composición entra el hierro, a la cual la sangre debe su color rojo característico.¹

Nadie que haya pasado por salas hospitalarias habrá dejado de ver, en múltiples ocasiones, muestras de sangre que han llamado su atención por la franca disminución de intensidad en su color.

Estas hipocromías son a veces tan marcadas, que el autor del presente trabajo considera una falta grave no anotarlas e informarlas, ya que, como veremos más adelante, la gota gruesa sanguínea es casi siempre el primer examen de laboratorio que se le verifica actualmente al enfermo que ingresa al Hospital General; y por consiguiente, es uno de los primeros informes que le llega al personal médico de la sala respectiva. De leer este dato, a pedir conteos globulares, dosificación de hemoglobina, cuadros de anemia, etc., no transcurren más que unos momentos: se ordenan esos exámenes y se habrá ganado un tiempo precioso. El médico se sentirá obligado a ello pensando, con justa razón, que para que se le informe sobre una hipocromía a *simple vista*, ésta deberá ser intensa.

Se podrá argüir que para que esto suceda ya la clínica habrá notado la anemia. Eso es cierto casi en la totalidad de los casos; pero fuera de que la mayoría de los pacientes son vistos después de la toma de la gota gruesa sanguínea, no menos cierto es que hay palideces que no son anemias (recordar el urocromógeno en ciertas enfermedades renales), así como también, hay rubicundeces que no son precisamente policitemias.

Fuera de las razones arriba apuntadas, hay una que debe privar sobre las demás: *El que examina una muestra está en la obligación de informar sobre todas las anormalidades observadas en la misma, sean de la importancia que sean. Allá el médico que las utilice o las descarte según su criterio clínico.*

Las *figuras 6 y 7* explican de manera más objetiva lo dicho en los párrafos anteriores. La *figura 6* presenta una gota gruesa sanguínea *normocrómica* (la del centro); y una *hipocrómica* (la primera de izquierda a derecha). Ambas no han pasado todavía por el proceso de coloración. Nótese la marcada diferencia de tonalidad en el color.

La *figura 7* presenta las mismas muestras: normocrómica e hipocrómica, pero ya coloreadas. Aún, después de haber sufrido los distintos tiempos del proceso de coloración, la diferencia entre ambas es marcada. Los términos de normocrómica e hipocrómica siguen siendo, etimológicamente, aceptables después de coloreadas ya que la muestra anémica tomará un color azul pálido y no el hermoso color azul del cual se hizo mención en páginas anteriores y que se obtiene cuando se seca la muestra ya coloreada a una temperatura de 37°C , más o menos.

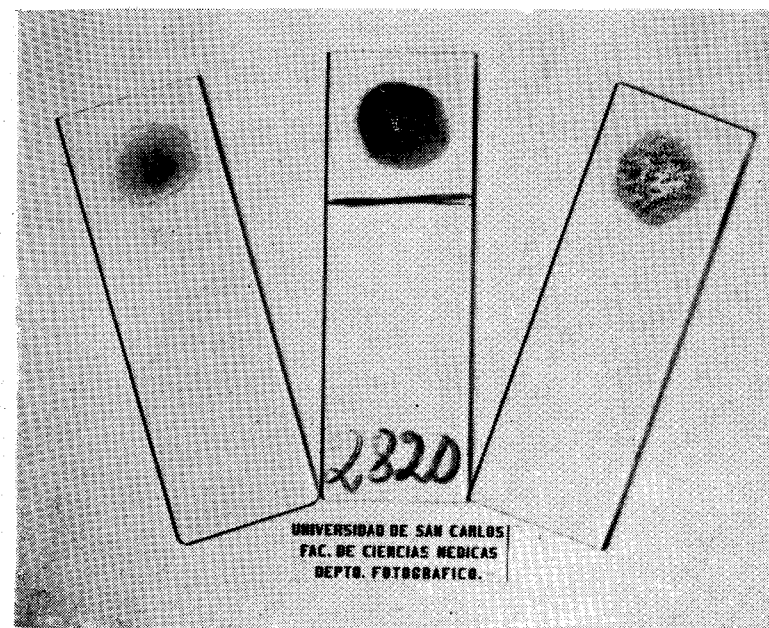


Fig. 6.—Examen macroscópico de la gota gruesa sanguínea. De izquierda a derecha: HIPOCROMICA, NORMOCROMICA y AUTOAGLUTINADA. Gotas gruesas sin colorear. (Fotografía original).

III

AUTOAGLUTINACION

Es un fenómeno a todas luces patológico puesto que consiste, principalmente, en la aglutinación de los glóbulos rojos de una persona, por su propio suero. Y digo principalmente, porque dicho trastorno tiene otras características que hasta la fecha no han podido ser explicadas satisfactoriamente.

Casi siempre la primera noticia de su existencia la da el laboratorista al observarla en la pipeta usada para el conteo de glóbulos rojos. Este examen hematológico no se podrá hacer empleando los medios corrientes para ello sino que recurriendo a otros medios cuyas descripciones no encajan en el presente estudio.

Probablemente este fenómeno no haya pasado desapercibido a la observación de médicos anteriores a Hayem, pero fué este hombre de ciencia quien primero hizo un comentario escrito al respecto, frente a un caso de cirrosis hepática hipertrófica con ictericia.²

Patrick Manson³ es el primero en describirla en la tripanosomiasis humana, en la cual el fenómeno se presenta con tanta frecuencia que, en los lugares o regiones en que la enfermedad es endémica, el hallazgo de la autoaglutinación es un signo presuntivo de alto valor en el cuadro diagnóstico.

Desde ese entonces ha sido observada formando parte de cuadros clínicos muy diversos: en el paludismo agudo y crónico, en la fiebre recurrente, en la sífilis, en la leucemia mieloide, en la hemoglobinuria paroxística, en la agnucitosis, en las púrpuras, en las neumonías, cánceres internos, etc. En fin, que pasan ya de la cincuentena los cuadros nosológicos en los cuales este fenómeno hace su aparición.

Un trabajo minucioso al respecto, desde el punto de vista bibliográfico, es la tesis de graduación del Dr. Danilo Zamora Salas.⁴ En él se presentan y estudian 13 casos de autoaglutinación.

Los estudios y comprobaciones de este trabajo, como las demás investigaciones hechas en otras latitudes respecto al mismo tema, fueron llevados a cabo *in vitro*. Se pensaba que este fenómeno no podría verificarse *in vivo* por una supuesta incompatibilidad con la vida.

Un gran adelanto en este problema ha sido dado por lo estudios recientes de Knisely y colaboradores,⁵ que han venido a demostrar la aglutinación de la sangre circulante en los pequeños vasos, mediante el examen microscópico directo de éstos en la conjuntiva bulbar de animales y seres humanos vivos. Comprobaron la ausencia de autoaglutinación en la sangre normal (los glóbulos rojos tendían, más bien, a rechazarse suavemente, unos a otros). Además, constataron que la corriente sanguínea normal es *laminar y concéntrica*, característica que obliga a los glóbulos rojos a tomar una disposición circulante óptima para el mantenimiento de la salud.

Hay que hacer constar que "nadie había intentado firmemente determinar y estudiar el gran número de agentes biológicos, químicos y físicos, y las reacciones inmunológicas capaces de causar aglutinación intravascular, antes que Knisely y sus colaboradores emprendieran dichos estudios. Tampoco se ha intentado relacionar los innumerales efectos de la sangre aglutinada o de glóbulos apelonados, con los síntomas de varias enfermedades, o bien, determinar el tipo, la valuación y el grado de las lesiones que puede ocasionar en los animales y en los seres humanos. Los conceptos del "apiñamiento" globular sanguíneo que han sido presentados por estos investigadores, son el resultado de siete años de extensos estudios y experimentos. En estos estudios se compararon la sangre aglutinada y los vasos anormales de personas sufriendo diversas enfermedades, con la sangre no aglutinada y las paredes vasculares normales de hombres y animales saludables. Se llevaron a cabo experimentos de laboratorio con centenares de anfibios y mamíferos anestesiados; se examinaron microscópicamente los vasos de la conjuntiva ocular de 600 individuos no anestesiados, sufriendo una amplia variedad de trastornos patológicos. La sangre no aglutinada ha sido observada exclusivamente en animales e individuos sanos; por el contrario, *la aglutinación^(a) sanguínea intravascular, y las paredes vasculares patológicas, se observaron en todas las personas enfermas examinadas.*"^{5a}

(a) El subrayado es del autor del presente trabajo.

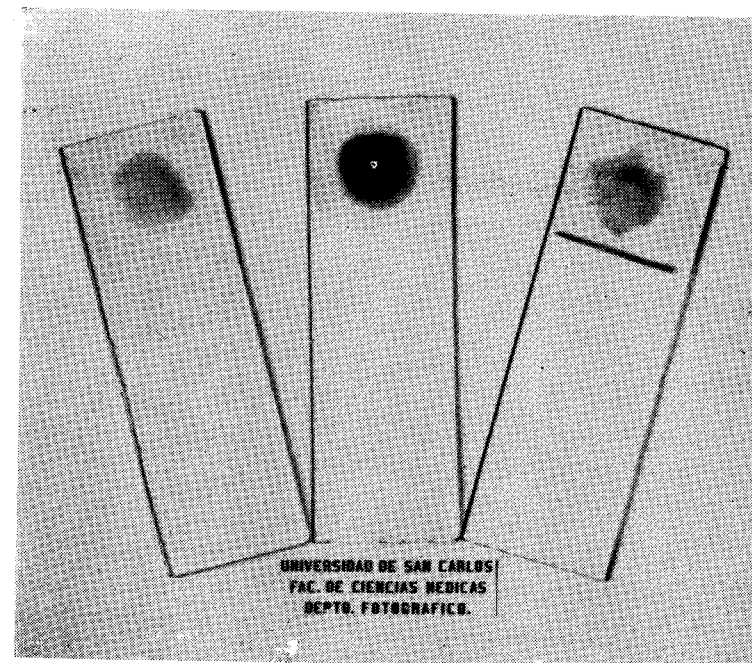


Fig. 7.—Las mismas preparaciones de la figura anterior, ya coloreadas, conservan las características descritas. (Fotografía original).

Por consiguiente, se debe considerar el fenómeno de autoaglutinación como UN SIGNO CLINICO INDISCUTIBLE, y el autor del presente trabajo hace la sugestión de que ninguna persona "curada" debe egresar de los centros hospitalarios con semejante alteración sanguínea.

Hay tendencia, actualmente, a considerar que "la sangre aglutinada conteniendo masas enormes y rígidas, puede ser el factor fundamental etiológico en ciertos estados psicopáticos al actuar como tapón permanente en los vasos que irrigan el sistema nervioso central. Esto permite una explicación lógica de los trastornos psíquicos que se observan tras las enfermedades infecciosas."^{5a}

Dada la importancia de estos estudios no puedo escapar al deseo de copiar literalmente los siguientes párrafos al respecto: "Es indudable que cualquier tipo de aglutinación intravascular es capaz de ocasionar lesiones orgánicas cuyo grado está determinado por las características físicas de los glóbulos rojos y de las masas aglutinadas, el estado de la paredes vasculares, y ciertos principios de hidrodinámica. Por supuesto, todavía no se sabe si la sangre aglutinada intravascular acompaña a todos los estados patológicos y enfermedades conocidas. Los glóbulos rojos estaban aglutinados en masas estancadas en los animales y en las personas enfermas o seriamente lesionadas. Estos estudios tal vez han revelado un proceso por medio del cual las enfermedades y lesiones sufridas por mucho tiempo, ocasionan la desorganización final de la maquinaria vital. Seguramente la aglutinación intravascular ocurre frecuentemente durante la vida de un individuo. El daño acumulativo efectuado cada vez, puede ser responsable de la declinación física y mental del hombre de edad avanzada."^{5b}

Como se habrá comprendido, este tema adquiere en la actualidad un interés subyugante, ya que la resolución de los problemas que presenta tiene importancia capital, importancia que apenas se vislumbraba hace unos pocos años, para la explicación de ciertos trastornos fisiopatológicos cuyas causas permanecían a oscuras; redundando así, estos estudios, en una terapéutica más científicamente encaminada.

Considero de tanta importancia el estudio de los problemas que ofrece a los investigadores el fenómeno de la autoaglutinación sanguínea, que no dudo en afirmar que producirá una revisión total, tanto de la fisiopatología como de la terapéutica general, puesto que el fenómeno o

trastorno mencionado no es de un sistema, de un aparato o de una víscera aislada, sino que abarcando toda la economía del individuo, tiene que ser considerado en función de las repercusiones generales que produce.

El Departamento de Gota Gruesa Sanguínea pone a disposición de los estudiosos que quieran iniciar investigaciones sobre el tema, todos los datos y hallazgos que diariamente se obtienen en él. Considero, fuera de toda exageración, que por ahora, el citado departamento es el único que puede señalar de una manera rutinaria, casi todos los casos de autoaglutinación que se presentan en el Hospital General de esta ciudad, puesto que necesariamente debe hacerse la gota gruesa sanguínea a todo paciente que ingresa en la mayoría de las salas del mismo.

Tan fuera de toda hipérbole está la consideración anteriormente hecha, que fué motivo de atención especial el dato sobre el número de autoaglutinaciones revelado en el Auditorium de la Facultad de Ciencias Médicas de Guatemala, a raíz de la plática en que informé sobre los primeros 2,000 exámenes de gota gruesa verificados en el departamento respectivo.⁶ Contrariamente a lo que la mayoría de nosotros suponía, el fenómeno de autoaglutinación no es raro en nuestro medio: dígalos si nó, el hecho de que en los 2,000 exámenes mencionados se hayan encontrado 246, es decir, un 12.36% (véase cuadro No. 1).

Y si se considera que este fenómeno no sólo se efectuará en los glóbulos rojos del mismo individuo, sino que actuará casi siempre, en los de su mismo grupo, se estará en condiciones de aquilatar la importancia de este trastorno en los exámenes de compatibilidad para las transfusiones sanguíneas. Si no se toma en cuenta este fenómeno en los enfermos que lo presentan "puede creerse que sus glóbulos pertenecen a un grupo sanguíneo y su suero a otro."^{7a} O dicho más específicamente, es posible creer que los glóbulos rojos pertenecen al grupo AB y el suero a cualquier otro. De ahí que Wintrobe⁷ aconseje, siempre que se clasifique un grupo como AB, que se haga una reacción de control entre los glóbulos rojos del paciente y su propio suero.

Pero una vez clasificada la muestra debidamente, podrá hacerse la transfusión, siempre desde luego, bajo vigilancia continua.

Las figuras 6 y 7 nos demuestran gráficamente el fenómeno de la autoaglutinación de manera macroscópica.

Inmediatamente que se termina de batir la gota, llama poderosamente la atención la progresiva formación de grumos o gránulos, más o menos gruesos según el grado de aglutinación, tomando el aspecto de polvo de ladrillo y separados por espacios claros ocupados por el suero. La lámina tercera, de izquierda a derecha, en la figura 6, presenta una gota gruesa fresca en la cual el fenómeno de la autoaglutinación es bastante intenso, tanto, que podría confundirse con una aglutinación de grupos sanguíneos diversos. En la figura 7, siempre en la lámina tercera, de izquierda a derecha, se expone una gota gruesa habiendo pasado por los distintos procesos de la coloración, ya seca y lista para ser sometida al examen microscópico. También aquí se observa la intensidad de la aglutinación. En las gotas gruesas que presentan este fenómeno la coloración deberá efectuarse con cuidado para evitar el arrastre de la muestra por el agua de lavado. Como se ve en la muestra coloreada de la figura 7, este arrastre empezaba a producirse en la periferia de la misma. La razón que se podría dar para que este contratiempo se produzca frecuentemente es el hecho de que la muestra autoaglutinada no presenta, como en las gotas normales, una superficie homogénea, pulida, sino que áspera, irregular, condicionada por el volumen de los grumos o gránulos, los cuales opondrían resistencia al agua del lavado, produciendo en consecuencia, el despegamiento parcial o total de la muestra.

Habrá oportunidad de volver sobre este mismo tema, cuando se aborde en el capítulo respectivo el estudio microscópico de los gametocitos del *Plasmodium falciparum* en gota gruesa de sangre autoaglutinada.

Sin embargo, se puede adelantar el hecho de que *in vivo* los fagocitos del bazo y del hígado dan cuenta rápida de los elementos aglutinados; y que los leucocitos, en general, no intervienen directamente en el fenómeno, ya que no forman parte de los grumos o conglomerados de aglutinación; antes bien, al examen microscópico, se les ve esparcidos por los espacios claros ocupados por el suero sanguíneo.

Concluyendo, sobre la autoaglutinación se puede decir que:

1) Es un fenómeno constatado, no sólo *in vitro* sino que también *in vivo*.

2) Únicamente se ha constatado, en los seres enfermos, nunca en los sanos.

3) Se debe considerar este fenómeno como un SIGNO CLINICO INDISCUTIBLE.

4) Para nuestros centros hospitalarios se sugiere no dar el alta a los enfermos mientras el fenómeno persista en ellos.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Gradwohl, R. B. H.: *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. Second Edition, The C. V. Mosby Company, St. Louis, U. S. A., 1938, p. 289.
- 2.—Hayem: *Du Sang et des Alterations Anatomiques*. Masson edit., 1889, p. 342. Citado por Danilo Zamora Salas en su trabajo de tesis de investidura de médico y cirujano, presentado a la Facultad de Ciencias Médicas de Guatemala, titulado *La Autohemaglutinación*, Sánchez & de Guise, Guatemala, 1944, p. 12.
- 3.—Pittaluga, Gustavo: *La Patología de la Sangre y el Sistema Reticulo-Endotelial*. Cultural, S. A., La Habana, Cuba, 1943, p. 193.
- 4.—Zamora Salas, Danilo: *La Autohemaglutinación*. Tesis de investidura de médico y cirujano, Sánchez & de Guise, Guatemala, 1944, ps. 4 a 17.
 - 4a. p. 17.
- 5.—Knisely, M. H., Bloch, E. H., Eliot, T. S. y Warner, L.: *Sludged Blood*. *Science*, 106:431, 7 de Noviembre de 1947; y Knisely, M. H., Eliot, T. S. y Bloch, E. H.: *Sludged Blood in Traumatic Shock, Microscopic Observations of Precipitation and Agglutination Flowing Through Vessels in Crushed Tissues*. *Arch. Surg.*, 51:220, Noviembre y Diciembre, 1945. Ambos trabajos, citados por la Revista *Abbotterapia*, Abbott Laboratories, Chicago, 1950, Número 105, p. 10.
 - 5a. ps. 10 y 11.
 - 5b. p. 19.
- 6.—Michelén, B. M.: *Fundación del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea en el Hospital General de Guatemala*. Informe Sobre los 2,000 Primeros Exámenes. Conferencia sustentada en el Auditorium de la Facultad de Ciencias Médicas, Septiembre de 1950.
- 7.—Wintrobe, Maxwell M.: *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. The C. V. Mosby Company, St. Louis, U. S. A., 1939, p. 305.

> <

CAPITULO SEGUNDO

EXAMEN MICROSCOPICO

I

GENERALIDADES

No hay duda de que existe cierto atractivo, por parte del microscopista, para examinar una tras otra, en sucesión continua, las preparaciones de gota gruesa. Pueda que ello sea debido a la multiplicidad de los cuadros que se presentan durante el examen; pueda que el motivo sea la riqueza de colores (azul, gris, violáceo, rosado, rojo-rubí, amarillo de oro, etc.) observada en los distintos campos microscópicos, rompiendo la monotonía de los exámenes rutinarios, o tal vez sea debido, en primera y última instancia, a que el laboratorista concienzudo considera cada uno de los exámenes como una competencia, como un juego al escondite, en el cual participan, por una parte, su paciencia y escurpulosidad, y por otra, los cuadros anormales que podrían presentarse en las muestras en estudio.

El hecho es que, siempre que la gota esté bien coloreada, dicha atracción existe, ya sea por una sola, o por las tres razones expuestas anteriormente.

II

CUADROS NORMALES

A).—*ELEMENTOS DE LA SERIE BLANCA*.—Todos los leucocitos existentes normalmente en la sangre circulante, conservan suficientes características morfológicas y tintoriales para ser identificados en la gota gruesa. (a)

En el mayor espesor de la muestra pueden considerarse como normales las cantidades que oscilan entre 8 y 14 leucocitos por campo de 970 aumentos (véase *fig. 8*). Estos datos serían, según experiencia del autor, para glóbulos blancos cuyos conteos fluctuasen entre 6,000 y 9,000 por milímetro cúbico.

Recuérdese el elevado número de leucocitos al nacer; el descenso de los mismos en la primera semana; la vuelta a ascender o aumentar en la semana siguiente, para descender desde ese momento y de manera progresiva, hasta alcanzar las cifras promedios normales al llegar a la edad de 6 años.¹

Además la procedencia de la muestra de sangre a estudiar influye en los resultados de los conteos leucocitarios, según proceda de los vasos capilares (pinchazo en el dedo o en el lóbulo de la oreja) o de los vasos venosos (punción venosa). La cantidad de leucocitos siempre es mayor en el primero de los casos apuntados.

1) *LOS GRANULOCITOS*:

Mal llamados polinucleares, puesto que en cada elemento de esta serie no existen varios núcleos, antes bien, recuérdense los filamentos de cromatina que unen los lóbulos nucleares. Si se trata de nombrar a los más evolucionados de estos elementos, más valdría rotularlos con el término de polimorfonucleados, como acostumbran autores serios.

(a) Para una mayor ilustración de los temas siguientes remitimos al lector a los libros de Hematología.

El término de *granulocitos* dado a estos elementos parece ser más científico, refiriéndose a las granu'aciones protoplasmáticas y su comportamiento frente a los colorantes neutros, ácidos o básicos. De allí los términos de *granulocitos neutrófilos*, *acidófilos (eosinófilos)* y *basófilos*. Dichas granulaciones son específicas, pues cada una de ellas encuéntrase únicamente en determinado grupo de leucocitos y sólo en ellos; característica que se observa aún en las células jóvenes, inmaduras, siendo por consiguiente, de inestimable valor para la clasificación morfológica de los glóbulos blancos.

a) GRANULOCITOS NEUTROFILOS:

Llamados simplemente *neutrófilos*, son normalmente, los más abundantes, pudiendo ser fácil y perfectamente diferenciados en la gota gruesa. En la *fig. 9* puede observarse gran cantidad de estos elementos: 1) neutrófilos polimorfonucleados propiamente dichos; y 2) neutrófilos en *cayado*, menos abundantes; uno de estos últimos se observa nitidamente en la *fig. 10* (a las 12 horas) en una bien dibujada forma de *S*. En esta misma figura puede apreciarse también un neutrófilo juvenil —metamielocito— (a las 7 horas) inmediatamente arriba de otro elemento de la serie blanca que identificaremos en su oportunidad y que está situado prácticamente en la periferia.

La *fig. 8* representa un campo microscópico de una gota gruesa normal. En ella se presentan todos los elementos de la serie blanca que existen normalmente en la sangre circulante, a excepción del granulocito basófilo; ya que hubiese sido una feliz casualidad encontrarlos reunidos todos para fotomicrografiarlos en un solo campo microscópico. Obsérvense las imágenes borrosas de dos leucocitos, apareados, uno de los cuales, el de la izquierda, es un neutrófilo polimorfonucleado. La razón de dicho supuesto defecto o falla se explica al recordar que debido a las características de la gota gruesa, no es posible enfocar totalmente y de una vez, todo el espesor de la misma, sino que tiene que ser estudiada en sus diversos *planos ópticos*; véase si no, la buena definición fotográfica de los otros elementos de la mencionada figura, situados todos en un mismo plano.

A pesar de la opinión en contra, de varios investigadores, el protoplasma de los granulocitos neutrófilos puede conservarse en la gota gruesa. Las causas por las cuales cree el autor del presente trabajo que no han podido ob-

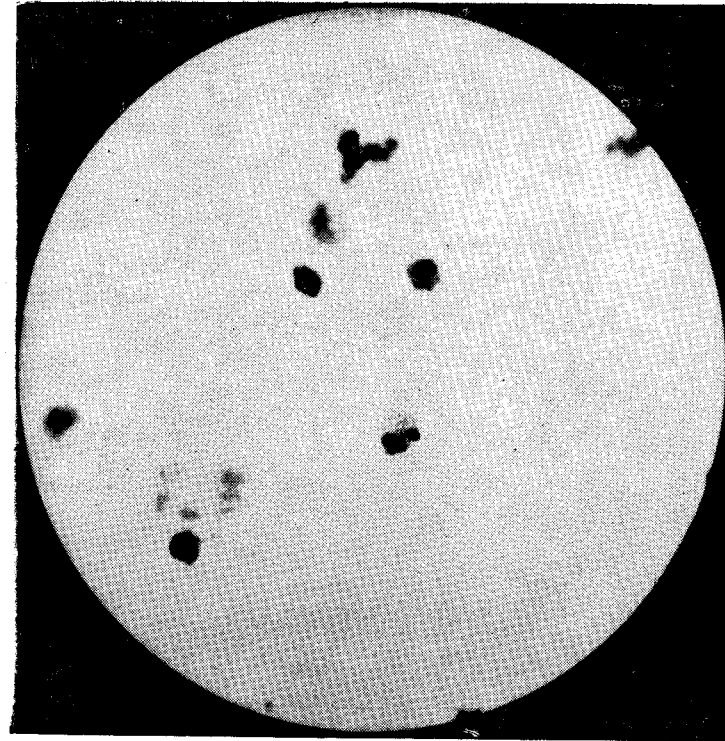


Fig. 8.—Campo microscópico de una gota gruesa sanguínea normal. Leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

servar el protoplasma de estos leucocitos, son: 1) La proporción en que mezclan el colorante y el agua: una parte de aquél por 50 de ésta² —proporciones que han permanecido como clásicas— haciendo actuar esta mezcla por 45 minutos o más; 2) Con estas proporciones (poca solución madre y gran cantidad de agua) y por añadidura con tiempo de coloración prolongado, forzosamente la lisis actúa más allá de los glóbulos rojos ortocromáticos, destruyendo, entre otras cosas, la trama protoplasmática del granulocito neutrófilo, mucho más débil, más friable, por decirlo así, que los elementos nucleares del mismo, que permanecen intactos.

Confirmación de lo arriba expresado son las *figuras* 9 y 10. En la primera el tiempo de coloración y por consiguiente, el de hemólisis, se prolongó más allá de los 25 minutos estipulados por el autor en el *Método de Coloración en Serie*. El resultado es visible: la mayoría de los neutrófilos han quedado reducidos a sus núcleos; apenas se bosqueja uno que otro protoplasma en alguno de ellos. En la segunda figura, por el contrario, el método de coloración usado fué el *Rápido o Urgente* (cuatro minutos), obteniéndose un resultado a todas luces muy diferente al anterior. Aquí no sólo se observa el protoplasma del neutrófilo en cayado mencionado en líneas anteriores, sino que también se pueden distinguir las granulaciones específicas del mismo.

En esta misma figura, se hará hincapié más adelante, sobre otros elementos hematológicos respetados por la hemólisis.

Por lo demás, la coloración de estos leucocitos en gota gruesa es igual, poco más o poco menos, a la que toman en el frote, obtenida en ellos siempre con la solución Giemsa: núcleo azul-violáceo o rojo-violáceo, en ocasiones con exquisiteces de coloración cromatínica. Protoplasma más suavemente coloreado, rosado o rosado-violeta; las granulaciones, que son finas y abundantes, se tiñen de color gris azulado o decisivamente de rojo, según sean formas jóvenes o viejas, respectivamente, los elementos en estudio.^{1a}

Es el elemento blanco que se encuentra en mayor proporción en la sangre circulante (55 a 65%).^{1b}

b) GRANULOCITOS ACIDOFILOS:

Más conocidos como *EOSINOFILOS*, son de igual tamaño que los neutrófilos, pero las lobulaciones nucleares

de aquellos pasan rara vez de dos, en contraposición de éstos que pueden llegar hasta cinco. Aunque su número es escaso en la sangre circulante normal —2 a 4%— cuando se encuentran, saltan a la vista inmediatamente por el hermoso color anaranjado (amarillo-rosado) que toman las granulaciones específicas contenidas en el protoplasma. Estas granulaciones, mayores que las contenidas en el protoplasma de los neutrófilos, pueden tomar tonalidades diversas según el pH del agua empleada en la coloración, sirviendo de guía como indicadores de la reacción —neutra, ácida o alcalina— según se tendrá ocasión de ver más adelante, cuando se hable del conteo de estos elementos.

Véase el eosinófilo con el núcleo bilobulado y las granulaciones específicas gruesas en la *fig. 8*, inmediatamente abajo del centro de la misma.

El protoplasma de estos leucocitos resiste mucho más la acción desintegrante del agua contenida en el colorante. La mayoría de las veces, cuando la coloración se ha prolongado demasiado, es el único protoplasma de la serie granulocítica que persiste. Cuando la membrana protoplasmática se rompe, las granulaciones se esparcen, dando lugar a probables errores o confusiones por parte del microscopista principiante, como se tendrá ocasión de ver en la sección dedicada a confusiones y errores.

c) GRANULOCITOS BASOFILOS:

Corrientemente denominados BASOFILOS, son los elementos de la serie blanca que se encuentran en menor número en la sangre circulante normal. Las diferencias con las otras dos series de granulocitos son marcadas, razón que induce a ciertos autores a no estar de acuerdo en incluirlos entre ellos. Son un poco más pequeños que los neutrófilos y eosinófilos. El núcleo, algo más grande que el de los anteriores, toma formas irregulares, siendo las lobulaciones la excepción y no la regla. Las granulaciones específicas son numerosas, unas finas y otras gruesas, de formas irregulares, que llegan a ocultar casi la totalidad del núcleo. El motivo por el cual se encuentran muy pocas en los elementos ya coloreados tiene su explicación en el hecho de que son muy solubles en el agua de lavado, que al arrastrar el colorante, se lleva también un buen número de ellas, dejando en su lugar vacíos que semejan vacuolas, inexistentes en los basófilos *in vivo*.^{1d}

El núcleo se tiñe de color rojo-violáceo o azul oscuro. Las granulaciones adquieren una tonalidad rojo-negruzca o violeta oscura.

Es frecuente observar alrededor de estos elementos, haciendo contacto con la membrana protoplasmática, filamentos de color rojo-vinoso, formando una tosca red y que probablemente se deban a restos de fibrina. Ningún otro elemento de la serie blanca tiene esta característica.

2) LOS LINFOCITOS:

Son los elementos blancos que por su número en la sangre circulante normal, ocupan el segundo lugar (20-30%),^{1e} inmediatamente después de los neutrófilos.

La mayoría tiene un tamaño pequeño, tanto como el de un glóbulo rojo o a veces menos, constituyendo los elementos celulares más pequeños de la corriente sanguínea. Sin embargo, hay otros, que constituyen la minoría, con tamaño mucho mayor; de ahí la división de linfocitos en *grandes* y *pequeños*.

El tamaño del núcleo es más o menos constante, no importando que el linfocito sea grande o pequeño. Es el protoplasma el que, variando en sus dimensiones, encasilla a estos elementos en tal o cual grupo. De color violeta oscuro la mayoría de las veces, el núcleo puede, siempre con el colorante Giemsa, tomar una tonalidad azul intensa, pudiéndose observar entonces la forma redonda casi constante —semejando gotas de tinta— ocupando en estos casos una posición central sobre todo en los linfocitos pequeños. Raras veces se presenta en forma de ovoide o con alguna escotadura, entonces es casi siempre excéntrico.

El protoplasma es escaso en todos ellos, característica que se hace más ostensible en los linfocitos pequeños con núcleo central; en éstos, es apenas visible, distribuyéndose regularmente por la periferia del núcleo.

De color azul celeste, el protoplasma puede observarse mucho mejor en los grandes linfocitos. No existen granulaciones específicas de ninguna clase, pero en algunos de éstos pueden percibirse, muy distintamente, granulaciones *azurófilas* de color púrpura en distintas tonalidades, llamadas así por ser el azul II el que les da esa coloración.^{1f} Como dato importante se puede agregar que existe alrededor del núcleo, siempre en el protoplasma, una zona es-

trecha, acromática; este detalle es de gran valor, como se verá en las líneas siguientes para diferenciarlos de algunos monocitos de igual tamaño.

En la *fig. 8* se aprecian 4 linfocitos pequeños, observándose únicamente los núcleos intensamente coloreados. La *fig. 9* presenta varios linfocitos pequeños y uno grande (inmediatamente abajo del centro de la fotomicrografía), con su núcleo excéntrico, ovalado y el protoplasma bien definido, coloreado mucho menos intensamente que el núcleo, pero en el cual se pueden observar las granulaciones azurófilas mencionadas anteriormente. La *fig. 10* presenta gran número de estos elementos linfoides, de diversos tamaños, con núcleos de diferentes formas, centrales o excéntricos y con escotaduras o sin ellas.

3) LOS MONOCITOS:

Constituyen los elementos figurados de mayor tamaño en la sangre; tanto, que en ocasiones sobrepasan dos veces el diámetro de los glóbulos rojos. Encuéntrase en proporción mayor que los eosinófilos —4 a 8%—¹⁸ pero en mucha menor que los linfocitos.

Antes de seguir adelante, se transcribe un párrafo del trabajo que en relación a la fagocitosis de hematozoarios por neutrófilos en cayado, presentó el autor al II Congreso Nacional de Medicina, celebrado en Noviembre de 1951:³

“De acuerdo con Mechnikoff, los leucocitos se dividen, desde el punto de vista de sus funciones fagocíticas, en dos grandes grupos: 1) Los que se encargan de englobar y digerir las bacterias y cocos, facultad propia de los neutrófilos, a los que denominó *micrófagos*. 2) Los que se encargan de englobar y digerir parásitos —protozoarios— eritrocitos, restos celulares, etc., facultad propia de los monocitos, a los que llamó *macrófagos*. En apoyo de esta división vinieron Tarassevitch y colaboradores demostrando la presencia de sustancias bactericidas en el exudado rico en neutrófilos o micrófagos; y la ausencia de las mismas en el exudado rico en monocitos o macrófagos.”

Sin embargo, el término de macrófagos dado a estos elementos sería para Schilling⁴ una forma puramente funcional que provendría de las mismas células reticulo-endotheliales productoras de los monocitos, pudiendo éstos, en última instancia, convertirse en macrófagos.

Estas células se prestan a confusión con los demás elementos de las distintas series, sobre todo para los principiantes, por lo cual el autor considera de utilidad verter en las líneas siguientes los conceptos que al respecto se encuentran en Gradwohl:^{4a} “Los monocitos fueron llamados anteriormente grandes células mononucleares y transicionales. Se encuentran normalmente en la sangre circulante en la proporción de 4 a 8%. Son usualmente mucho más grandes que los granulocitos, pero pueden tener dimensiones tan reducidas como las de un pequeño linfocito. El citoplasma es corrientemente bastante extenso, de color azul “humoso”, rosado-violeta pálido o azul, y frecuentemente cubierto de un polvo fino y rosado. Puede o no, tener vacuolas. La célula presenta un contorno muy irregular, lo que ayuda a diferenciarla de los linfocitos. Con el colorante Wright la diferenciación con los linfocitos es muy difícil y a veces imposible. El núcleo es grande y puede tener la forma oval, de frijol o de riñón, y puede aún, presentarse en forma lobulada. Ocasionalmente puede tener un cercano parecido con el núcleo del neutrófilo juvenil. Puede ser fácilmente diferenciado por el color y la estructura del citoplasma. Algunas veces el núcleo puede aparentar la forma de salchicha, y otras, el nucleolo es claramente visible. Los bordes raras veces son lisos; el contorno aparece arrugado en vez de liso o aplanado. Los monocitos son corrientemente granulados, con el citoplasma lleno de granulaciones muy finas de color rosado, las cuales, cuando se colorean intensamente, pueden ser confundidas por el principiante con las granulaciones neutrófilas. Son sin embargo, menos características que las granulaciones neutrófilas, y la diferenciación puede ser posible. Los fagocitos de muy gran tamaño han sido llamados macrófagos.”

“A diferencia de los linfocitos, los monocitos no presentan la zona perinuclear no coloreada. La diferenciación de estas células de los linfocitos se hace como sigue:

1) Los monocitos son usualmente más grandes que los linfocitos, pero el tamaño no es un punto de diferenciación si todas las otras características de la célula demuestran claramente que es un monocito.

2) El núcleo del monocito es arrugado; el del linfocito es liso, y corrientemente se observan en él los elementos cromatinicos intensamente coloreados. En el monocito, y ocasionalmente, puede verse el nucleolo.

3) La estructura del monocito es más delicada que la estructura del linfocito; por consiguiente, la célula se colorea más pálidamente que el linfocito.

4) El monocito tiende a manifestar grandes variaciones en la forma del núcleo.

5) El linfocito corrientemente manifiesta una zona perinuclear clara, sin colorear, mientras que el monocito está comúnmente desprovisto de dicha zona.

6) El monocito muestra un polvo rosado en vez de granulación, mientras que el linfocito puede tener o no tener dicha granulación, o mostrar un punteado azurófilo.

7) El citoplasma del monocito es azul "humoso", o gris, mientras que el de los linfocitos es decisivamente o azul claro o azul oscuro."

La *fig. 8* presenta un monocito —algo borroso por no estar en el plano de enfoque— situado inmediatamente abajo de la rama vertical de la Y formada por las lobulaciones nucleares superpuestas parcialmente, de dos neutrófilos segmentados. Más adelante se tendrá ocasión de ver fotomicrografías en las cuales se observan monocitos —macrófagos en esos casos— cuyos citoplasmas contienen hemozoína, debido a la fagocitosis sufrida por los gránulos de este pigmento malárico. Además, en esa oportunidad se persistirá un poco más sobre esta importante función —fagocitosis— someramente mencionada.

BIBLIOGRAFIA

Y <

1.—Varela, Manuel Enrique: Fundamentos de la Hematología. El Ateneo, Buenos Aires, 1947, p. 81.

1a. Id. p. 84

1b. Id. p. 82

1c. Id. p. 85

1d. Id. p. 87

1e. Id. p. 89

1f. Id. p. 90

1g. Id. p. 91

2.—Wilcox, A.: Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 22.

3.—Michelén, B. M.: Acotaciones Sobre Inmunidad en el Paludismo. Fagocitosis de Hematozoarios por Neutrófilos en Cayado. Informe de un Caso. Trabajo presentado al II Congreso Nacional de Medicina, Guatemala, Noviembre de 1951.

4.—Gradwohl, R. B. H.: Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. Second Edition, The C. V. Mosby Company, St. Louis, U. S. A., 1938, p. 300.

4a. Id. p. 342

Y <

CAPITULO TERCERO

CUADROS ANORMALES

I

GENERALIDADES

Después de lo explicado a lo largo del capítulo anterior, será mucho más fácil para el microscopista o para el médico general, darse cuenta de los cuadros anormales que pueden pasar ante sus ojos en el transcurso de los exámenes de gotas gruesas sanguíneas.

En este capítulo, el autor quiere hacer hincapié sobre el valor que tiene el método en estudio para el práctico general —falta de equipo y de experiencia en laboratorio clínico— ya que no sólo lo usará en la búsqueda de los protozoarios sanguíneos, sino que, como se verá en las siguientes líneas, lo empleará en un campo mucho más amplio, en el cual, el ojo avizor podrá descubrir una riqueza de datos, no puestos en evidencia hasta ese entonces, debido al limitado radio de acción en que se han mantenido las posibilidades y usos de la gota gruesa sanguínea.

B).—*ELEMENTOS DE LA SERIE ROJA*.—Recuérdese lo que se dijo en ocasión de estudiar comparativamente el frote y la gota gruesa: en ésta se trata de "destruir por hemólisis los glóbulos rojos, haciendo por consiguiente la preparación, ópticamente más homogénea, permitiendo así el examen microscópico en todo su espesor por medio de la luz transmitida."

Esta hemólisis se lleva a cabo mediante el agua contenida en el colorante diluido. Ahora se puede aclarar un concepto que, a primera vista y desde un aspecto de exquiritez científica, podría considerarse como error de apreciación: la hemólisis es el paso de la hemoglobina del gló-

bulo rojo al medio hemolizante, difundiendo en él; esto y sólo esto debe considerarse como tal fenómeno, ya que puede existir sin necesidad de que la membrana eritrocitaria se disuelva o fragmente.¹ Sin embargo, el autor empleará este término en su acepción más generalizada: sinónimo de destrucción o de disolución total de los glóbulos rojos.

Más adelante, al hablar sobre el aspecto del *Plasmodium vivax* en gota gruesa, se volverá de nuevo sobre este punto.

Un color azul claro, azul celeste o azul grisáceo, uniforme, abarcando toda la extensión que ocupaban los glóbulos rojos apilados o superpuestos, es el resultado de la acción hemolizante y colorante simultáneas. Ese hermoso fondo homogéneo (véanse *figs. 8 y 9*) que se ve en todos los campos microscópicos de la preparación es lo que facilita de manera ostensible la búsqueda del hematozoario, ya que éste, aunque incluido siempre dentro del glóbulo rojo, habrá sido respetado por la hemólisis, se habrá *puesto en libertad*, pudiéndose percibir entonces mucho más fácilmente.

De los glóbulos rojos que han alcanzado su completa maduración —*eritrocitos ortocromáticos*— ninguno escapa a la destrucción y disolución consecutivas bajo la acción del líquido hemolizante. No sucede lo mismo con los glóbulos rojos jóvenes, en los cuales uno o varios de sus elementos estructurales resisten a dicha acción. Estos restos celulares se ponen de manifiesto en forma de POLICROMASIA y de PUNTEADO BASOFILO.

Para dicha investigación se le debe dar preferencia a las gotas gruesas coloreadas por el Método Rápido (Urgente), o los métodos lentos que no pasen de los 25 minutos, evitándose, por consiguiente, una prolongada acción hemolítica del colorante, fenómeno que se dejaría sentir aún en los glóbulos rojos jóvenes, destruyendo una buena proporción de los mismos con la consiguiente inexactitud en los resultados.

Las razones por las cuales creo que una buena parte de autores serios no contemplan la Policromasia y el Punteado Basófilo en la gota gruesa, son las mismas que expuse, en este mismo capítulo, para explicar la destrucción del protoplasma de los granulocitos neutrófilos en preparaciones coloreadas por ellos.

1) POLICROMASIA:

El eritrocito *policromatófilo*, más conocido como *reticulocito* (dependiendo del método de coloración),^{1a} se encuentra en la sangre normal en una proporción que oscila entre 0.50 y 1.50%. Parece ser que estos elementos —colocados en la escala anterior inmediata a la de los eritrocitos maduros— resisten un poco más a la acción hemolizante,² aunque no haya, a este respecto, acuerdo unánime. Sin embargo, así se podría explicar la persistencia, en la gota gruesa, de la estructura reticular, de color azul oscuro, ocupando un área igual a la que ocuparía uno de estos elementos figurados, que dicho sea de paso, generalmente es de diámetro mayor que el eritrocito maduro. El hallazgo de este remanente de la policromasia de todo eritrocito joven, demuestra de manera indiscutible la persistencia de la función eritropoyética, en mayor o menor grado, según la cantidad de retículos observada en la preparación en estudio.

En la *figura 14* se pueden observar varias de estas estructuras —restos celulares— distinguiéndose una de ellas muy claramente en la parte inferior, un poco a la izquierda de las 6 horas. En la *figura 16* se ven también gran número de estos elementos; sobre todo se discierne distintamente el que está colocado en la precisa posición de las 12 horas; pero las más de las veces, tales retículos se observan como la fotomicrografía antes mencionada ha captado la mayoría de ellos: como copos de nubes, que se destacan por el color azul oscuro, sobre el fondo azul claro de la preparación. En más de una ocasión puede apreciarse la estructura de dichas nubes, distinguiéndose en vez del retículo antes mencionado, una organización gránulo-filamentosa que recuerda o bosqueja muy escuetamente, la estructura reticulocitaria observada en las coloraciones vitales, en la cual los gránulos se colocan en los puntos nodales de la red.

2) PUNTEADO BASOFILO:

Si la *policromasia* es normal dentro del porcentaje de reticulocitos antes mencionado, no sucede lo mismo con el *Punteado Basófilo*, el cual, como explicaremos en el siguiente capítulo, es un hallazgo francamente patológico.^{1a}

C.—*LAS PLAQUETAS*.—Mal llamadas *trombocitos* (ya que hasta la fecha no se ha demostrado que sean células son, generalmente, los elementos figurados más pe-

queños en la corriente sanguínea. De 2 a 4 micras de diámetro, por término medio, pueden alcanzar tamaños muchas veces mayor que el más grande de los elementos celulares circulantes. Wintrobe³ habla de plaquetas gigantes que llegan a tener 25 a 50 micras de longitud. En opinión de este autor, la diversidad tanto de tamaño como de forma, se encuentra sobre todo en las fases más activas de la regeneración globular.

En las preparaciones de gota gruesa estos elementos resisten a la acción de la hemólisis; y en las muestras óptimamente coloreadas las características tintoriales son análogas a las obtenidas en el frote. En ocasión en que se trató de la hechura de la gota gruesa se dijo que el autor prefería tomar la muestra del pulpejo de los dedos debido a que "en la mayoría de los casos el lóbulo auricular tiene abundantes vellos que interfieren con la buena toma de la muestra, aglutinando elementos figurados, de preferencia plaquetas, que al examen microscópico se pueden ver formando verdaderos *bancos* o grupos aislados; otras veces este número de plaquetas se desparrama por unidades en toda la extensión de la preparación, confundiendo en ocasiones, al microscopista principiante. . . ." Púedese agregar ahora otro detalle de técnica, como es el de obtener la muestra siempre que la sangre fluya espontáneamente o "con una ligera expresión de las partes que circundan la pequeña herida" pues en caso contrario, el número de plaquetas observadas en la gota gruesa será mucho mayor que lo normal, debido a la tendencia de estos elementos —como es de todos sabido— de afluir en gran número hacia estas soluciones de continuidad. Lo mismo sucede cuando se deja transcurrir entre el pinchazo y la toma de la muestra, un tiempo medianamente largo. De ahí también que cuando se toma más de una muestra aprovechando un solo pinchazo, siempre es la última de las preparaciones la que presenta mayor número, formando los *bancos* o grupos antes mencionados.

Además en las coloraciones óptimas se puede distinguir una serie de gránulos de color rosado o a veces decisivamente rojos —simulando restos cromatínicos— esparcidos en el interior de las plaquetas. Tales gránulos resaltan claramente sobre el resto del elemento que se tiñe de un color rosado-violeta o simplemente de un azul claro. A estas partes las denominó Puchberger *cromómero* y *hia-*

lómero respectivamente, atendiendo tanto a las características tintoriales de ambas como al aspecto hialino de la última.

En la *figura 10* se observan muy distintamente las plaquetas formando bancos, grupos o aún, unidades aisladas. En la mayoría de ellas puede apreciarse la delicada organización interior. Esta fotomicrografía pertenece a una gota gruesa que fué tomada la última en una serie de cuatro; por tanto, el aflujo de plaquetas fué mayor, corroborando así lo dicho en líneas anteriores a este respecto.

BIBLIOGRAFIA

> <

1.—Varela, Manuel Enrique: Fundamentos de la Hematología. El Ateneo, Buenos Aires, 1947, p. 70.

1a. Id. p. 60.

2.—Daland, G. A. y Zetzel, L.: The Resistance of Reticulocytes to Hypotonic Solutions of Sodium Chloride and of Plasma. Am. Jour. Med. Sci., 191:467, 1936. Citado por Wintrobe, Maxwell M.: Clinical Hematology. Second Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 61.

3.—Wintrobe, Maxwell M.: Clinical Hematology. Second Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 187.

II

HALLAZGOS HEMATOLOGICOS

A) SERIE BLANCA

- 1) *Leucocitosis*: Desde el primer momento en que el lector observa las *figuras* 9 y 10 se da cuenta del aumento del número de leucocitos en ambas; hallazgo que resalta más al compararlas con la fotomicrografía representada en la *figura* 8. Recuérdese, además, que en el mayor espesor de la muestra pueden considerarse como normales, cantidades de leucocitos que oscilan entre 8 y 14 por campo microscópico, correspondiendo éstas a cantidades cubomilimétricas de 6,000 a 9,000 glóbulos blancos.
- 2) *Leucocitosis con Neutrofilia*: Además del franco aumento de leucocitos (más del doble de la cantidad máxima tenida como normal) en la *figura* 9 se puede observar, de manera ostensible, la preponderancia de los elementos de la serie neutrófila.
Para los efectos y validez de estas determinaciones el autor considera que normalmente, los neutrófilos deben doblar en número a los linfocitos.
- 3) *Leucocitosis con Linfocitosis*: Bajo las mismas circunstancias que la figura anterior (un aumento de leucocitos, en este caso tres veces mayor que lo normal) la *figura* 10 muestra un predominio marcado de los elementos de la serie linfoidea.
- 4) *Leucopenia*: Fácilmente determinable, la disminución de leucocitos puede observarse en las *figuras* 14, 15 y 16.

Del mismo modo que en la leucocitosis, en este caso puede haber cuadros neutro-

pénicos y linfopénicos. Las fotomicrografías antes mencionadas, son, como se explicará en su oportunidad, todas positivas de hematozoarios. Las muestras fueron tomadas varias horas después del descenso de la fiebre, en cuyo estadio la leucopenia es la regla. Siendo las enfermedades *leucopenizantes* menos numerosas que las que se acompañan de un aumento de glóbulos blancos, este hallazgo, con ausencia del hematozoario en la muestra, es un dato precioso del cual el clínico puede hacer uso para apoyar o descartar un supuesto cuadro nosológico.

- 5) *Eosinofilia*: A pesar de lo intenso del color que adquirieron los leucocitos por demasiada exposición al tomar la fotografía del campo microscópico representado en la *figura 11*, en la región central de la misma se ven tres eosinófilos con sus granulaciones protoplasmáticas características. En el "apelotonamiento" de leucocitos situado en el cuadrante superior e izquierdo de la figura en cuestión, se pueden observar dos eosinófilos más en la periferia del campo. Dado el porcentaje de estos leucocitos, no será posible, normalmente, verlos en cada uno de los campos de la preparación, sino que en cada 3 o 4 de ellos.
- 6) *Conteo de Eosinófilos*: Además de las enfermedades comúnmente conocidas (parasitismo intestinal, alergias, etc.) en las cuales la eosinofilia se manifiesta de manera ostensible; fuera también del dato precioso en que se convierte la aparición de los primeros eosinófilos, en enfermos en cuyas fórmulas sucesivas habían desaparecido —índice, casi siempre, de franca convalecencia— el médico general o especializado se ve cada día más obligado a requerir del laboratorista el conteo de eosinófilos, debido a que la acción de medicamentos —tales como la Cortisona, Acth, etc.— que en sucesión continua se agregan al arsenal te-

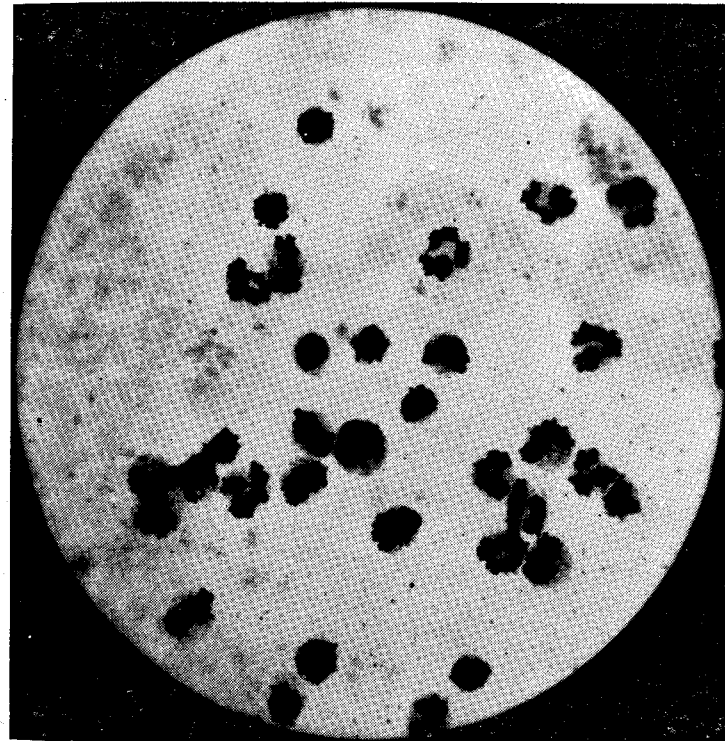


Fig. 9.—Leucocitosis con neutrofilia. Demás leyendas en el texto.

(Fotomicrografía original).

rapéutico, está en mayor o menor grado relacionada a esta clase de granulocitos.

De la gota gruesa sanguínea puede obtenerse dicho dato de manera rápida y segura, en dos formas: a) Sea dando el número de eosinófilos por ciento, dato que se solicita con mayor frecuencia; o b) Determinando el número de estos elementos por milímetro cúbico, detalle de mucho valor para el clínico y que el autor del presente trabajo ignora por qué aquél no lo solicita mucho más a menudo.

a) *Conteo Porcentual*: Para encontrar el porcentaje de eosinófilos por medio de la gota gruesa sanguínea, cuéntense 500, 600 o 1,000 glóbulos blancos, incluyendo los eosinófilos en el conteo; llévase, además, por aparte, la cuenta de los eosinófilos que se encontraron en el número de glóbulos blancos contados. Con estos dos datos a la mano (número de glóbulos blancos contados y número de eosinófilos contenidos en ellos) será fácil obtener el porcentaje.

Fórmula:

$$X = \frac{\text{Número de eosinófilos} \times 100}{\text{Número de glóbulos blancos contados}}$$

Aplicación:

Suponiendo que en los diversos campos microscópicos recorridos se contaron 1,000 glóbulos blancos, 75 de los cuales eran eosinófilos, se tendrá:

$$\frac{75 \times 100}{1000} = 7.5 \text{ eosinóf. por ciento}$$

O lo que es lo mismo, basta dividir el número de eosinófilos por el número de centenas de glóbulos blancos contados. Así por ejemplo, si se hubiesen contado 500 elementos, divídanse los eosinófilos por 5; si se contaron solamente 600, divídanse entre 6.

b) *Conteo Cubomilimétrico de Eosinófilos:* Es, la mayoría de las veces, de la competencia del laboratorista, ya que se tiene que hacer uso de la pipeta de dilución para conteo de elementos blancos y la cámara cuentaglóbulos respectiva.

Procédase de la manera siguiente: 1) Como en el caso anterior, cuéntense 500, 600 o 1,000 glóbulos blancos, incluyendo los eosinófilos; 2) Llévase además, por aparte, la cuenta de los eosinófilos que se encontraron en el número de glóbulos blancos contados; 3) Con la pipeta y la cámara arriba mencionadas hágase la cuenta de elementos blancos por milímetro cúbico.

Con estos tres datos, procédase al cálculo respectivo.

Fórmula:

$$X \frac{\text{Núm. de eosinóf.} \times \text{glób. blancos por mm.}^3}{\text{Núm. de glób. blancos contados}}$$

Aplicación:

Suponiendo, como en el caso anterior, que en los diversos campos microscópicos recorridos se contaron 1,000 glóbulos blancos, 75 de los cuales eran eosinófilos; y que, además, el número de los elementos blancos es de 8,000 por milímetro cúbico, se tendría:

$$\frac{75 \times 8000}{1000} = 600 \text{ eosinóf. por mm.}^3$$

Recuérdese que el número de eosinófilos oscila, normalmente, entre 100 y 200 por milímetro cúbico.^{1a}

No hay duda de que, para mayor exactitud, las técnicas que utilizan conteos directos deben preferirse a las acabadas de describir; sin embargo, no siempre es posible verificarlas (laboratorios de poblados pequeños, médico general, etc.) recurrién-

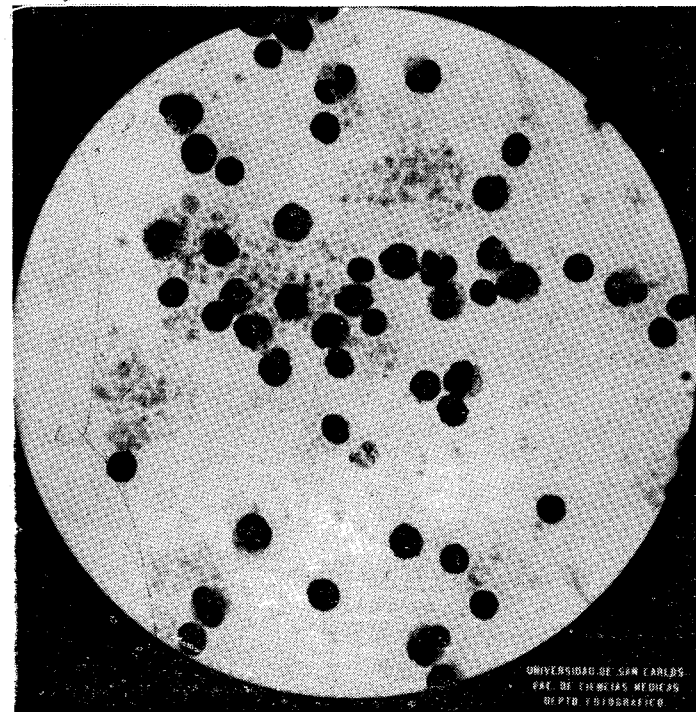


Fig. 10.—*Leucocitosis con linfocitosis. Obsérvense las plaquetas aisladas y formando bancos. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).*

dose, indefectiblemente en tales casos, a estas técnicas, que aunque no se identifican plenamente con las primeras, resultan ser un reflejo, más o menos fiel, del dato que se desea obtener.

En la prueba de Thorn,⁴ por ejemplo, empleada para investigar la presencia o ausencia del estímulo sobre la corteza suprarrenal provocada por la hormona adrenocórticotropa (Acth), se utiliza el conteo de eosinófilos en la sangre periférica, ya que la reducción *porcentual* de éstos, es el más seguro índice de la existencia de dicho estímulo. En esta prueba se recurre, indistintamente, a las técnicas de Thorn o de Randolph para los conteos directos de dichos leucocitos. No obstante, podría emplearse la técnica del conteo directo⁵ tan conocida de los laboratoristas (utilizando el líquido de dilución con eosina al 1%) o en su defecto, haciendo uso del segundo de los dos métodos descritos y en los cuales interviene la gota gruesa sanguínea. Con esto último se buscaría "un reflejo, más o menos fiel, del dato que se desea obtener" contribuyendo con ello, de manera decisiva, a colocar una substancia tan rápidamente asimilada al arsenal terapéutico, en sus justos límites y en sus estrictas aplicaciones; evitándose, por consiguiente, los supuestos fracasos de esta substancia hormonal que tan benéficos resultados ha dado en manos de médicos responsables.

- 7) *El pH y el Eosinófilo*: En ocasión en que se trató de la preparación del agua destilada, se expresó que la reacción de ésta guardaba una estrecha relación "de causa a efecto, con los diversos matices obtenidos en la coloración."

Más adelante, al hablar de los eosinófilos se hizo ver que las granulaciones de éstos "pueden tomar tonalidades diversas según el pH del agua empleada en la coloración."

ción, sirviendo de guía como indicadores de la reacción —neutra, ácida o alcalina—.....”

Ante todo, el microscopista cuidadoso deberá buscar en la muestra que examina, uno o más eosinófilos para constatar el matiz tomado por las granulaciones protoplasmáticas de los mismos y tener, por consiguiente, una impresión por adelantado de la coloración —buena o mala— que habrán tomado los otros elementos a investigar.

Cuando las granulaciones protoplasmáticas presentan un franco y hermoso color anaranjado, la reacción del agua usada es decisivamente *ácida*; reacción óptima para los elementos en cuestión, no así para los otros componentes figurados de la sangre ni para la investigación de protozoarios sanguíneos.

Cuando las granulaciones toman un color amarillo-verdoso (amarillo de cobre), la reacción es *alcalina*, en mayor o menor grado según sea el predominio del verde. Recuérdese que la reacción óptima para el hematozoario es la que oscila entre el pH 7.2 y 7.5.

En el caso de que el matiz tomado por las granulaciones sea de un tono amarillo más que rosado o verde, el agua utilizada sería neutra

A primera vista parecerá esto algo nebuloso, pero el acucioso estudio de las muestras a examinar por el microscopista principiante, más el valor inestimable de la experiencia, darán la impresión exacta que las líneas anteriores quisieron bosquejar.

- 8) *Basofilia*: Hallazgo raro, se presenta en la viruela, varicela y, en algunas ocasiones, en la granulomatosis maligna¹ (Enfermedad de Hodgkin). No hay acuerdo perfecto sobre la existencia de una leucemia basofílica, pero siempre están aumentados estos elementos en la leucemia mieloide crónica.² A veces



Fig. 11.—Leucocitosis con eosinofilia.
(Fotomicrografía original).

suele observarse en la anemia hemolítica crónica, en la eritremia, en la inflamación crónica de los senos cráneo-faciales, así como después de la esplenectomía y de la inyección de proteínas extrañas.

- 9) *Monocitosis*: Las figuras 17, 18 y 19 muestran esta clase de elementos; sobre todo la figura 18 que presenta leucocitosis y monocitosis relativa, con varios macrófagos que han englobado pigmento palúdico —hemozoína—. En la figura 19, que es la parte central de la figura anterior bastante ampliada, se observa, además de otros detalles que se explicarán más adelante, un macrófago —leucocito melanífero— en el cuadrante inferior e izquierdo.

Fuera del cuadro sanguíneo que acompaña al paludismo en sus diversos estadios, y del cual se tratará en la parte correspondiente a esta entidad mórbida, hay que tomar en cuenta que la persistencia de una monocitosis en la fórmula leucocitaria de un enfermo crónico, es dato precioso para pensar que el proceso infeccioso está todavía en evolución.

- 10) *Leucemia Linfoide*: La figura 12 muestra una exagerada cantidad de linfocitos, cantidad que no se observa ni en las leucocitosis más altas que acompañan a las infecciones leucógenas. Y si al lector se le hace ver que dicha fotomicrografía fué tomada en la periferia de la gota gruesa, en donde ésta tiene las características del frote, ya que hubiese sido imposible tomarla en partes céntricas en donde los glóbulos blancos formaban una magma impenetrable a la luz, estará en condiciones de sospechar una leucemia. Esta sospecha aunada al examen clínico concienzudo capacitará al médico general para determinar la conducta a seguir.

En el caso de la figura antes mencionada y después de haber sido informado el hallazgo, se ordenaron los exámenes consi-

guientes (estudio de los elementos en el frote, peroxidasa, etc.) llegándose al diagnóstico final de leucemia linfoide crónica.

- 11) *Leucemia Mieloide*: Lo dicho en los párrafos anteriores es válido también para la serie granulocítica. La *figura 13*, tomada en la periferia de la gota gruesa (por las mismas razones apuntadas para la *figura 12*) presenta una leucemia mieloide, en la cual se observan los elementos inmaduros como una característica de este cuadro nosológico.

En el caso de la figura que nos ocupa, también se hicieron los exámenes clínicos y de laboratorio, resultando ser de leucemia mieloide crónica.

- 12) *Fórmula Leucocitaria*: A ningún médico se le escapa el hecho de que en el proceso seguido para lograr obtener los datos rendidos por el laboratorista en un conteo diferencial de glóbulos blancos, han intervenido tal número de factores y elementos, que únicamente una larga experiencia y una responsabilidad ilimitada por parte del técnico pueden dar, con las cantidades obtenidas por el conteo, una idea aproximada de la distribución porcentual de los leucocitos en la sangre periférica de un determinado paciente.

Una vez hecho el frote, éste pudo haber quedado o muy grueso o muy delgado, o en fin, con secciones alternativamente gruesas y delgadas (ondulado); por si esto fuera poco, hay que tener en mente que: "Aun cuando la extensión sea correcta, (a) con una distribución uniforme de los leucocitos, siempre se encuentran más linfocitos en el centro de la preparación que en los bordes, en los cuales hay más polimorfonucleados; también tienden los leucocitos a acumularse en la parte final de la extensión."^{1b} A pesar de que se han puesto en práctica diferentes técnicas para efectuar el

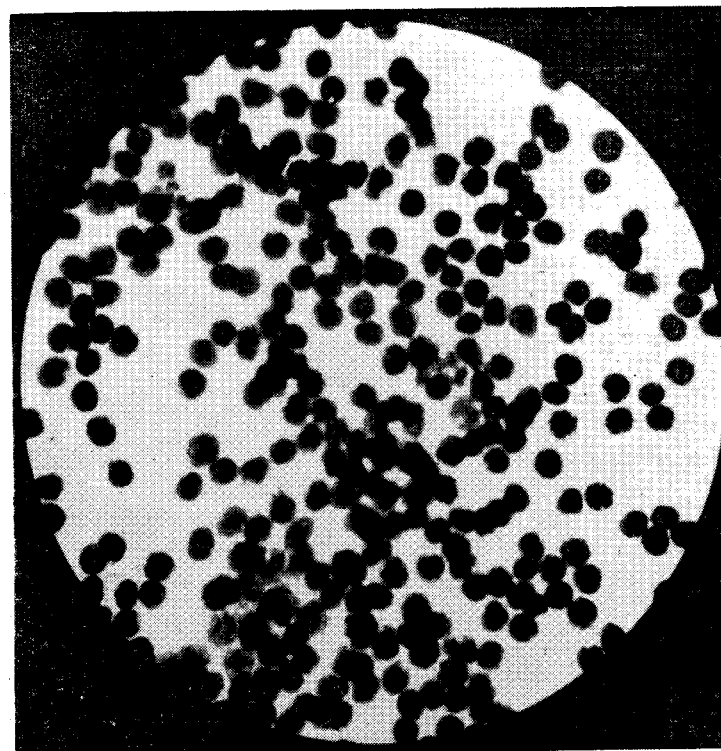


Fig. 12.—Leucemia linfoide. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

(a) El subrayado es del autor del presente trabajo.

examen de la extensión —diversas maneras de recorrerla— y salvar las dificultades arriba mencionadas, el hecho innegable es que dichos inconvenientes existen, aún en las extensiones bien hechas; convirtiendo, por consiguiente, uno de los exámenes más frecuentemente requeridos por el médico, en un conjunto de operaciones —no por sencillas menos importantes— que la falla al efectuar cualquiera de ellas, desquicia por completo el dato a obtener.

A este cúmulo de dificultades hay que agregar el inconveniente que se palpa en la mayoría de los laboratorios hospitalarios en nuestro medio: las personas encargadas de efectuar los exámenes de sangre para obtener las fórmulas leucocitarias o conteos diferenciales, rara vez clasifican más de 100 glóbulos blancos, no tomando en cuenta para ello, que el número de estos elementos sea de 5,000, 10,000, 30,000, etc. por milímetro cúbico. Se olvidan, como dice Win-trobe, que "el error debido a posibilidades de distribución disminuye considerablemente mientras más células se cuentan."^{3a}

Y para terminar de desnaturalizar estos datos inapreciables en la práctica diaria, el médico pone su grano de arena, olvidando, la mayoría de las veces, que el conjunto de valores puesto en sus manos por el laboratorista constituye la *fórmula leucocitaria relativa* (distribución de las diversas clases de glóbulos blancos por cada 100 de estos elementos) y que ésta puede inducir a interpretaciones erróneas si no se solicita del laboratorista la *fórmula leucocitaria absoluta* (distribución de las diferentes clases de leucocitos por milímetro cúbico).

La fórmula leucocitaria absoluta es la única que siempre puede poner en evidencia algún trastorno funcional del sistema leucopoyético.^{1c}

Es de lamentar que el médico no solicite con mayor frecuencia este último da-

to; o que en todo caso, no verifique sus propios cálculos para obtenerlo, puesto que teniendo la *fórmula leucocitaria relativa* y el número de leucocitos por milímetro cúbico (que de manera rutinaria se solicita conjuntamente con la anterior) las operaciones a efectuar son fáciles de desarrollar.

Volviendo a la fórmula leucocitaria relativa, cabe asentar que la gota gruesa sanguínea puede ofrecerla aún con manifiestas ventajas para el médico que se propone obtenerla, ya que a éste, falto de práctica en manipulaciones de laboratorio, le será más fácil hacer una gota gruesa que un frote exento de las fallas anotadas en anteriores líneas. Además, en aquélla no existe la marcada diferencia de distribución para las diversas clases de leucocitos, que se observa fatalmente aún en los frotos óptimamente hechos. Este tiene, para los efectos de la clasificación de leucocitos, cinco regiones o áreas: dos que corresponden a los bordes, en donde los leucocitos predominantes son los polimorfonucleados; una en el extremo final —*cola* del frote— que tiene mayor número de leucocitos y casi siempre los de mayor tamaño (monocitos); otra, constituida por el área central, que corre paralela a la de los bordes, en la cual abundan más los linfocitos; y por último, el área del extremo en donde se inició la extensión —*cabeza* del frote— que posee menos elementos que las anteriores, aunque aparentemente mejor distribuidos.

En oposición al frote, enmarcado dentro de varias líneas, la gota gruesa sanguínea está limitada por una sola, circunferencial; y no existiendo ni *cabeza* ni *cola* se salva la fatal diversidad de distribución leucocitaria que se presenta en estas dos regiones extremas del frote.

De acuerdo a los conceptos arriba vertidos, las áreas o regiones de distribución leucocitaria en la gota gruesa sanguínea, quedarían reducidas a dos: La *periférica* y



Fig. 13.—Leucemia mieloide. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

la *central*; y como en el frote, existiría una ligera preponderancia de los linfocitos en esta última, sobre todo, cuando se le ha dejado secar lentamente (a la temperatura del laboratorio) y no en la estufa, a 37°C.

Siendo la gota gruesa un método que enriquece el número de elementos por campo microscópico sean éstos protozoarios o leucocitos (número que va en sensible aumento de la periferia al centro, debido a las características inherentes a la misma), resulta evidente que a igualdad de tiempo empleado en el examen de ambos —frote y gota gruesa— para obtener la fórmula leucocitaria relativa, se habrá clasificado, indiscutiblemente, un mayor número de leucocitos en esta última; acercándose por consiguiente, y de manera sensible, al dato exacto, ya que, repetimos, a mayor número de células clasificadas, menor margen de error en el resultado final.

Ernesto Icaza,⁶ en su trabajo sobre gota gruesa sanguínea presentado al IV Congreso Médico Centroamericano, celebrado en esta ciudad en Noviembre de 1936, le dedica a este tema cuatro valiosas líneas: "Las fórmulas leucocitarias hechas por el método de la Gota Gruesa han tenido, en mi experiencia, una semejanza tan marcada a las hechas minuciosamente en frotis extendidos que la diferencia de 2% encontrada puede atribuirse al factor personal o a alteraciones de distribución inevitables."

Sin embargo, la experiencia del autor del presente trabajo, le hace expresar la opinión de que existen mayores "alteraciones de distribución inevitables" en el frote que en la gota gruesa, como se dejó expuesto en líneas anteriores. Esto, desde luego, en el supuesto de que se trabaje en una gota gruesa óptimamente lograda.

Cabe entonces la pregunta siguiente: ¿Puede el frote servir de patrón de medida o de punto de comparación, teniendo un ma-

yor número de zonas o áreas de desigual distribución leucocitaria —tiene cinco— cuando el método a comparar o medir, tiene sólo dos?

En mis experiencias nunca he logrado hacer coincidir las cantidades obtenidas con los dos métodos; a mayor abundamiento, téngase en cuenta que aún en una misma preparación, es casi imposible obtener en un segundo examen, la misma fórmula leucocitaria que se obtuvo en el primero; por consiguiente, trabajando con los dos métodos, las discrepancias tendrán que ser mayores. Sin embargo, en algunas ocasiones, los he logrado aproximar a menos del 1%, en defecto o en exceso. En otras, la mayoría de las veces se han alejado más, aunque nunca tal diferencia ha llegado al 10%.

Pero, ¿cuál de los dos métodos se acerca al dato exacto, a la cantidad ideal? En el frote clasificaba siempre 200 leucocitos; en la gota gruesa, debido a la facilidad en encontrarlos clasificaba, para cada muestra, 500 a 1,000 de dichos elementos.

Sumado a todo esto está el hecho de que Wintrobe,^{3b} refiriéndose a los neutrófilos, y debido a las tantas veces mencionadas "alteraciones de distribución," no le da gran significación a variaciones que se alejan menos de un 10% de lo normal.

Queda en pie el problema, digno de un estudio más concienzudo, dada la importancia que reviste.

La técnica que sigo para obtener la fórmula leucocitaria relativa es la siguiente: Primero examino de arriba abajo los campos microscópicos contenidos en el diámetro vertical aproximado de la gota gruesa, clasificando los leucocitos encontrados en el trayecto; después asciendo sobre una línea, siempre virtual, colocada paralela e inmediatamente a la izquierda de la anterior; en este momento, si el número de gló-

bulos blancos no ha llegado a los 250, recorro en forma descendente, la línea virtual, que corre paralela e inmediatamente a la derecha del diámetro vertical. Conseguido esto, inicio el recorrido en el diámetro horizontal, examinando después los campos microscópicos contenidos en las líneas superior e inferior, inmediatas y paralelas a dicho diámetro.

No está de más recalcar que se procurará que los diámetros sean recorridos en su totalidad.

El médico general puede llevar la cuenta de las diversas clases de leucocitos trazando una columna para cada una de ellas y haciendo una pequeña línea vertical para cada elemento celular clasificado. Para un mejor control, estas líneas formarán grupos de a cinco: las primeras cuatro en forma de empalizada, y la quinta, atravesando diagonalmente las anteriores.

Y por último, recuérdese que la periferia de la gota gruesa participa de la mayor parte de las características del frote y que puede dar, sensiblemente, iguales datos (granulaciones tóxicas, inclusiones protoplasmáticas, etc.) que éste; adjuntándose, dichos hallazgos al informe de la fórmula leucocitaria relativa.

B) SERIE ROJA

- 1) *Policromasia*: Recuérdese que en la serie roja únicamente los restos estructurales de las células jóvenes resisten a la acción hemolizante del agua en que previamente se disuelve el colorante Giemsa; y que el aspecto y coloración de estos restos celulares se ponen de manifiesto en forma de *policromasia*, de cuya descripción se trató en el CAPITULO SEGUNDO (Sección II) de esta SEGUNDA PARTE.

Siendo la *policromasia* signo indiscutible e inequívoco de la persistencia de la

función eritropoyética, su ausencia o presencia adquiere en clínica un alto valor diagnóstico y pronóstico, ya que la *policromasia* corre pareja con la intensidad de producción de glóbulos rojos por parte de la médula ósea.

Verificando sus estudios sobre la *policromasia* en la gota gruesa sanguínea, diversos autores hacen recalcar la importancia de dicha investigación por el método mencionado. Barber⁷ bosqueja el tema expresando que la intensidad de la anemia puede ser estimada por el número y densidad de los restos celulares, que forman los conglomerados nebulosos descritos en su oportunidad. Schilling^{5a} encuentra en la gota gruesa el mejor método para dicho estudio y en lo relativo a la manera de informar el hallazgo, prepara una escala compuesta de cinco grados diversos, que asciende desde la *policromasia normal* —en la cual se encuentra un conglomerado policromático en uno que otro campo microscópico— hasta la regeneración extrema —en que dichos conglomerados están en tal abundancia en cada campo, que se superponen unos a otros—.

Gradwohl^{3b} acepta la utilidad de la gota gruesa para determinar la *policromasia* y al igual que Schilling, elabora su escala, pero de seis tonalidades diferentes; abarcando en su recorrido desde la ausencia completa de *policromasia* en todos los campos microscópicos hasta la abundancia extrema, equivalente al grado último de la escala de Schilling.

Para los efectos del trabajo diario en el Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General, he creído conveniente dejar a un lado dichas escalas y utilizar una de menor número de grados —consta de tres— con el fin de que el médico que reciba dicho dato pueda utilizarlo sin mayores complicaciones.

En el primer grado, igual a una cruz (+), el número de estructuras policromáticas por campo microscópico oscilaría entre 1 y 10; el segundo grado, equivalente a dos cruces (++) , estaría entre 10 y 25 de estos restos estructurales; el tercer grado, calificado como tres cruces (+++), sería aquél en el cual las estructuras policromáticas fluctuarían entre 25 y 50. Cuando la abundancia de éstas es tal que los campos microscópicos están literalmente llenos, superponiéndose unas a otras, acostumbro a poner una nota u observación al pie del informe (véase Manera de Informar), haciendo ver que debe haber regular número de células rojas jóvenes en el frote, sugiriéndole, de esa manera, al médico receptor del informe, la necesidad del conteo reticulocitario, el cual ratificará, con seguridad, la policromatofilia encontrada en la gota gruesa. Además, un nuevo estudio de la extensión en donde se efectuó la fórmula leucocitaria porcentual, informará sobre un regular número de normoblastos en circulación, elementos celulares que, como se sabe, no se encuentran normalmente en el torrente sanguíneo.

Un 53% de los 2,000 primeros exámenes de gota gruesa sanguínea verificados personalmente por el autor del presente trabajo, en el departamento respectivo del Hospital General de esta ciudad, (b) fué positivo de *policromasia* en mayor o menor grado.

Este dato abrumador constituye, y seguirá constituyendo por muchísimos años, en nuestro pueblo, el porcentaje más alto entre los hallazgos patológicos susceptibles de ser descubiertos por el método de la gota gruesa sanguínea.

(b) Véase el Apéndice al final: "Fundación del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea en el Hospital General de Guatemala. Informe Sobre los 2.000 Primeros Exámenes."

Salvo mejor opinión, el paludismo, el parasitismo intestinal y la mala alimentación —escasa y mal balanceada— constituyen el tripode en que descansa nuestra penuria orgánica, nuestra miseria fisiológica; que si bien es cierto que es puesta en evidencia bajo la forma de anemia regenerativa, no por eso deja de ser el mayor factor desvitalizante en nuestro medio.

- 2) *Punteado Basófilo*: Dice Varela, M. E.¹⁴ que "Es necesario no confundir los hematíes con substancia gránulo-filamentosa (reticulocitos) con los hematíes con punteado o granulaciones basófilas. Estas granulaciones, aunque de origen citoplasmático, se tiñen en los frotos secos y fijados con los colorantes básicos. Se trata también de un fenómeno de precipitación de restos de substancias basófilas; pero esta modalidad de precipitación se observa en condiciones patológicas (anemias graves, anemias del saturnismo o intoxicación plúmbica). El punteado basófilo corresponde también a eritrocitos jóvenes; es también un índice de regeneración, pero patológica."

Si en la gota gruesa sanguínea no queda, del reticulocito, más que la estructura reticular en unos casos, y en otros una organización gránulo-filamentosa, del eritrocito joven con punteado basófilo no quedará más que eso: *un punteado basófilo*, de color azul oscuro o a veces francamente negro, reunidos —los gránulos— en un área no mayor que la que ocupaba el elemento celular completo.

Dichos gránulos pueden ser de diversos tamaños, desde el polvo fino, hasta el grano grueso, cocoide. Cuando estos últimos son muy abundantes en la preparación, pueden encontrarse aislados o en grupos no muy numerosos, signo, esto último, de cuadro sanguíneo degenerativo severo.

En el cuadrante superior e izquierdo de la *figura 17* se puede ver, claramente,

una agrupación de gránulos de diversos tamaños. Esta fotomicrografía fué tomada de la preparación de un caso, con desenlace fatal, por paludismo pernicioso, sobre la cual volveremos en su oportunidad.

En las anemias producidas por protozoarios sanguíneos, en las anemias graves de cualquier índole, en las intoxicaciones ocupacionales o no, en terapéuticas medicamentosas intensivas con metales pesados (bismuto, mercurio, etc.) o con compuestos orgánicos capaces de actuar como hemotóxicos (derivados de la amidopirina, sulfas, etc.) debe investigarse el *punteado basófilo* por medio de la gota gruesa sanguínea.

Dice Gradwohl,^{5c} refiriéndose a la investigación del *punteado basófilo* y de la *policromasia* en el envenenamiento por el plomo, que el frote ordinario no es suficiente. "*Se debe incorporar dentro de la práctica de rutina el hacer la gota gruesa en todos los casos.*" Más adelante sigue diciendo: "Hemos visto, frecuentemente, una marcada discrepancia entre los datos obtenidos en los frotos y en las gotas gruesas. En un número de casos, aquí en St. Louis (U.S. A.) en los cuales las consideraciones forenses requirieron el examen del mismo individuo, por diversos técnicos, hemos visto testimonios buenos y honestos debilitados al no hacer exámenes de gota gruesa en los casos sospechosos de saturnismo. Los frotos fallan, a menudo, en demostrar el característico *punteado basófilo* y la *policromasia*, en donde las gotas gruesas dan innegable evidencia de esta clase."

He aquí, pues, a la gota gruesa sanguínea sirviendo, no sólo al laboratorista o al médico general, sino que también, al médico forense y al toxicólogo.

Para la redacción de los informes en la investigación del *punteado basófilo*, el autor emplea la misma escala que para la *policromasia*; siendo, desde luego, en los exámenes rutinarios de gota gruesa, un hallazgo poco frecuente en relación con el alto porcentaje de positividad de esta última.

III

MANERA DE INFORMAR

A.—*Hallazgos Macroscópicos*: La *hipocromía* puede informarse en escala ascendente, así: *moderada, franca y marcada*. La capacidad para calificar la *hipocromía* con estos matices se adquiere con la práctica. En caso contrario, bastaría con hacerla constar en el informe, simple y llanamente. En las *figuras 6 y 7*, las gotas gruesas colocadas en la extrema izquierda serían calificadas, desde el punto de vista del examen macroscópico, como poseyendo *hipocromía marcada*.

La *autoaglutinación* se informará haciéndola constar simplemente en el informe.

B.—*Hallazgos Microscópicos*: Las *leucocitosis* pueden también informarse en escala ascendente, como la *hipocromía: leucocitosis moderada* sería informada en aquellas muestras en cuyo mayor espesor los campos microscópicos exhibieran de 15 a 30 glóbulos blancos (véase *figura 9*); *leucocitosis franca* sería para aquellas gotas gruesas cuyos campos microscópicos presentarían de 30 a 60 elementos blancos (véase *figura 10*); y *leucocitosis marcada*, para aquellas muestras en las cuales se contarán más de 60 leucocitos por campo.

Desde luego que a continuación se haría constar la calidad de dicha leucocitosis —con neutrofilia, con linfocitosis, etc.—. De tal manera que, de acuerdo a lo observado en la *figura 9*, informaríamos: *Leucocitosis moderada, con neutrofilia*; y con respecto a lo constatado en la *figura 10: Leucocitosis franca, con linfocitosis*.

Las *leucopenias* serían informadas con las mismas escalas: *moderada*, para aquellas muestras que exhiben de 4 a 7 glóbulos blancos por campo; *franca*, para las que ostentan de 1 a 3 de dichos elementos; y *marcada*, para las preparaciones en las cuales los leucocitos no se encuentran en todos los campos mi-

croscópicos. Por consiguiente, las *figuras* 14 y 16 nos inducirían a informar *Leucopenia moderada* en ambas; y la *figura* 15, *Leucopenia franca*.

Con relación a la eosinofilia, podemos informar de su existencia cuando encontramos uno o dos eosinófilos en cada campo microscópico, ya que normalmente no será posible verlos en cada uno de ellos sino que en cada 3 o 4. Ahora bien, si tales elementos son más abundantes, recomendamos el conteo, ya sea porcentual o cubomilimétrico, tal y como lo describimos en su oportunidad.

Los *granulocitos basófilos* al igual que los *monocitos*, podrían muy bien ser contados porcentualmente utilizando el mismo método que el empleado para los eosinófilos, cuando se sospeche un aumento de esos elementos.

La manera de informar sobre los hallazgos hematológicos de la Serie Roja (*policromasia* y *punteado basófilo*), se expuso en detalle con anterioridad (Sección II, Capítulo Tercero, SEGUNDA PARTE), razón por la cual nos abstenemos de hacerlo ahora para no caer en repeticiones inútiles.

IV

HALLAZGOS DE PARASITOS

El hallazgo de parásitos en el examen microscópico de la gota gruesa sanguínea es de tan extrema importancia, que le dedicaremos toda la TERCERA PARTE de este trabajo; sin embargo, hemos de hacer la salvedad de que, de las enfermedades producidas por parásitos sanguíneos, es el paludismo el más extendido en nuestro suelo, razón por la cual trataremos más extensamente sobre los plasmodios que sobre los demás protozoarios y metazoarios de la sangre.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Varela, Manuel Enrique: Fundamentos de la Hematología. El Ateneo, Buenos Aires, 1947, p. 101.
 - 1a. Id. p. 85
 - 1b. Id. p. 341
 - 1c. Id. p. 94
 - 1d. Id. p. 60
- 2.—Doan, C. A., and Reinhart, H. L.: The Basophil Granulocyte, Basophilcytosis, and Myeloid Leukemia, Basophil and "Mixed Granule" Types. Am. Jour. Clin. Path., 11, 1, 1941. Citado por Wintrobe, Maxwell M.: Clinical Hematology, Second Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 175.
- 3.—Wintrobe, Maxwell M.: Clinical Hematology. Second Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 175.
 - 3a. Id. p. 164
 - 3b. Id. p. 165
- 4.—Acthar Gel. The Armour Laboratories, Chicago 11, Illinois, U.S.A.: La Prueba de Thorn, folleto A24, p. 22.
- 5.—Gradwohl, R.B.H.: Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. Second Edition, The C. V. Mosby Company, St. Louis, U.S.A., 1938, p. 364.
 - 5a. Citado por Id. p. 515
 - 5b. Id. p. 363
 - 5c. Id. p. 514
- 6.—Icaza, Ernesto: El Uso de la Gota Gruesa en Hematología Clínica. Memoria del IV Congreso Médico Centroamericano, Celebrado en la Ciudad de Guatemala, del 11 al 16 de Noviembre de 1936. Guatemala, C. A. Tip. Nacional, Febrero de 1938, p. 193.
- 7.—Citado por Wilcox, A.: Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 27.

TERCERA PARTE

LOS PARASITOS DE LA SANGRE

CAPITULO PRIMERO

GENERALIDADES

La sangre humana —incluyendo los órganos hematópoyéticos— puede albergar: 1) Protozoarios. 2) Metazoarios. 3) Espiroquetas. 4) Hongos. Y 5) Microorganismos baciliformes.

En los primeros se encuentran los plasmodios, tripanosomas, leishmanias viscerales y toxoplasmas.

En los segundos, el grupo de las filarias —microfilarias— entre las cuales se incluye la bancrofti, loa, etc.

El tercer grupo está representado por las borrelias.

El cuarto, principalmente por el *Histoplasma capsulatum*.

Y el quinto, por las bartonellas.

En relación a la gota gruesa y tomando en cuenta las posibilidades de encontrar estos parásitos por medio del método en estudio, nos interesan única y parcialmente los protozoarios, los metazoarios y las espiroquetas. Ahora bien, con el objeto de estudiarlos y que este estudio corra paralelo a la utilidad práctica que de él pueda derivarse, los contemplaremos no con relación a los grupos o ramas mencionadas, sino más bien en el orden de frecuencia o abundancia con que pueden ser encontrados en la sangre periférica.

Desde este punto de vista seguiremos la siguiente pauta:

- 1) Plasmodios (Protozoarios)
- 2) Filarias —microfilarias— (Metazoarios)
- 3) Tripanosomas (Protozoarios) y
- 4) Borrelias (Espiroquetas)

Recuérdese, por lo expuesto en páginas anteriores, que el método fué introducido por Ross con el objeto de facilitar el hallazgo de los plasmodios en la sangre; poco tiempo después Koch amplía su radio de acción a los tripanosomas y, por último, los hematólogos logran utilizarlo en insospechadas posibilidades hematológicas, todo lo cual contribuyó a conceptuarlo como un arma de inapreciable valor para el técnico de laboratorio y para el médico práctico general.

Obsérvese que los plasmodios son los únicos parásitos de los cuatro grupos acabados de mencionar que invaden los glóbulos rojos, razón por la cual, cuando se emplea el método de la gota gruesa para su búsqueda, se encuentran más deformados que los otros tres, que son parásitos extracorpúsculares.

No cabe duda que la infección palúdica ocupa el primer lugar entre las entidades mórbidas producidas por los diversos parásitos sanguíneos en nuestro suelo. Ello es motivo suficiente para que, con el necesario detenimiento, estudiemos los plasmodios y la aplicación del método de la gota gruesa en la búsqueda de los mismos.

Con relación a los otros tres grupos (filarias, tripanosomas y borrelias), nos detendremos lo suficiente como para exponer los detalles básicos en el diagnóstico de los mismos.

Las leishmanias viscerales, los toxoplasmas (sobre cuya clasificación no hay acuerdo entre los investigadores) y el *Histoplasma capsulatum* también pueden encontrarse en la sangre, pero dado que invaden los monocitos, macrófagos en general y las células endoteliales, es que el método de la gota gruesa no es el más indicado, habiendo otros mucho más exactos para investigarlos.

La *Bartonella bacilliformis* es, al igual que el plasmodio, un parásito de los glóbulos rojos, pero debido a su morfología —baciliforme— no puede ser identificada en la gota gruesa sanguínea, ya que al destruirse el glóbulo que la contiene queda en libertad, suprimiéndosele así la característica básica para su diagnóstico, confundiéndose entonces con cualquier bacteria de contaminación. Hay que hacer mención, sin embargo, que este parásito también se encuentra en los monocitos, macrófagos en general y en las células endoteliales, pero en mucha menor proporción, desde luego, que en los glóbulos rojos.

CAPITULO SEGUNDO

LOS PLASMODIOS

I

CLASIFICACION

Todos los animales de una sola célula —tengan uno o más núcleos— se incluyen dentro de los protozoarios; por consiguiente, el plasmodio, animal unicelular, está considerado como formando parte de esta gran rama que, desde el punto de vista de la clasificación, se denomina PROTOZOA.

Esta, a su vez, se divide en dos sub-ramas:

PLASMODROMA y CILIOPHORA, atendiendo para ello, principalmente, a que las especies incluídas en la primera se mueven por medio de pseudópodos o por flagelos y la singamia, cuando existe, se verifica con la fusión completa de los gametos; y los de la segunda, por tener el aparato locomotor compuesto por cilios. Queda incluído, pues, el plasmodio, en la sub-rama PLASMODROMA.

De las cuatro clases en que se divide esta última (Rhizopoda, Mastigophora, Cnidosporidia y Sporozoa) es en la SPOROZOA en donde se encasilla el plasmodio, ya que goza de las características relevantes de aquélla: singamia por fusión completa de gametos y la producción consiguiente de esporozoítos (de ahí que a la fase de reproducción sexual del plasmodio se le denomine también Gametogonia o Esporogonia).

Puesto que los esporozoítos (o esporas) carecen de filamento polar y de cápsula, el plasmodio se clasifica dentro de la Sub-clase TELOSPORIDIA.

Desde aquí hemos preferido seguir a Boyd y a otros autores¹ y ² en contraposición a los que colocan al plasmodio en la Sub-clase Coccidiomorpha.³ y ⁴ Los que argumentan en favor de esta última exponen que los plasmodios y los coccidios tienen análogos tipos de reproducción, tanto asexual o esquizogónica, como sexual o esporogónica. Esto es, desde todo punto de vista, cierto. Pero si seguimos con el estudio morfológico y evolutivo de ambos, podemos constatar también que: 1) Mientras el plasmodio tiene dos huéspedes, uno para la reproducción asexual y otro para la reproducción sexual, el coccidio tiene casi siempre uno solo; 2) Mientras que la reproducción asexual del primero se verifica en la sangre de uno de sus huéspedes y la reproducción sexual en el estómago del otro (invertebrados chupadores de sangre), en el segundo, ambas reproducciones tienen lugar, la mayoría de las veces, en las células epiteliales del tubo digestivo, así como en sus glándulas anexas, siempre en un mismo huésped; 3) En el plasmodio, el producto de la singamia, el cigoto, siempre es móvil y los esporozoítos carecen de envoltura; en el coccidio, por el contrario, el cigoto no es móvil y los esporozoítos están contenidos dentro de esporas con membrana quística; y 4) En ningún momento de su evolución el plasmodio deja de estar dentro de uno de sus huéspedes, de ahí que los esporozoítos no posean envoltura resistente; lo contrario sucede con el coccidio, que teniendo un solo huésped se ve obligado a salir al medio ambiente para seguir su ciclo evolutivo; de ahí que los esporozoítos estén contenidos dentro de esporas con cubierta quitinizada, defendidos por así decirlo, contra la mayoría de los riesgos que puedan encontrar en su nuevo y transitorio estado; terminando éste cuando las esporas llegan a otro huésped apropiado, por la vía bucal, iniciándose así un nuevo ciclo.

En la fase eritrocítica de su reproducción asexual, el plasmodio se convierte, literalmente, en *espora de la sangre* por lo cual se le rotula bajo el Orden HAEMOSPORIDIA. De ahí, pasa él solo a constituir la Familia PLASMODIIDAE, caracterizada, como sabemos, porque sus componentes verifican la esquizogonia en un huésped y la esporogonia en otro (en el estómago de mosquitos hematófagos).

Esta familia está formada por un sólo género, el PLASMODIUM, que engloba, por consiguiente, todas sus características.

Las especies de plasmodios están repartidas abundantemente, ya que se encuentran en monos antropoides, monos corrientes, anfibios, reptiles, aves (sólo de éstas, en más de 200 especies), etc.

Pero desde el punto de vista del presente estudio, las únicas especies que nos interesan son las que parasitan al hombre, siendo 4 en total las que han logrado llenar todos los requisitos para considerarse como especies bien definidas.

Todo esto, resumido, nos da el siguiente cuadro demostrativo de la posición que ocupa el plasmodio en la Zoología:

Rama:	PROTOZOA
Sub-rama:	PLASMODROMA
Clase:	SPOROZOA
Sub-clase:	TELOSPORIDIA
Orden:	HAEMOSPORIDIA
Familia:	PLASMODIIDAE
Género:	PLASMODIUM
Especies:	1) Plasmodium vivax 2) Plasmodium malariae 3) Plasmodium falciparum 4) Plasmodium ovale

Como ilustración al respecto, se puede agregar que existen semejanzas muy sugestivas entre el PLASMODIUM, el HAEMOPROTEUS y el LEUCOCYTOZOON. Las afinidades entre el primero y el segundo se ponen de manifiesto en las formas sexuales, las cuales se desarrollan en los glóbulos rojos, produciendo pigmento, prácticamente del mismo tipo. La diferencia estriba en que las formas asexuals del HAEMOPROTEUS no se desarrollan en los eritrocitos, sino que en otras células, recordando morfológica y evolutivamente, al ciclo exoeritrocítico recién descubierto en el hombre. El LEUCOCYTOZOON desarrolla sus formas sexuales en los leucocitos —de ahí su nombre—, de preferencia en los linfocitos; por consiguiente, no existe pigmento. Las formas asexuals, como en el HAEMOPROTEUS, se desarrollan en células fijas.

Por último, algunos autores^{4a} tratan de encontrar alguna similitud entre el plasmodio y las babesias, opinión que no compartimos, pues si es cierto que son parásitos de la sangre en varios animales domésticos, viviendo y multiplicándose en los eritrocitos, no menos cierto es que no producen pigmentos, ni desarrollan gametocitos. Y, en última instancia, son transmitidas —las babesias— por garrapatas y no por insectos.

II

HITOS EN LA LUCHA CONTRA EL PALUDISMO

Creemos innecesario entrar detalladamente en la historia sobre el paludismo, ya que en cualquier libro sobre la materia se encontrarán pormenorizados los momentos decisivos en la lucha contra este flagelo.

Bispham⁵ divide este tema en cuatro periodos: PRIMER PERIODO, desde los primitivos tiempos hasta el descubrimiento de la especificidad de la corteza de la quina; SEGUNDO PERIODO, desde este último acontecimiento, hasta el descubrimiento del plasmodio; TERCER PERIODO, desde el descubrimiento del plasmodio hasta el descubrimiento del método de transmisión; y, CUARTO PERIODO, desde esto último, hasta nuestros días.

Sin embargo, este Cuarto Período puede muy bien ser limitado así: desde el descubrimiento del modo de transmisión, hasta la introducción de insecticidas orgánicos (DDT, Dieldrin, etc.) en la lucha contra los mosquitos; y agregar otro período, el QUINTO, que comprendería desde la introducción de estos insecticidas, hasta nuestros días, que culminan con la reciente demostración del Ciclo Exoeritrocítico del plasmodio.

Dentro de estos periodos que muy bien pueden ser considerados como los hitos en la historia del paludismo, podemos escalonar, en forma cronológica, otros hechos que influenciaron el curso a seguir en investigaciones posteriores, formando el siguiente CUADRO SINOPTICO:

PRIMER PERIODO

Comprende desde los tiempos primitivos hasta mediado el Siglo XVII, en que se descubre la especificidad de la corteza de la quina:

- 1) En China, hace tres mil años, Huang Ti escribía sobre las "manifestaciones paroxísticas de los fríos y calenturas." Ya en ese entonces, diferenciaban las tres clases conocidas de fiebres palúdicas. Las mani-

festaciones clínicas más importantes del paludismo estaban representadas en la mitología china por tres demonios: el primero, con un martillo; el segundo, con un cubo de agua fría; y el tercero, con una estufa. Simbolizaban así, al dolor de cabeza, al frío y a la fiebre.

2) Hay escritos al respecto entre los pueblos hindúes y caldeos.

3) Posteriormente, en Grecia, el paludismo radicase como endemia en vastas regiones y el territorio es assolado por epidemias severas. En el Siglo V antes de Cristo, de acuerdo a los escritos de Hipócrates — quien ya había clasificado las fiebres— el paludismo era corriente en ese entonces.

4) Parece ser que en la Antigua Italia, las fiebres intermitentes fueron introducidas en el Siglo II antes de Cristo.^{4b} Cicerón hablaba de la periodicidad de las fiebres (terciana y cuartana) y hacía ver que, debido a esto, muchas regiones cultivables permanecían ociosas.

Mención especial merece el ingeniero militar Vitruvius, quien aconsejaba el drenaje de los pantanos antes de construir una ciudad. Con respecto a los pantanos adyacentes al mar expresaba que cuando éste era agitado por violentas tormentas irrumpía en aquéllos *“y previene la generación de insectos de los pantanos”*; inmediatamente después decía que además, mataba los que existían debido *“a lo salado del agua a la cual no estaban acostumbrados.”*^{5a}

5) En sus textos, Galeno describe cuadros clínicos típicos de paludismo.^{4b}

SEGUNDO PERIODO

Se desenvuelve entre los descubrimientos de la especificidad de la corteza de la quina, a mediados del Siglo XVII, y el del plasmodio.

Y fué necesario que transcurrieran 1,500 años para que el hombre forjara el primer eslabón de la cadena que debería aherrojar al paludismo.

1) Al descubrirse que la corteza de la quina poseía cualidades curativas en las fiebres paroxísticas, hubo un cambio radical de conceptos en la medicina de

aquel entonces; tan importante fué este cambio, que Welch no duda en parangonarlo con el cambio acarreado por el concepto de “enfermedades infecciosas”, puesto que antes de aquel descubrimiento “toda forma de tratamiento para toda clase de enfermedades era dirigido ya fuere a purgar, a sudar o a causar un aumento en la excreción urinaria con la esperanza de expulsar los humores malignos.”^{4c}

2) En 1666, Sydenham y Morton estudian la acción específica de la corteza de la quina en ciertas fiebres. Casi medio siglo después, Torti en Italia, divide las fiebres según sean aliviadas o no por la corteza antes mencionada.

En opinión del autor del presente trabajo, este hecho tiene tanta importancia como el mencionado en el párrafo anterior, puesto que por primera vez se hacía uso del *diagnóstico terapéutico* que, si ahora está en desuso debido a razones obvias, no menos cierto es que fué un paso decisivo, uno de los primeros escalones científicos que ascendió la medicina, habida cuenta de lo pobrísimo que era el arsenal de que disponía el médico de aquellos tiempos, para el diagnóstico y la terapéutica.

3) Lancisi (1716) y Bright (1831) comprobaban la pigmentación de color grafito en el bazo y cerebro palúdicos.

4) Meckel, en 1847, encuentra gránulos negros contenidos en masas protoplasmáticas; parece ser que estaba frente al parásito sin darse cuenta de ello.

TERCER PERIODO

Abarca el tiempo transcurrido desde el descubrimiento del plasmodio hasta el descubrimiento del modo de transmisión.

1) En el año 1878, el médico militar Carlos Luis Alfonso Laverán, en Constantine, Algeria, atraído por las observaciones de Meckel, inicia sus investigaciones en la búsqueda del parásito del paludismo.

La descripción del descubrimiento del plasmodio la hace el 15 de Diciembre de 1880. Tomando dicha descripción del Boletín de la SOCIÉTÉ MÉDICALE

DES HOSPITAUX DE PARIS, 1881, 2 ser. XVII, podemos leer: "El 20 de Octubre, mientras examinaba microscópicamente la sangre de un paciente que sufría de fiebre palúdica, observé en medio de los glóbulos rojos la presencia de elementos que parecían ser de origen parasitario. Desde entonces he examinado 44 casos y en 26 he encontrado los mismos elementos. He buscado en vano estos elementos en la sangre de pacientes que sufrían de enfermedades que no eran paludismos. He descrito los elementos como cuerpos No. 1, No. 2 y No. 3. *Los cuerpos No. 1* son elementos alargados, más o menos aguzados en sus extremidades, a menudo encurvados en forma de media luna o algunas veces de forma oval. Miden de ocho a nueve milésimas de milímetro. Son incoloros, excepto hacia la parte central, en donde existe una mancha negruzca formada por una serie de granulaciones redondeadas que parecen ser gránulos de pigmento. Algunos de estos cuerpos ostentan en el lado cóncavo una línea curva, pálida, que parece unir las extremidades de la media luna. *Los cuerpos No. 2* ostentan diferentes aspectos en reposo y en movimiento. En reposo, son esféricos y manifiestan un círculo de gránulos de pigmento. En movimiento, hay un rápido cambio; filamentos muy transparentes animados de movimientos activos se ven fuera de los cuerpos. Los filamentos son simétricos. *Los cuerpos No. 3* son generalmente esféricos, pero más grandes que los No. 2 y manifiestan alteraciones en la forma."

Y fué hasta el 6 de Noviembre de 1880, en que observando la exflagelación, constata, de una vez por todas, de que se trata de un parásito de los glóbulos rojos.

2) Marchiafava y Celli, en 1885, inoculan seres humanos con sangre de palúdicos, logrando reproducir la enfermedad.

3) En el mismo año, Danilevsky descubre el parásito del paludismo aviar.

4) Poco tiempo después —siempre en el mismo año— Golgi, en Pavia, comprueba que el paroxismo de la fiebre palúdica coincide con la multiplicación de los parásitos y el estallido consiguiente del glóbulo rojo parasitado.

CUARTO PERIODO

Se extiende desde el descubrimiento del modo de transmisión hasta la introducción de insecticidas orgánicos (DDT, Dieldrin, etc.).

1) El 9 de Julio del año 1898, Ronald Ross en Calcuta, India, trabajando con parásitos productores del paludismo aviar —*Plasmodium* (Proteosoma) danilevsky— logra comprobar el último eslabón de la cadena que sobre el modo de transmisión del paludismo, había iniciado años atrás, describiendo paso a paso, el ciclo evolutivo del parásito en el mosquito hematófago.

Para ser más contundente, logra reproducir el paludismo en 21 de 28 pájaros sanos por medio de picaduras de mosquitos que habían sido previamente alimentados en aves infectadas.

Todas las posibilidades estaban en favor de que lo mismo sucedía en el ser humano, puesto que, con anterioridad, en Agosto de 1897, estando en servicio en Secunderabad, logró identificar lo que ahora conocemos por *ooquistos*, en el estómago de dos anófeles que habían sido criados desde el estado larvario y alimentados con sangre de personas portadoras de gametocitos de *Plasmodium falciparum*.^{1b}

Estas valiosas investigaciones fueron, desgraciadamente interrumpidas en cumplimiento de sus deberes médico-militares. Al año siguiente (1898) las reinició en Calcuta, pero debido a las dificultades en conseguir el material humano apropiado decidió seguir sus experimentos con el plasmodio aviar.

Con este descubrimiento se vuelven las miradas hacia grandes extensiones de tierra que permanecían inactivas y renace la esperanza en millones de personas anhelantes de un futuro mejor.

El flagelo que había demolido imperios, destruido civilizaciones y diezmado ejércitos, quedaba encuadrado y listo para ser atacado eficazmente, después de miles de años de estar impunemente paseando su guadaña sobre la faz de la tierra.

2) En Noviembre del mismo año, Bignami logra producir experimentalmente el paludismo en el hombre por medio de la picadura de un mosquito del género *Anopheles*.

3) Semanas más tarde, en el año 1899, Bignami, Grassi y Bastianelli, logran demostrar el ciclo evolutivo completo del parásito del paludismo humano, experimentando con el *Plasmodium falciparum* y con el *Anopheles claviger*.

4) Pocos años después, se desencadena la Primera Guerra Mundial y Alemania, encontrándose aislada totalmente de las fuentes de abastecimiento de la quinina, estimula la búsqueda intensiva y sistematizada de los productos sintéticos antipalúdicos, obteniendo el primer resultado aceptable en 1924, cuando Schuileman, Schönhofer y Wingler sintetizan la plasmocina (pamaquina) en la I. G. Farbenindustrie. El punto de partida para llegar a la obtención de este producto fué el azul de metileno purificado por Ehrlich y al cual se le dió cierto valor en el tratamiento del paludismo terciano benigno.^{11b}

A pesar de ello, no estamos de acuerdo con Coggeshall y Craig cuando dicen: "... este esfuerzo puede ser considerado como el principio de la quimioterapia."^{1b} Retrocediendo unos años, podemos constatar que la quimioterapia se inicia desde el mismo momento en que se entabla la lucha contra el monopolio mantenido por los plantadores de los árboles de la quina: 1) Pelletier y Caventou aislan la quinina y cinchonina en 1820; 2) Desde ese momento, diversos investigadores tratan de encontrar la fórmula constitucional de la quinina con el fin de obtenerla por medio de la síntesis. Aquélla se logró en 1907 y ésta se obtuvo hasta el año 1944, por Woodward y Doering; 3) Durante ese lapso, Henry y Delondre (1833) aislan la quinidina; en 1847, Winckler aisla otro alcaloide de la quina, conceptuándose también como quinidina, hasta que Pasteur, 7 años más tarde, logra diferenciarlas por medio de la luz polarizada, dándole el nombre de quinidina a la dextrógira y el de cinchonidina a la levógira; y 4) Todos estos "experimentos químicos que se efectuaron con la quinina abrieron el camino directo a los agentes quimioterápicos sin-

téticos modernos, cuando Perkin obtuvo en 1865 el primer colorante derivado de la anilina, el púrpura malva, al tratar de reconstruir aquel alcaloide."¹⁶

Seis años después de la síntesis de la plasmocina, Mietzch y Mauus (1930) obtienen la atebrina (mepacrina), siendo Kikuth quien lo pone a prueba, habiendo confirmado plenamente las esperanzas puestas en este colorante acridínico, considerándosele como el primer compuesto sintético de indiscutible acción contra las formas asexuadas del *P. falciparum*.^{11b}

La síntesis de otros compuestos antipalúdicos siguieron sucediéndose unos tras otros, pero no fué sino en la Segunda Guerra Mundial, que se intensifica la búsqueda de antipalúdicos sintéticos de parte de las potencias aliadas, puesto que las fuentes de abastecimiento situadas en Indonesia fueron controladas por el Japón.

Con el espectro del paludismo cerniéndose sobre sus ejércitos, los Estados Unidos de Norteamérica fundan la Oficina para la Coordinación de los Estudios sobre el Paludismo del Consejo Nacional de Investigación, que juntamente con el Consejo de Investigación Médica de Inglaterra y el Real Cuerpo Médico Australiano, se encargan de coordinar las labores de investigación a este respecto.¹⁷

Del estudio de miles y miles de compuestos —sólo en los EE. UU. más de 14,000— surgieron los variados productos cuyas ventajas y desventajas han sido ampliamente divulgadas por medio de la literatura médica seria, publicada por investigadores responsables y cuyas descripciones no encajan en el presente trabajo, dada la índole del mismo.

Sólo diremos que la mayoría de ellos pueden encasillarse en los siguientes grupos: 4—aminoquinolinas, 8—aminoquinolinas, 9—aminoacridinas, Biguanidas, Diaminopyrimidinas y Naftoquinonas.

QUINTO PERIODO

Comprende desde la introducción de los insecticidas orgánicos (DDT, Gamexano, Clordano, Dieldrin, Aldrin, Endrin, etc.), hasta la demostración del Ciclo Exoeritrocítico del plasmodio.

1) En 1872, el químico suizo Zeisler sintetizó el compuesto actualmente más conocido con el nombre de DDT, estando éste constituido por las siglas del nombre genérico dicloro-difenil-tricloroetano; siendo el nombre propio específico que le corresponde, el de 1-tricloro-2, 2 bis (p-cloro-fenil) etano.

No fué sino hasta 1939 que otro químico suizo, Paul Muller,⁸ descubrió las insospechadas y potentes propiedades insecticidas del compuesto en la mosca doméstica, introduciéndose el producto en el mercado bajo el nombre de *Gerasol*.

Pocos años después los Estados Unidos de Norteamérica producían suficiente DDT para controlar — 1944 — la epidemia de tifus en Nápoles, espolvoreando dicho compuesto en 1.300,000 civiles y haciendo descender el número de casos a proporciones insignificantes.

Insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos (xilol, acetona, kerosene, etc.) los anteriormente mencionados insecticidas, del grupo de los *hidrocarburos clorados*, tienen poder de acción inmediata y residual, actuando sobre los insectos por simple contacto o por la vía digestiva, intoxicando fatalmente el sistema nervioso de los mismos.

Actualmente el uso de estos insecticidas se ha diversificado enormemente empleándose, no solamente contra los insectos transmisores de enfermedades que atacan al hombre, sino que también contra los que destruyen las cosechas y diezman el ganado.

Las soluciones y suspensiones o emulsiones son las formas óptimas de acción inmediata y residual, utilizándose de esta manera el DDT y el DIELDRIN en la lucha contra el mosquito anófeles.

El DDT, el primero de este grupo de insecticidas en ser utilizado en la lucha contra la malaria, tiende a ser reemplazado por el DIELDRIN, ya que aquél actúa durante un término medio de seis meses, mientras que éste lo hace por un año, más o menos, siendo Guatemala uno de los primeros países en el mundo en utilizar el DIELDRIN, aprovechándose de esta ventaja que ha abaratado sensiblemente el costo de la campaña de erradicación de la malaria.

Ante las ventajas indiscutibles acabadas de enumerar, están acumulándose comprobaciones, cada día más numerosas, de la resistencia de los insectos a la acción de estos compuestos; y lo que es más, estos hidrocarburos clorados están obligándoles a cambiar de conducta en ciertos momentos de la vida (como el caso de algunas especies de anófeles que, en vez de posarse, como es su costumbre, en las paredes interiores de la casa para hacer la digestión después de haberse alimentado con la sangre del hombre, lo hacen fuera de ella) lo que exigirá del entomólogo, en un futuro próximo, una revisión periódica de los hábitos de vida de determinados insectos.

El problema se complica más, al comprobarse que la resistencia a determinado insecticida del grupo de los carbonos clorados se extiende, en mayor o menor grado, a los otros compuestos de ese mismo grupo. Este fenómeno podría explicarse muy bien con lo que dice Brown^{8a} al respecto: las moscas resistentes han desarrollado un sistema enzimático que puede destoxificar el DDT, sistema que con pequeñas modificaciones, puede destoxificar los otros hidrocarburos clorados, extrayendo probablemente, cloro de las moléculas del compuesto.

Sin embargo, es de suponerse que la química seguirá en la producción de insecticidas, sobreponiéndose a las desventajas antes mencionadas por medio de compuestos radicalmente diferentes a los del grupo de los hidrocarburos clorados, como es el caso ya de los insecticidas fosforados.

2) Con la demostración del Ciclo Exoeritrocítico del plasmodio, tanto aviar como humano, finaliza una de las etapas más importantes en la historia de la malariología. Fueron necesarios más de cincuenta años para llegar a conclusiones convincentes derivadas de los trabajos de decenas de investigadores durante ese lapso.

Es de desear que con todo esto, se suspenda una de las "estereotipias en masa" más grande que registra la historia de las ciencias en nuestro tiempo. Esta actitud fué producida ante la opinión vertida por el célebre investigador Schaudinn, quien en 1902 dijo haber observado la penetración directa del esporozoito en los glóbulos rojos. Si bien es cierto que algunos autores aceptaron esta opinión

como un hecho concluyente, no menos cierto es que investigadores serios la pusieron en duda al no poder repetir la supuesta experiencia publicada por Schaudinn (Arb. K. Gesundheitsamte, 19:169, 1902).

No ha habido autor —de Malariología o de Patología Tropical— consultado por nosotros que no trate de achacar a este investigador, directa o indirectamente, la culpa del supuesto atraso en la demostración del Ciclo Exoeritrocítico del plasmodio: "Schaudinn en 1903 desvió de este camino la atención de los parasitólogos cuando dijo haber observado la penetración directa de los esporozoítos a las hemáticas, y durante mucho tiempo esto se aceptó..." "Las manifestaciones de Schaudinn indicando que los esporozoítos penetraban directamente dentro de los glóbulos rojos de la sangre, fueron aceptadas durante muchos años a pesar de no haberlas confirmado nadie." "La descripción y las ilustraciones de Schaudinn sobre la entrada directa de los esporozoítos dentro de los eritrocitos fueron responsables del creciente énfasis del ciclo eritrocítico." Y siguen las expresiones, poco más o menos, en la misma tónica...

Lo cierto es que no hubo, al respecto, ni desviación de caminos ni existió la gran responsabilidad que se le atribuye. Y no hubo desviación de caminos porque años antes de la publicación del trabajo de Schaudinn, malariólogos de la talla de Golgi (1893), Mc. Callum (1898) y Grassi (1899) constataron formas exoeritrocíticas del plasmodio y a pesar de ello (!) no les "concedieron la importancia que hoy tienen o las interpretaron de modo incorrecto..."⁹ Entonces, ¿qué pasó con estos investigadores, que tenían a la vista lo que se pudo comprobar después de investigaciones exhaustivas llevadas a cabo durante muchos años? ¿Por qué no se les achaca que debido a que no pudieron interpretar el justo valor de sus hallazgos, la ciencia tuvo que hacer ímprobos esfuerzos y emplear un tiempo enorme en encontrar lo que ya se había hallado?

Todavía, un año después (1900), el mismo Grassi expresaba "su convicción de que, durante el período de incubación del paludismo, debería haber en el hombre un tercer ciclo de desarrollo del parásito, indicando entre otras cosas que la cromatina nuclear de los esporozoítos y de las formas hemáticas mostraba marcadas diferencias."⁹

Y así como Grassi, la mayoría de los investigadores estaban de acuerdo en la existencia probable de un tercer

ciclo basados en pruebas —indirectas ciertamente— que no compaginaban ni remotamente con las experiencias de Schaudinn. He aquí algunas de ellas: 1) La ineficacia del tratamiento profiláctico del paludismo; 2) La existencia, plenamente comprobada, de un período de no infecciosidad de la sangre después de la picadura del mosquito infectado o de la inyección de esporozoítos; 3) Sin embargo, en la fase negativa anterior un huésped susceptible podía ser infectado si se le inyectaba tejidos de órganos extraídos durante ese lapso; y 4) El fracaso completo en comprobar o repetir las experiencias de Schaudinn durante poco más de cincuenta años.

¿Por qué, entonces, seguir insistiendo en que Schaudinn desvió a los investigadores o fué el responsable del atraso en llegar a la demostración del Ciclo Exoeritrocítico del plasmodio? ¿No está demostrado que antes y después de Schaudinn, investigadores serios trabajaban en la búsqueda del tercer ciclo?

Ni qué decir que para que los trabajos y experiencias encaminados al establecimiento de una verdad sean aceptados necesitan pasar por múltiples pruebas, una de las cuales, la más elemental, es la repetición del proceso experimental para obtener el mismo resultado; y ninguno de los investigadores o equipo de investigadores obtuvo el mismo resultado que el obtenido por Schaudinn.

Esto nos recuerda un caso análogo en los anales de la Patología Tropical: el de Noguchi, cuando en el año 1919, en Guayaquil, Ecuador, encontró la *Leptospira icteroides*^(a) en casos diagnosticados como fiebre amarilla; considerándosele durante varios años como el agente causal de dicha enfermedad.¹⁰

Pero a diferencia de Schaudinn, a este célebre investigador no se le capitalizaron culpas ni responsabilidades a granel.

No queremos creer, bajo ningún punto de vista, que los investigadores encontraron su chivo expiatorio para ofrendarlo en aras de la ciencia, al retardarse en encontrar lo que buscaban.

(a) Que se comprobó posteriormente ser idéntica a la *LEPTOSPIRA ICTEROHAEMORRHAGIAE*.

Esto constituiría, desde el punto de vista psiquiátrico, una *derivación*, de la cual ha estado exenta la *Investigación Científica*, en su acepción más pura.

Pero si queremos creer, si aceptamos, que esta "estereotipia en masa", como la llamáramos al principio, fué constituida porque la mayoría de los autores de obras de malariología, patología tropical o simplemente de artículos que abordaban el tema, se contentaron con transcribirse, traspasarse unos a otros, los conceptos de "desviación y culpabilidad" reprochados a Schaudinn, sin tratar de valorizarlos en sus justos límites de tiempo y espacio.

Séame permitido haber externado los conceptos anteriores en honor a la conciencia y a la verdad, ropajes íntimos con que se debe exponer la Historia.

Muchos trabajos se han publicado sobre el proceso seguido para llegar a la demostración del Ciclo Exoeritrocítico del plasmodio en el hombre. Varios de ellos han aparecido en revistas científicas o están dándose a conocer en los libros de malariología o patología tropical, por medio de conceptos nuevos, revisados o corregidos. Estos últimos están a la mano de los interesados en el tema. Por ello nos sentimos obligados a ser breves, transcribiendo fragmentos del artículo ESTUDIOS SOBRE HEMATOZOARIOS de D. Peláez y colaboradores,^{9a} algunos de los cuales explican más ampliamente, el proceso sucintamente relatado en las páginas anteriores, para llegar a la demostración del Ciclo Exoeritrocítico del hematozoario: "Muchos autores se han preocupado en reunir los datos históricos y de otra naturaleza que sobre el Ciclo Exoeritrocítico pueden hallarse en la literatura especializada, debiéndose los más valiosos resúmenes en ese sentido a Verney (1938), Giovannola (1939^a), Kikuth y Mudrow (1940), Porter y Huff (1940), Hewitt (1940^a), Huff (1947, 1949 y 1951), Gramiccia (1948), Garnham (1948^a), Shortt (1948), Shortt y Garnham (1948), Ed. Sergent (1949), Ployé (1950), Beltrán (1950) y Levaditi (1951)."

"Aragão esclareció en 1908 el ciclo vital del *Haemoproteus columbae*, viendo sus fases esquizogónicas; Sergent y Sergent (1922) y York y McFie (1924) hicieron notar que la quinina carecía prácticamente de acción terapéutica durante el período de incubación del paludismo; James lo comprobó en 1931 experimentando con parálisis generales, y lo mismo hicieron Swellengrebel y de Buck

(1931), Russel y Nono (1932), Kikuth y Giovannola (1933), etc., con varios plasmodios; Levaditi y Schoen (1932) describieron en quistes hepáticos las fases tisulares del *Hepatocystes simicæ* (*H. kochi*); Boyd y Stratman-Thomas (1934) demuestran que la sangre con *P. vivax* no es virulenta durante el período de incubación; Warren y Coggeshall ven lo mismo (1937) para las infecciones por *P. cathemerium*, siguiendo después muchos otros investigadores con diferentes especies del mismo género."

"En fin, la hipótesis de Grassi volvió a renacer con los trabajos de James (1931) y Ruge (1936), apoyada en los hallazgos de formas apigmentadas de *Plasmodium* diversos que hicieron Huff (1930), Uegaki (1931) y Raffaele (1934, 1934^a y 1936). Este último autor, en la primera publicación citada, habla de la existencia en médula ósea de formas no eritrocíticas de *P. elongatum*, y en el segundo trabajo dice que ha vuelto a hallarlas en una gran variedad de células, que erróneamente atribuye en gran parte a elementos retículo-endoteliales. Huff y Bloom (1935) se ocupan asimismo de este *Plasmodium*, describiendo varias formas esquizogónicas en todas las células de las series linfoide y mieloide en un trabajo titulado: *A Malarial parasite infecting all blood and blood-forming cells of birds.*"

"Al inocular grandes dosis de esporozoítos en canarios, Raffaele (1936) reconoció la significación de las que él llama "*Presumibili forme iniziali de P. relictum*" en células hepáticas, de la médula ósea y del bazo, escribiendo un interesante artículo (1937) sobre el desarrollo temprano de los parásitos en el huésped vertebrado. James y Tate (1937 y 1938) ven elementos parecidos en retículo-endotelio de pollos con *P. gallinaceum*, proponiendo para tales fases el nombre de "exoeritrocíticas"; Kikuth y Mudrow (1937, 1938 y 1939) y De Court y Schneider (1938), precedidos por Warren y Coggeshall (1937), trabajan con *P. cathemerium* y otras especies aviares, demostrando que aparecen infecciones de formas exoeritrocíticas al inocular canarios con tejidos diversos de otros parasitados y con esporozoítos. Manwall y Goldstein (1938 y 1939) y Coulston (1939) hallan formas no eritrocíticas en *P. circumflexum*, y un año después, trabajando independientemente, Mudrow (1940) y Shortt, Menon y Iyer (1940) comprueban y describen los estadios pre-eritrocíticos del *P. gallinaceum* durante el período de incubación en pollos infectados con esporozoítos."

"Porter en 1942 publica los resultados de sus investigaciones acerca de la distribución tisular de las formas exoeritrocíticas en infecciones esporozoíticas provocadas en 13 cepas de *P. cathemerium* y resume lo que hasta entonces se conocía respecto a este asunto en *P. relictum*, *P. circumflexum* y *P. gallinaceum*."

"En 1943, Reichenow y Mudrow amplían el conocimiento del desarrollo pre-eritrocítico de *P. relictum* y Huff y Coulston (1944), siguiendo el procedimiento de inyectar dosis masivas de esporozoitos, definen con gran precisión el de *P. gallinaceum* y agregan algunos términos nuevos a la nomenclatura de sus fases. En el mismo año, Thompson y Huff (1944) descubren la esquizogonia exoeritrocítica en un *Plasmodium* de reptiles (*P. mexicanum*)."

"Aumentan las contribuciones al esclarecimiento de los ciclos vitales pre-eritrocitarios en el paludismo aviar, describiendo Huff, Coulston *et al.* (1947) el de *P. lophurae*, y Coulston y Huff (1947) el de *P. relictum*; Dubin, Laird y Drinnon ponen de manifiesto la transformación de esporozoitos a criptozoitos en cultivos de tejidos de pollos normales, y Huff (1951) los estadios iniciales de la infección provocada por diversos *Plasmodiums* en varios huéspedes. Al mismo tiempo, habían continuado apareciendo trabajos en los que se daba cuenta de hallazgos similares en el paludismo del hombre y de los monos. Por ejemplo: Raffaele (1937^a) encontró formas no pigmentadas de *P. vivax* en la médula ósea de un sujeto inoculado con esporozoitos cinco días antes; Schwetz (1938) hizo notar la semejanza de las formas exoeritrocíticas de *P. kochi* (*Hepaticocystes*) con las aviares; Casini (1939) vió *Plasmodium* sin hemozoína en los capilares cerebrales de un caso crónico fatal de *P. falciparum*; Raffaele (1940) señaló fases exoeritrocíticas también en este *Plasmodium* así como en *P. vivax* y *P. malariae*; Brug (1940) dijo haber encontrado parásitos apigmentados en el pulmón de un hombre que recibió una infección por sangre con *P. vivax*; Spanedda (1945) y Fonsaca (1946) obtuvieron los mismos resultados en punciones esternas y esplénicas, respectivamente, trabajando este último con casos de *P. falciparum* y *P. vivax*."

"Todos estos datos, sumamente orientadores y sugestivos, llevaron casi simultáneamente a descubrir fases semejantes en *P. vivax* por Shortt y Garnham (1948, 1948^b) y Shortt, Garnham, Covell y Shute (*loc. cit.*), cuya naturaleza ha sido calurosamente discutida por ciertos auto-

res, respecto a lo cual, Ployé (1950^a) publicó una nota titulada "*Un belle bataille en perspective*." Sin embargo, la acumulación de nuevas pruebas, tales como el hallazgo de Van den Berghe, Vincke y Chardome (1950) de formas exoeritrocíticas en ratones parasitados por *P. berghei*, y de las de *P. falciparum*, que en una nota previa (1949) y después en minucioso trabajo, acaban de publicar Shortt y sus colaboradores (1951), parece que pueden convencer a los más escépticos y aclaran en gran parte el problema de la esquizogonia pre-eritrocítica en los mamíferos, con lo cual se tienen bases más firmes para considerar las relaciones filogenéticas de los hemosporidios en general y se cambia bastante el concepto de sus parasitosis, lo que vendrá a modificar las técnicas de diagnóstico y tratamiento del paludismo en el hombre."

Resumiendo, podemos sintetizar los momentos últimos y culminantes en la demostración del tercer ciclo, de la siguiente manera:

- 1) En 1934, Raffaele, al constatar plasmodios no pigmentados en el paludismo aviar, es el primero en reconocer que estos hallazgos forman parte de una fase tisular, diferente de la que ocurre en la sangre.¹¹
- 2) Durante los años 1937 y 1938, James y Tate, experimentando con el *P. gallinaceum*, comprueban la existencia de este parásito en el sistema Reticuloendotelial de los pollos y emplean por primera vez el término *exoeritrocítica* para designar dicha fase o estadio evolutivo.^{9b}
- 3) La existencia de formas pre-eritrocíticas de paludismo aviar en el período de incubación es demostrada en el mismo año —1940— por Shortt, Menon y Iyer,¹² en la India y Mudrow¹³ en Alemania.
- 4) Cuatro años más tarde —1944— Clay Huff y Frederick Coulston,¹⁴ en E.E. U.U. de Norteamérica, comprueban el desarrollo del *P. gallinaceum* desde su iniciación como esporozoito hasta su culminación en trofozoito eritrocítico.
- 5) Mientras tanto en Australia, durante los años 1943 y 1945 un equipo de investigadores encabezados por Farley^{1d} y ¹¹ comprueban hechos de gran

valor en el paludismo humano: 1) Dentro de los primeros 30 minutos que transcurren después de la picadura del mosquito infectado la sangre circulante contiene esporozoitos; y 2) Transcurrido ese lapso, los esporozoitos desaparecen de la misma, iniciando, por consiguiente, su tercer ciclo.

Los experimentos llevados a cabo para llegar a esas conclusiones fueron bastante sugestivos: personas que se ofrecieron voluntariamente, contrajeron el paludismo mediante la inoculación de sangre obtenida del brazo opuesto al de la picadura del mosquito infectado, dentro de los primeros 30 minutos de esta última. Pero si la sangre se extraía pasado este tiempo y se inoculaba a otros voluntarios, permanecía inocua durante 6 días para el *P. falciparum* y 8 días para el *P. vivax*.

- 6) En 1948, Shortt, Garnham y Malamos¹⁵ en Inglaterra comprueban la existencia de estadios pre-eritrocíticos en los mamíferos *P. cynomolgi* en monos *rhesus*). Y
- 7) La anterior comprobación traza la conducta a seguir para la constatación del ciclo exoeritrocítico de los plasmodios humanos: durante los años 1948, 1949 y 1951, Shortt y sus colaboradores logran comprobar formas pre-eritrocíticas en el *P. vivax* y el *P. falciparum*. Dos años más tarde, en Diciembre de 1953 y de acuerdo a una NOTA PRELIMINAR aparecida en el British Medical Journal (1954, 1, 257), Garnham y colaboradores constatan análogos estadios en el *P. ovale*.^{11a}

Para terminar, sólo nos resta decir que todavía hay lagunas que llenar en el estudio de los plasmodios y que, el Ciclo Exoeritrocítico tiene modalidades diferentes para cada una de las especies que parasitan al hombre.

Este último aspecto que adquiere gran importancia en la terapéutica y en la erradicación del paludismo lo trataremos, aunque someramente, cuando sinteticemos en las páginas siguientes el ciclo evolutivo de las diferentes especies.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Boyd, M. F.: Malariology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, 1949, Vol. 1, p. 29. 1a. p. 16. 1b. Id. Vol. II, p. 1072.
- 2.—Kourí, Pedro, Basnuevo, José G. y Sotolongo, Federico: Lecciones de Parasitología y Medicina Tropical. El Siglo, La Habana, 1947, Tomo III, p. 60.
- 3.—Craig, C. F. y Faust, E. C.: Parasitología Clínica. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, México, 1951, p. 185.
- 4.—Russel, Paul F., West, Luther S. and Manwell, Reginald D.: Practical Malariology. W. B. Saunders, Philadelphia and London, 1946, p. 25.
 - 4a. Id. p. 27
 - 4b. Id. p. 2
 - 4c. Id. p. 3
 - 4d. Id. p. 28
- 5.—Bispham, William N.: Malaria: Its Diagnosis, Treatment and Prophylaxis. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1944, ps. 1 a 7.
 - 5a. Id. p. 2
 - 5b. Id. ps. 5 y 6
- 6.—Morse, W. R.: Chinese Medicine. Paul H. Hoeber, New York, 1934. Citado por Bispham, William N.: Malaria: Its Diagnosis, Treatment and Prophylaxis. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1944, p. 1.
- 7.—Bulletin de Société Médicale des Hospitiaux de Paris, 1881, 2 ser. XVII. Utilizado por el autor anterior como material bibliográfico en la página 8 de su obra antes mencionada.
- 8.—Brown, A. W. A.: The Control of Insects by Chemicals. Canadian Journal of PUBLIC HEALTH, Toronto, January 1953, Vol. 44 No. 1, p. 1.
 - 8a. Id. p. 4

- 9.—Peláez, D., Barrera, A., de la Jara, F. y Pérez Reyes, R.: Estudios sobre Hematozoarios. Revista de PALUDISMO y MEDICINA TROPICAL, México, Abril, Mayo y Junio, 1951, Vol. III, No. 2, p. 65 9a. Id. ps. 66, 67 y 68. 9b. Id. p. 66.
- 10.—Strong, Richard P.: Stitt's Diagnosis, Prevention and Treatment of Tropical Diseases. The Blakiston Company, Philadelphia, 1943, Vol. II, p. 875.
- 11.—Covell, Gordon, Coatney, G. R., Field, J. W. & Sing, Jaswant: Chemotherapy of Malaria. World Health Organization, Geneva, 1955, p. 24.
11a. Id. p. 25
11b. Id. p. 12
- 12.—Shortt, H. E., Menon, K. P. & Iyer, P.V.S.: The Form of *Plasmodium gallinaceum*. Present in the Incubation Period of the Infection. Indian J. med. Res. 1940, 28: 273-276. Utilizado por los autores anteriores como material bibliográfico en la página 106 de su obra antes mencionada.
- 13.—Mudrow, L.: Klinische und parasitologische Befunde und Chemotherapeutische Ergebnisse bei der Hübnermalaria. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. 1940, 44: 257-275. Utilizado también por los autores anteriores como material bibliográfico en la página 106 de su obra antes mencionada.
- 14.—Huff, C. y Coulston F.: Desarrollo del *Plasmodium gallinaceum* de Esporozoito a Trofozoito Eritrocítico. Traducción parcial hecha por el Dr. J. Romeo de León para los estudiantes de Parasitología de la Facultad de Ciencias Médicas (Universidad de San Carlos de Guatemala).
- 15.—Shortt, H.E., Garnham, P.C.C. & Malamos, B.: The Pre-erithrocytic Stage of Mammalian Malaria. Brit. med. J. 1948, 1:192-194. Trabajo citado por los autores de la llamada bibliográfica No. 11.
- 16.—Dennis, E. W., Barberian, D.A. & Tainter, M. L.: Progresos Recientes en la Terapéutica del Paludismo. Reimpreso de la PRENSA MEDICA MEXICANA, Marzo de 1949, Vol. XIV, No. 3, p. 55.
- 17.—Squibb, E. R. & Sons.: Los Paludismos y su Tratamiento. Monografías Médicas Squibb No. 1, p. 6.

III

EVOLUCION

Ciclos, Etapas y Fases Diversas de Reproducción

En las páginas anteriores hemos aplicado —como la mayoría de los autores consultados— indiferentemente y sin orden ni concierto, la terminología técnica para rotular o denominar los diferentes períodos que transcurren en la evolución del plasmodio.

Lo hemos hecho a propósito, esperando la oportunidad precisa para poner un poco de orden al respecto, creyendo que este es el momento para ello, dado el tema que trataremos en esta sección.

La mayoría de los autores emplean indiscriminadamente los términos: *ciclo*, *estadio*, *fase*, etc.; y así hablan y escriben sobre “fases esquizogónicas”, “fases exo-eritrocíticas”, “esquizogonia exo-eritrocítica”, “ciclos vitales pre-eritrocitarios” y muchos más. Hay autor, que aun en una misma página de su obra trata sobre el “ciclo eritrocítico” y dos párrafos más adelante —siempre refiriéndose al mismo asunto— ya no lo denomina “ciclo” sino que “estadio eritrocítico”.

Sin pretender, bajo ningún punto de vista, sentar cátedra sobre el correcto empleo de términos o vocablos técnicos, si queremos, en el presente trabajo, utilizarlos en su justo valor, en su acepción específica, para evitar confusiones o malos entendimientos que, si en la literatura corriente desdican mucho de la seriedad de la misma, en la literatura médica son inexcusables.

No quiere decir ello que la terminología que usaremos a continuación sea la única correcta, pero si estamos en condición de expresar que la aplicación de los vocablos —en todas y cada una de las siguientes páginas— será siempre la misma, específica, para cada momento o período evolutivo del parásito en estudio.

CICLOS, ETAPAS y FASES, serán los términos que usaremos para describir la reproducción del hematozoario.

He aquí explicadas, someramente, las razones que motivan dicha conducta: 1) El vocablo CICLO lo aplicaremos para denominar las evoluciones completas del plasmodio, desde la forma más joven o elemental de este, pasando por los periodos de crecimiento y edad adulta, hasta la producción de formas jóvenes análogas a las del punto de partida. De esta manera tendremos, entonces, dos ciclos, el CICLO ASEJUAL o ESQUIZOGONICO y el CICLO SEXUAL o ESPOROGENICO^(a) (al cual es al único que se le debe llamar CICLO VITAL, como habrá oportunidad de explicar más adelante); 2) Si entendemos por ETAPA el avance parcial en el desarrollo de una acción o fenómeno, estaremos de acuerdo en que existen dos etapas en la evolución del parásito que nos ocupa: la *etapa en el mosquito* o ETAPA ANOFELICA y la *etapa en el hombre* o ETAPA HUMANA; y 3) El término FASE se aplica generalmente para designar los diversos aspectos determinantes que presenta un fenómeno o acción que varía constantemente y periódicamente. Hablaremos, por consiguiente, de FASE PRE-ERITROCITICA, FASE ERITROCITICA y aun de FASE GAMETOCITOGONICA y de FASE GAMETOGONICA, para referirnos a los diferentes aspectos del mismo proceso evolutivo.

Los términos antes apuntados son los que hemos utilizado en la *Lamina No. 1*, suplicando al lector estar en continuo contacto con ella en el transcurso de la presente descripción.

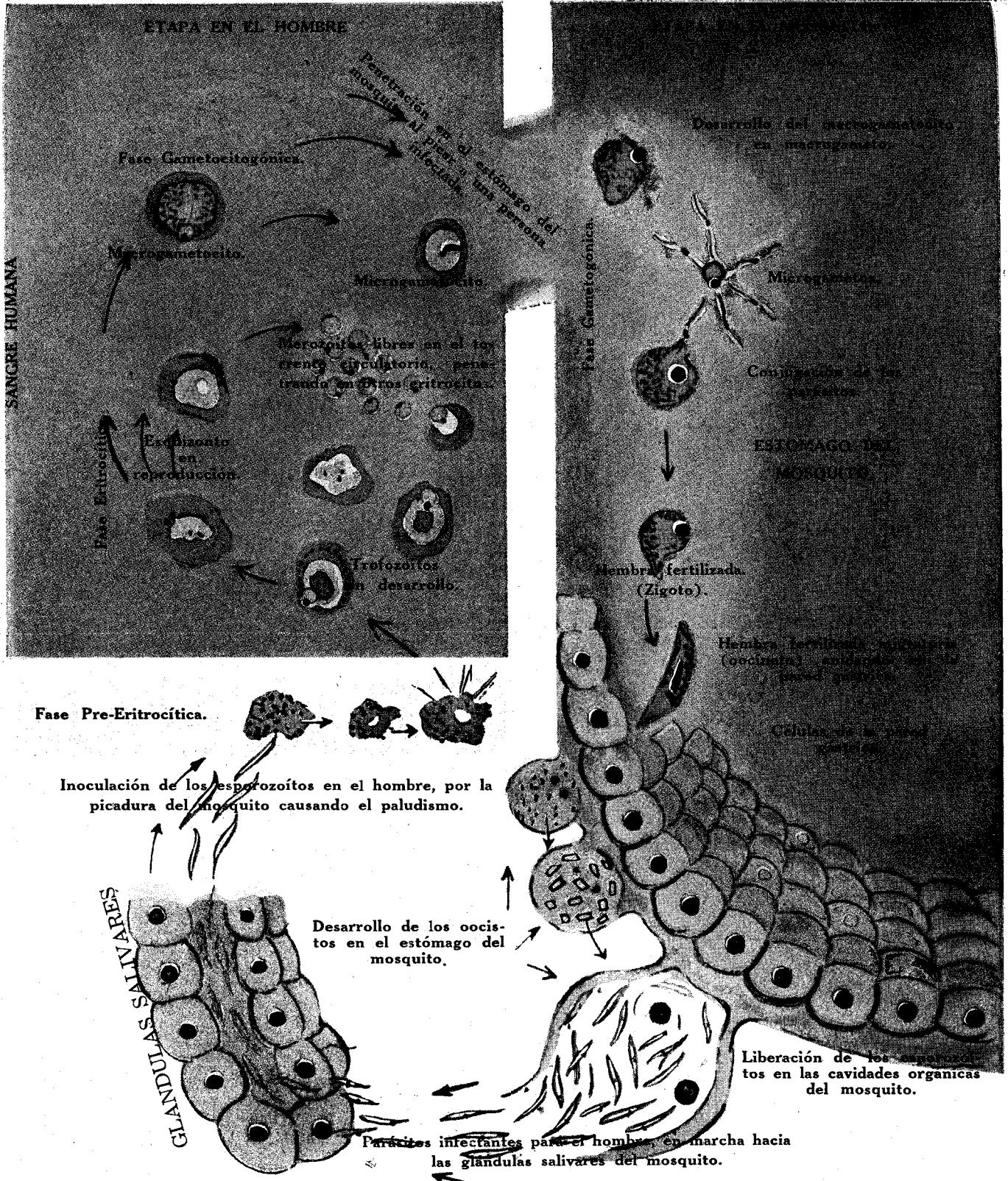
A

CICLO ASEJUAL O ESQUIZOGONICO

El anóteles hembra infectante, al buscar su alimentación en la sangre del hombre, le inyecta a éste los *esporozoitos* contenidos en la saliva, la cual es excretada por el insecto en el momento de la picadura.

(a) Hay autores que califican de CICLO ENDOGENO y CICLO EXOGENO a los procesos evolutivos por los que pasa el parásito en el hombre y en el mosquito, respectivamente. Esto es incorrecto por varias razones, bastando una sola para explicarlas: Mal puede llamarse "ciclo" al proceso sufrido por el parásito en el mosquito, ya que en éste jamás se verifica una evolución completa del plasmodio.

EVOLUCION DEL PLASMODIO



LAMINA I

(Cortesía de Winthrop Products Co., Inc.) Lámina modificada por el autor.

Y aquí empiezan, simultáneamente, la ETAPA HUMANA y la primera fase del Ciclo Asexual: la PRE-ERITROCÍTICA.

En la Sección II de este mismo capítulo (HITOS EN LA LUCHA CONTRA EL PALUDISMO) hemos bosquejado el proceso histórico seguido para poner en evidencia las formas pre-eritrocíticas del plasmodio. Recordemos que durante los años 1948, 1949 y 1951, Shortt y sus colaboradores logran comprobar las formas pre-eritrocíticas en el *P. falciparum* y en el *P. vivax*; y que dos años más tarde —Diciembre de 1953— Garnham y colaboradores obtienen iguales evidencias para el *P. ovale*.

El experimento llevado a cabo por el primer grupo de investigadores mencionados² y que demostró, por primera vez, la existencia de la *fase pre-eritrocítica* en el *P. falciparum*, tuvo su momento culminante al examinar un fragmento de tejido hepático humano en el cual se suponía la existencia de formas pre-eritrocíticas del plasmodio. Para llegar a ello, se cumplieron con tiempos rigurosamente controlados: infección de anófeles hembras criadas en el laboratorio; sometimiento de un voluntario humano, durante tres días consecutivos, a las picaduras infectantes de esos anófeles; laparotomía verificada en el voluntario humano para la obtención del fragmento hepático a examinar; etc.

El plasmodio, en su proceso evolutivo asexual, se encontró en las células del parénquima hepático, manteniendo una estrecha relación cronológica entre las diversas formas que fueron observadas de acuerdo con lo previsto al someter al voluntario a las picaduras infectantes durante los tres días consecutivos.

Se constató que, los parásitos más jóvenes son multiformes, con tendencia a tomar la forma ovoide; de crecimiento rápido, al grado de empujar hacia la periferia el núcleo de la célula hepática, sin sufrir ésta ninguna alteración aparente. El citoplasma del plasmodio se presenta granular y, en un proceso más avanzado de crecimiento, se observan los núcleos distribuidos en todo el citoplasma, oscilando en su diámetro de 1 a 5 micras. El tamaño total de las formas examinadas es variable, pero con un promedio de 31 micras de diámetro.

Las formas evolutivas más avanzadas —poco más o menos de 24 horas de diferencia con las acabadas de des-

cribir— se presentan más grandes, llegando a tener 50 micras de diámetro. Tampoco aquí se observa reacción en el tejido hepático, pero ya en el protoplasma se constata una tendencia a dividirse en áreas regionales, adoptando estas áreas formas muy diversas (desde esféricas hasta alargadas). Se comprueba que el núcleo continúa en activa división.

El tercer grupo de formas evolutivas —también de 24 horas de diferencia con relación a las anteriores— presenta formas todavía más grandes, llegando a tener 60 o más micras de diámetro algunas de ellas. Hay tendencia a una marcada morfología lobar, variando en número los lóbulos, lo mismo que el tamaño, la dirección, etc. de los mismos. Tampoco aquí el tejido hepático circundante presenta alguna reacción, existiendo únicamente la compresión de las células vecinas, consecutiva al aumento de volumen de la célula parasitada. En este grupo se encuentran ya las formas maduras: cada porción de citoplasma posee su núcleo, constituyendo el *merozoíto*. Estos son bastante pequeños —0.7 micras de diámetro por término medio— encontrándose algunos plasmodios tan cargados de ellos que están listos para sufrir la ruptura y dispersarse en el tejido circundante. Varios de ellos, ya maduros, han estallado, observándose los merozoítos en los sinusoides, iniciando la penetración de los eritrocitos.

El número de merozoítos contenidos en las formas maduras es muy variable, pero se podría calcular en unos 40,000 los derivados de las formas más grandes.

Ahora bien, el término EXOERITROCÍTICO (introducido en la literatura malariológica por James y Tate en el año 1938) se aplicó originalmente a las formas del parásito encontradas en las infecciones *inducidas por sangre o por esporozoítos* y que evolucionaban fuera de los glóbulos rojos; más tarde el término se amplió a todas las formas plasmodiales —observadas siempre fuera de los glóbulos rojos— pero ya no importando si la infección que las producía era inducida artificialmente o adquirida por la vía anofélica. Con el fin de evitar esta confusión, se propuso para las primeras el término FANEROZOÍTOS (Huff y Coulston, 1946).³

Por consiguiente, los términos *Pre-eritrocítico* y *Exoeritrocítico* no son sinónimos; el primero tiene un significado más reducido que el segundo y “comprende todas las formas en la primera línea de desarrollo entre los esporo-

zoítos y el primer TROFOZOITO eritrocítico. Incluye la primera generación o CRIPTOZOÍTOS (Huff, Coulston y Cantrell, 1943) derivados directamente de los esporozoítos, y los METACRIPTOZOÍTOS (Huff y Coulston, 1944) que siguen a los criptozoítos.”³

En el *P. vivax*, después de la Fase Pre-eritrocítica que tiene lugar en el hígado, se desarrollan otras formas exoeritrocíticas, tal como sucede en el *P. cynomolgi*. Pero en el experimento brevemente reseñado en las páginas anteriores para poner en evidencia la Fase Pre-eritrocítica del *P. falciparum*, los autores² exponen que “Si se acepta la teoría de que este persistente ciclo pre-eritrocítico es el origen de las recaídas en la malaria, se hace importante saber en dónde ocurre tal ciclo en el caso del *P. falciparum*. El experimento descrito en este relato, no arroja ninguna luz sobre esta cuestión, pero la ausencia de recrudescencias y recaídas una vez que la parasitemia ha sido erradicada por drogas antimaláricas y la reconocida relativamente corta vida en el curso de las infecciones por el *P. falciparum*, podría testimoniar con cierta evidencia, que de existir algún ciclo exoeritrocítico después del establecimiento de la infección sanguínea, deba ser de corta vida si acaso existe.”

En abono de lo anterior, transcribimos los siguientes párrafos: “Cuando se presenta el acceso clínico de fiebre trópica, ya no se cuenta con que existan en el hombre formas parasitarias exoeritrocíticas. En las formas terciana y cuartana, la evolución es diferente. En éstas, el número de merozoítos, que al final del período de incubación quedan liberados de formas parasitarias exoeritrocíticas maduras y pueden penetrar en la sangre, alcanza sólo una parte del todo el potencial. Parte de las formas exoeritrocíticas persisten en las células parasitadas sin provocar manifestaciones clínicas, que son provocadas exclusivamente por los merozoítos penetrados en el torrente sanguíneo y el ciclo eritrocítico subsiguiente. Después de extinguido el ciclo eritrocítico responsable de las manifestaciones clínicas, puede originarse, al cabo de cierto tiempo, partiendo de las formas exoeritrocíticas persistentes, una nueva generación de merozoítos que infectan la sangre, es decir, sobreviene una recidiva. Estas pueden repetirse varias veces. La cantidad de las formas parasitarias exoeritrocíticas puede quedar agotada, incluso en la terciana, desde el primer acceso palúdico, y si no, después de la primera recidiva, lo que depende, entre otros facto-

res, de la cantidad de esporozoítos inoculados y del número de picaduras de los mosquitos infectados. Por consiguiente, no toda infección natural de terciana debe constar necesariamente de varios accesos palúdicos (primo-infección y recidivas). Por otra parte, el número de recidivas, es decir, de las siembras de merozoítos desde el reservorio puede ser de 12 y más. El tiempo en que la terciana se agota en el hombre el reservorio de las formas exoeritrocíticas persistentes, no supera en general, un período de dos años. Sólo en la cuartana se han registrado recidivas de modo irrecusable, aun después de muchos años, de modo que hay que suponer que en ella el reservorio de parásitos exoeritrocíticos puede subsistir mucho más tiempo que en la terciana. La infección por el *Plasmodium ovale* muestra, en lo poco que esto se ha podido investigar en vista de la rareza de infecciones por este parásito, verosímilmente un comportamiento idéntico al de la terciana, en lo que a recidivas se refiere.”⁴

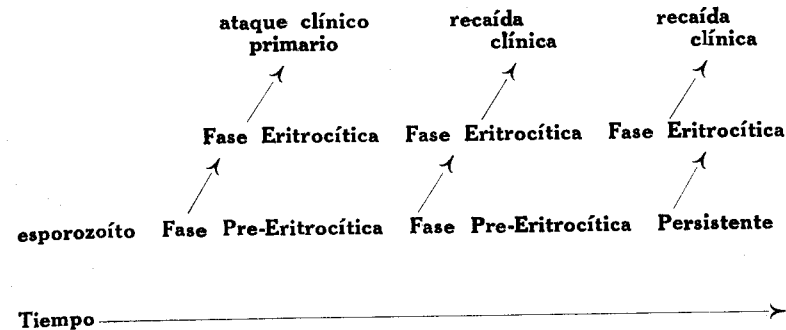
Tentativamente se podría explicar el proceso a desarrollar por los plasmodios, *vivax* y *falciparum*, para la producción del paludismo clínico y sus recaídas, por medio de los esquemas 1 y 2.

El tiempo transcurrido en el desarrollo de la Fase Pre-eritrocítica es diferente para cada especie de plasmodio, como habrá ocasión de explicar cuando tratemos específicamente de cada uno de ellos. (b)

Con la penetración del plasmodio en el glóbulo rojo se establece la FASE ERITROCITICA, la cual se inicia tomando aquél una forma vesicular, hialina, que en las preparaciones coloreadas adopta el aspecto de *anillo* muy pequeño, rodeando totalmente una parte transparente e incolora, constituida por la vacuola y, con apenas, un punto cromatínico que atestigüa la presencia del núcleo.

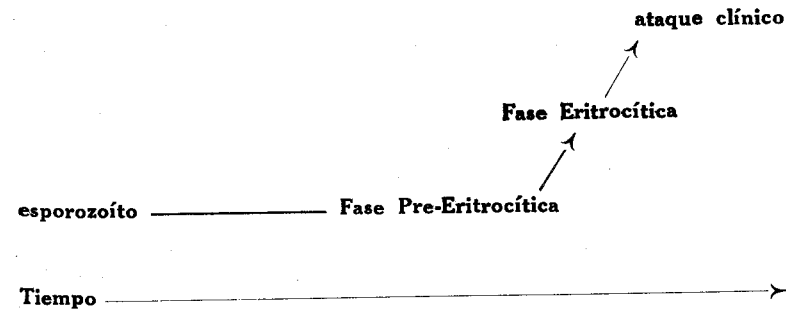
(b) También en los demás momentos del proceso evolutivo que se describe a continuación, omitiremos las particularidades inherentes a cada especie (tiempo de desarrollo, formas, número de morozoítos, etc.) para exponerlos oportunamente.

PLASMODIUM VIVAX



Esquema No. 1.—Explicación probable de las recaídas en el paludismo producido por el *P. vivax* (*)

PLASMODIUM FALCIPARUM



Esquema No. 2.—Explicación del ataque clínico del paludismo producido por el *P. falciparum* (*)

(*) Modificaciones del autor a las figs. 1 y 2 de LOS PALUDISMOS Y SU TRATAMIENTO, monografía médica de E. R. Squibb & Sons.

Llamándose por ahora *trofozoito* —debido a que está dedicado a nutrirse y a crecer— el parásito adquiere gran movilidad, emitiendo al mismo tiempo, pseudópodos, que pueden observarse tanto en las preparaciones en fresco como en las coloreadas, pero más comúnmente en las primeras. Alimentándose por ósmosis de la hemoglobina del eritrocito, inicia su crecimiento, constatándose a las cinco o seis horas después de la invasión globular, la presencia de *gránulos* de *pigmento* en su citoplasma, considerándoseles como producto de desecho del trofozoito al verificar la digestión de la hemoglobina. (c) La *hemozoína* —que así se llama el pigmento— presenta caracteres especiales para cada especie de plasmodio, sucediendo lo mismo con las transformaciones sufridas por el glóbulo rojo a medida que el parásito crece.

Transcurrido cierto tiempo, el trofozoito, que ha alcanzado ya la edad adulta, cesa gradualmente en sus movimientos amiboideos recogiendo sus pseudópodos y tomando, por consiguiente, una forma más compacta, más regular. Es entonces que se le llama ESQUIZONTO^(d) el cual, al llegar a estado de *maduración* óptima, estará ya preparado para reproducirse asexualmente. Este momento se reconoce, no como quieren algunos, por el tamaño máximo alcanzado por el esquizonto, sino por otras características, entre las cuales podemos calificar como decisivas dos: la desaparición de la vacuola, y la agrupación de los gránulos hasta ahora dispersos, en una o dos regiones del citoplasma.

Acto seguido, la cromatina nuclear inicia su reproducción múltiple, hasta alcanzar un número que es siempre más o menos igual para cada especie. Con estas trans-

(c) No existiendo la hemoglobina más que en el glóbulo rojo, se explicaría así la ausencia del pigmento palúdico en las formas plasmodiales que evolucionan fuera de ellos, como sucede en las formas pre-eritrocíticas y exoeritrocíticas en general.

(d) Es inexplicable que la mayoría de los autores de habla castellana y los traductores para el mismo idioma, empleen la palabra ESQUIZONTE en vez de ESQUIZONTO. La primera es un galicismo (SCHIZONTE en francés) y debe ser descartada para dar lugar al uso indiscutible de la segunda, ya que ambas, derivadas del griego, nacieron del mismo prefijo y de la misma raíz (del prefijo SCHIZO, derivado a su vez de SCHIZEIN: hender, partir; y de la raíz ON-ONTOS, del verbo EINAI: ser). Si escribimos correctamente: ONTOLOGIA y PALEONTOLOGIA en vez de Ontología y Paleontología, no hay razón para escribir Esquizonte en vez de Esquizonto.

formaciones principia la *esquizogonia* propiamente dicha, la cual finaliza cuando el citoplasma se ha dividido también en la misma forma, distribuyéndose los fragmentos de tal manera que cada uno de éstos acompaña a una cromatina, alineándose frente a ella.

Cada elemento organizado —citoplasma y núcleo— así obtenido, se conoce también, como en el caso del producto final de la Fase Pre-eritrocítica, con el nombre de merozoito.

Desde el momento en que el plasmodio inicia la esquizogonia toma el nombre de esquizonto PRESEGMENTADO, llamándosele SEGMENTADO una vez que finaliza dicho proceso reproductivo. Debido al aspecto que presenta en las preparaciones coloreadas, a este último se le conoce también con el nombre de *roseta*.

Con el estallido del esquizonto segmentado juntamente con el eritrocito que lo contenía, se liberan los merozoítos, los gránulos de hemozoína y probablemente una toxina —producida por el parásito— y cuya existencia no ha podido ser comprobada plenamente.

Es en este momento que el enfermo palúdico es atacado por intenso escalofrío, teniendo todas las características del shock coloido-clásico, y atribuido a una parte o a todos los elementos (no hay certidumbre al respecto) liberados con el estallido arriba mencionado.

Los merozoítos penetran en los glóbulos rojos —adoptando de nuevo el nombre de trofozoito— e inician, desde ese momento, otra fase eritrocítica; los demás productos (hemozoína, restos celulares, etc.) son fagocitados por los leucocitos, especialmente por los monocitos —en este caso impropriamente llamados *leucocitos melaníferos*, puesto que la melanina no es, químicamente, idéntica a la hemozoína—.

Por supuesto que no todos los merozoítos logran penetrar en los glóbulos rojos, buena parte de ellos son fagocitados también por los leucocitos, principalmente, y como en el caso anterior, por los monocitos.

Finaliza de esta manera la Fase Eritrocítica del Ciclo Asexual, el cual continúa girando y produciendo merozoítos en proporciones geométricas, a tal grado y cantidad, que un mismo eritrocito se ve, a veces, invadido por dos o más de ellos.

B

CICLO SEXUAL O ESPOROGONICO

Después de que los merozoítos se han reproducido por algunas generaciones no todos seguirán, inexorablemente, el curso evolutivo descrito anteriormente; algunos, al penetrar en los glóbulos rojos, evolucionarán como formas sexuadas, masculinas y femeninas, llamándoseles MICROGAMETOCITOS a las primeras y MACROGAMETOCITOS a las segundas, conocidas ambas formas bajo el nombre genérico de GAMETOCITOS.

Principia así la FASE GAMETOCITOGONICA, constituyendo el primer paso del Ciclo Sexual o Esporogónico.

Los métodos actuales de investigación no permiten distinguir los merozoítos que se convertirán en formas sexuadas de los que se convertirán en formas asexuadas; tampoco se está en condiciones de hacer la diferenciación exacta entre un trofozoíto en sus inicios y una forma sexuada de la misma edad. Pero de acuerdo a nuestra manera de pensar debe de existir un fatalismo de organización —un determinismo sexual— en los merozoítos, que los hace comportarse *ab initio* como formas sexuadas o asexuadas.

La mayor parte de la evolución de los gametocitos transcurre en las vísceras muy vascularizadas, sobre todo en los vasos de la médula ósea y en los del bazo. Así se explica que las formas jóvenes o en desarrollo, sean encontradas raramente en la sangre periférica.

Y si bien es cierto que es difícil establecer la diferenciación *exacta* entre un trofozoíto y un gametocito en su forma inicial, ya en los períodos tempranos de crecimiento se le puede adjudicar a éste ciertas características que ayudan a catalogarlo como tal. He aquí algunas: Nunca asume la forma de anillo, por consiguiente, carece de vacuola; el citoplasma siempre es más compacto y homogéneo que el del trofozoíto y la cromatina, siempre única, no importando la edad que tenga, está a veces rodeada de un halo incoloro (;cariolinfa?), perfectamente visible en las preparaciones óptimamente coloreadas.

A medida que crece, la diferenciación se hace más ostensible. Como no existen ni vacuolas ni movimientos amiboideos que produzcan pseudópodos, el gametocito aparece más compacto, de contornos más regulares, y de for-

ma redonda u oval —para los plasmodios *vivax* y *malariae*— o en salchicha, media luna o creciente —para el *P. falciparum*—. En comparación con las formas asexuadas, los gametocitos son lentos en su evolución, necesitando, poco más o menos, el doble del tiempo que utilizan las primeras para llegar a la plena madurez,⁵ estado que alcanza al mismo tiempo que llena, casi siempre por completo, el glóbulo rojo.

Puesto que los gametocitos aparecen después de que se han sucedido algunas generaciones de merozoítos, son menos abundantes que éstos; sin embargo hay autor⁶ que expresa que en casos graves o severos, el número de formas sexuadas y asexuadas en la sangre circulante puede ser igual; opinión que no compartimos, no sólo por la razón enunciada al principio de este párrafo, sino también por la experiencia acumulada a través de centenares de hallazgos positivos de hematozoarios en la gota gruesa sanguínea comparados con los cuadros clínicos respectivos. Hay que tener en cuenta, además, que los gametocitos no desempeñan ningún papel patógeno en el paludismo, fuera, tal vez, de la posible contribución al bloqueo de capilares y de la destrucción inexorable del glóbulo rojo que para-sita.

Los macrogametocitos se encuentran, casi siempre, en mayor número que los microgametocitos, siendo la proporción, para algunos autores, de 4 a 1.

En términos generales, la distinción de ambas formas se puede verificar al examen microscópico de preparaciones óptimamente coloreadas, por medio de las siguientes características: 1) El macrogametocito siempre es más grande que el microgametocito; 2) El citoplasma del primero toma un color azul oscuro, en contraposición al del segundo, que es de un color más suave: azul claro, gris azulado, rosado pálido o casi incoloro; 3) La cromatina del macrogametocito es compacta pequeña y de color rojo oscuro; la del microgametocito, difusa y pálida; y 4) En el primero, los gránulos de pigmento toman una coloración café obscura, estando dispersos uniformemente en toda la extensión del citoplasma; mientras que en el segundo, están más débilmente coloreados y frecuentemente se les observa formando grumos o masas aisladas. (e)

(e) En ocasión en que tratemos sobre las diversas especies de plasmodios, describiremos las características especiales de sus gametocitos.

Una vez que alcanza su máximo crecimiento, el gametocito es incapaz de ulterior desarrollo en el hombre, en cuya sangre se desintegra, a menos que sea ingerido por el mosquito hematófago. Para algunos autores,⁷ el gametocito completamente desarrollado rompe el glóbulo rojo que lo contiene, quedando en contacto directo con el plasma sanguíneo. Para otros,⁵ permanecería dentro de la membrana globular toda su existencia, deduciéndose de ello, que en este estado llega también al estómago del mosquito. (f)

Con la llegada del gametocito a su óptimo desarrollo, termina la primera fase (Fase Gametocitogónica) del Ciclo Sexual, al mismo tiempo que finaliza también la *Etapa Humana* en la evolución del plasmodio.

Al ingerir el anófeles hembra, sangre infectada, principia la ETAPA ANOFELICA y continúa el Ciclo Sexual iniciado en el hombre, por medio de la segunda fase o FASE GAMETOGENICA. (g)

Una vez en el intestino medio o *estómago* del mosquito, todos los plasmodios asexuados y gametocitos inmaduros contenidos en la sangre, son digeridos, no así los gametocitos adultos, los cuales, en tiempo relativamente

(f) Nos inclinamos a favor de esta última opinión, no sólo por los estudios sobre la morfología del gametocito completamente desarrollado, sino porque la primera no compagina con el concepto utilitarista que determina cada momento evolutivo de los organismos vivientes. La persistencia dentro de la membrana globular, protegería al parásito de factores externos —fagocitosis, antitoxinas (?), anticuerpos (?), etc.— mucho mejor que si estuviera en contacto directo con el plasma sanguíneo. Aunque guardando las marcadas diferencias ¿no nos recuerda esto el quiste defensivo con que se cubren ciertos organismos para aprovechar posteriormente el momento oportuno con el fin de continuar su evolución? Creemos que al llegar al estómago del mosquito, el gametocito está todavía dentro de la membrana globular, de la cual se libra, ya sea por su propia cuenta, por los jugos digestivos del insecto o por ambos factores actuando simultáneamente.

(g) Autores hay que hablan indiferentemente de "Ciclo Sexual", "Ciclo Anofélico" y "Ciclo en el Mosquito", empleándolos como sinónimos; error del que deben de salir atendiendo al proceso evolutivo mismo: mal puede llamarse "Ciclo Anofélico" o "Ciclo en el Mosquito" al "Ciclo Sexual", cuando hemos visto que éste se inicia en el hombre con su primera fase o Fase Gametocitogónica. Fuera de ello, tampoco puede denominarse "ciclo" al proceso evolutivo que tiene lugar en el mosquito, por las razones expuestas al principio de esta Sección III.

corto, sufren una serie de cambios tendientes a convertirlos en GAMETOS. Y aquí, como en la fase precedente que se desenvuelve en el hombre, continúa la diferenciación sexual ya que habrá MICROGAMETOS —gametos machos— y MACROGAMETOS —gametos hembras—.

Veamos cómo se producen ambos: (h) En el nuevo ambiente que lo rodea, el *microgametocito* es presa de movimientos de expansión y contracción, rompiendo la membrana globular que lo contenía y quedando libre en la cavidad estomacal del insecto. Inmediatamente después, emite una serie de filamentos —de 4 a 8— en forma de flagelos que, moviéndose rápida y continuamente, terminan por desprenderse quedando libres, nadando, por así decirlo, en el estómago del anófeles. La producción de estos filamentos, que no son otros que los *microgametos* antes mencionados, no ha necesitado un tiempo mayor de 10 a 15 minutos.

Este proceso, llamado *exflagelación*, fué el observado por Laveran en sus investigaciones para descubrir el hematozoario y al cual nos hemos referido en anteriores páginas. (i)

Pero para llegar a la exflagelación, es decir, para que se produzcan los microgametos es necesario que en el interior del microgametocito se sucedan ciertos cambios estructurales profundos: disgregación del núcleo en fragmentos cromatinicos; proyecciones, en la superficie del parásito, de porciones delgadas, filamentosas, del citoplasma; introducción de un fragmento cromatinico en cada filamento quedando constituido así el microgameto; "estado de violenta conmoción"^{8a} de los gránulos de pigmento, a pesar de lo cual ninguno logra participar en la formación del microgameto; etc.

(h) A pesar de que la descripción de la ETAPA ANOFELICA no reporta ninguna utilidad práctica para el aprendizaje de la gota gruesa sanguínea, la haremos someramente, no sólo con el objeto de que el presente trabajo conserve su unidad, sino también para que la evolución del plasmodio sea contemplada en todos sus aspectos.

(i) El fenómeno puede observarse in vitro, examinando microscópicamente, entre lámina y laminilla, una gota de sangre fresca, citratada, que contenga regular cantidad de gametocitos. La exflagelación se verifica en un tiempo no mayor del que tarda en producirse en el estómago del mosquito.

Un cuerpo residual es lo que resta del microgametocito, el cual, no teniendo ningún papel ulterior que desempeñar, se desintegra.

Durante ese lapso el macrogametocito también ha de sufrir cambios estructurales que lo transformarán en macrogameto: después de liberarse de la membrana globular que lo envuelve, el núcleo se desprende de una parte de su cromatina que juntamente con una porción de protoplasma se proyectará en forma de protuberancia en la superficie del parásito; puede suceder que las protuberancias sean dos si el desprendimiento cromatínico se dividiera a su vez. Según Schaudinn,^{1a} estas protuberancias constituirían "glóbulos polares" y el proceso seguido para su formación sería análogo al del óvulo en animales de escala superior. Estos cambios no se acompañan, como en el caso del microgameto, ni de violentas conmociones en los gránulos de pigmento, ni de movimientos activos o de traslación del parásito, el cual permanece más o menos fijo, manteniendo la forma oval o redonda.

Queda así listo el macrogameto, para ser fertilizado, acto que no tarda en producirse al tomar contacto uno de los microgametos con la protuberancia o "glóbulo polar" de aquél, fusionándose ambos núcleos en un tiempo prudencialmente corto. (j) Una substancia secretada en la superficie del macrogameto fertilizado, evitaría posteriormente, la entrada de otros microgametos.⁸

La fusión de ambos gametos —que ha tenido lugar entre los 20 minutos a las dos horas de haber ingerido el insecto la sangre parasitada— da por resultado la formación del *zigoto*, el cual, continuando con los cambios estructurales en su interior, tomará una forma alargada, vermicular, dotada de movimiento de traslación —estado conocido con el nombre de *oocineto* —que atravesando las capas epiteliales del estómago se situará entre éstas y la membrana elástica que cubre el órgano. Aquí el parásito que da inmóvil, se contrae —teniendo un diámetro menor que el de un glóbulo rojo— adquiere la forma esférica y se envuelve en una membrana elástica y resistente. Es entonces que se le conoce con el nombre de *oocisto*, el cual aumentará en volumen hasta alcanzar de 50 a 60 micras de diá-

(j) Nótese la semejanza de este proceso con la fertilización del óvulo por el espermatozoide.

metro, dependiendo la velocidad de este crecimiento de diversos factores (temperatura ambiente, especie de anófeles, etc.).

Entre los numerosos cambios que ha de sufrir el oocisto en su período de crecimiento o maduración hay dos importantes: 1) El núcleo se divide multiplicando enormemente el número de cromatinas; y 2) En el seno del citoplasma se desarrollan también numerosas vacuolas que terminan por darle al parásito una forma esponjosa, aumentando con esto la superficie citoplasmática, que posteriormente se dividirá en múltiples fragmentos en cuyas superficies se adosarán o alinearán sus respectivas porciones nucleares —cromatinas— para formar *los esporozoítos*. El oocisto puede contener desde varios centenares hasta miles de estos elementos que, delgados, fusiformes y puntiagudos en ambos extremos, tienen una longitud de 15 micras por término medio.

El número de oocistos que puede contener el mosquito es muy variable, oscilando entre 10 y 20 ordinariamente —algunas veces uno o dos— y excepcionalmente más de 40. Y, desde luego, los derivados de una misma ingesta de sangre madurarán simultáneamente, no así los originados de ingestas diferentes que lo harán conforme a un ritmo propio a cada una de éstas.^{6b}

En plena maduración —proceso que se ha llevado de 10 a 20 días por término medio— los oocistos estallan dejando en libertad (en la cavidad hemal o hemoceloma) a los esporozoítos, los cuales, dotados de gran movilidad, se difunden por todos los órganos del mosquito, alcanzando muchos de ellos, las glándulas salivales, en donde permanecen intra y extracelularmente, llegando después a los conductos salivales. Y como decíamos al principio de esta Sección III: al buscar su alimentación en la sangre del hombre, el anófeles infectante le inyecta los esporozoítos mezclados con la saliva, la cual es excretada por el insecto en el momento de la picadura.

Con esto termina la Etapa Anofélica y el Ciclo Sexual, iniciándose de nuevo el Ciclo Asexual y, simultáneamente, la Etapa Humana y la Fase Pre-eritrocítica del plasmodio.

Con el contenido de las páginas anteriores, el lector se habrá dado cuenta de la razón que nos asiste al haber expuesto, al principio de esta sección, que al Ciclo Sexual es al único que debe llamársele CICLO VITAL, ya que, al evolucionar continuamente, logra perpetuar el plasmodio a través de pases sucesivos: mosquito-hombre-mosquito, etc.; caracteres de los cuales no participa en ningún momento el Ciclo Asexual o Esquizogónico, el cual se inicia, se desenvuelve y termina en el hombre.

IV

PLASMODIUM VIVAX

(Grassi y Feletti, 1890)

1) *Consideraciones Generales*.—No hay duda de que Laveran, al descubrir el hematozoario en 1880, hizo por primera vez la descripción parcial de este plasmodio, aunque no logró diferenciarlo de las otras especies observadas por él. Recuérdese que al género lo llamó *Oscillaria*, y a este plasmodio lo rotuló bajo el nombre de *Oscillaria malariae*, *pro parte*. No fué sino hasta el año 1886 que Golgi lo describió por completo considerándolo como especie separada, siendo Grassi y Feletti (1890) quienes lo encasillaron bajo el nombre de *Haemamoeba vivax*; pero a pesar de que en el año 1885, Marchiafava y Celli, crearon el género *Plasmodium*, no se sabe a ciencia cierta quién cambió el término de *Haemamoeba* por *Plasmodium* para nombrar al hematozoario que hoy conocemos como *Plasmodium vivax*.

Este hematozoario es el causante del paludismo terciario benigno, produciendo el acceso febril, no cada tres días, como haría suponer lo de "terciano", sino cada 48 horas por término medio. Es de creerse que esto sea debido a la manera que tenían los romanos de computar el tiempo: al día de hoy le llamaban primer día, al día de mañana segundo día, etc. "De tal manera que si el paroxismo se producía en un día dado, el día siguiente sería el segundo y el siguiente (48 horas después) el tercero."^{1b}

Sin embargo, esta aparente regularidad en la aparición del cuadro febril no siempre es cierta, sobre todo en los inicios de la infección, en los cuales la gráfica de la temperatura nos expone no una fiebre intermitente, sino más bien remitente y muchas veces cotidiana. Y si recordamos que el acceso febril es producido por el estallido —esporulación— de las rosetas que dejan en libertad los merozoítos, la hemozoína y otras sustancias pirógenas, tendremos que aceptar que, en el caso de este plasmodio, debe haber en evolución dos o más generaciones de parásitos cuyos esquizontos maduran completamente en

días sucesivos. Sobre el particular volveremos dentro de poco, quedándonos por decir al respecto, que este asincronismo va desapareciendo poco a poco, para dar paso al cabo de dos semanas, más o menos —en los casos sin tratar— a la curva clásica, intermitente, expresión indiscutible de la evolución de una sola generación del parásito.

Si bien la infección producida es mucho más benigna (de ahí el nombre de terciana "benigna") que la causada por el *P. falciparum*, puede producir cuadros PERNICIOSOS que simulan, algunas veces, al tifoidico típico acompañado del estupor consiguiente, y otras, originando la "fiebre álgida" provocada por el profundo colapso circulatorio consecutivo a la insuficiencia suprarrenal sobregada.

Casos como los arriba apuntados, algunos con desenlace fatal, han sido constatados por el autor del presente trabajo, quien no duda un momento en descartar al *P. falciparum* como único productor de los accesos perniciosos. Desde luego que es el plasmodio que más los produce, pero ello no desvirtúa del todo la posibilidad de que las otras especies puedan causarlos, dependiendo esto de varios factores, tales como densidad de la parasitemia, raza del plasmodio, calidad del paciente (si es primera infección o una de las varias que ha tenido), estado orgánico del mismo, etc.

Es la especie más difundida de los plasmodios humanos, debiéndose recordar que los casos crónicos producidos —más frecuentes que en el *P. falciparum*— pueden prolongarse en los pacientes hasta por un término de dos y a lo sumo tres años de duración; debiéndose considerar como caso de reinfección todo cuadro de paludismo terciano benigno que se produzca pasado ese lapso.

No nos resta más que hacer notar que el período de incubación es variable (8 a 9 días para unos, 12 a 14 para otros, y en varios casos prolongándose mucho más) dependiendo de varios de los factores arriba mencionados, pudiéndose agregar el de la concentración esporozoítica inyectada por el anófeles.

2) *Morfología y Etapa Evolutiva en el Hombre.*—(a) De acuerdo a lo expuesto en las páginas de la sección ante-

(a) La Etapa Humana, para las diversas especies de plasmodios, es idéntica en sus características más sobresalientes tal como se describió en la sección anterior: Ciclo Asexual o Esquizogónico con sus fases Pre-eritrocítica y Eritrocítica; y Ciclo Sexual o

rior con respecto a la Fase Pre-eritrocítica, se puede decir que ésta existe con una duración de 8 días más o menos, si deducimos dicha conclusión de los experimentos de Fairley antes mencionados. A esta Fase Pre-eritrocítica que podríamos llamar *primaria*, pueden sucederse otras, *secundarias*, derivadas, ya no de los esporozoítos inyectados por el mosquito, sino de algunos de los merozoítos producidos por la esporulación del esquizonto segmentado que, en vez de continuar parasitando eritrocitos, derivan hacia las células de los tejidos para evolucionar en ellas. Si la tendencia marcada a las recaídas en las infecciones producidas por este hematozoario puede explicarse debido a que la Fase Pre-eritrocítica Primaria está en continua evolución en los tejidos produciendo la Fase Pre-eritrocítica Persistente —tal como aparece en el Esquema No. 1— las fases pre-eritrocíticas secundarias son factores que también pueden tomarse en cuenta para explicar la prolongación de la enfermedad.

Para mayores detalles remitimos al lector a las páginas que tratan el tema en la sección anterior.

Una vez el merozoíto introducido en el glóbulo rojo, toma la forma de *anillo*, con su vacuola de forma vesicular, ocupando la mayor parte del trofozoíto. (b) A veces la cromatina, que es mucho más gruesa que la del *P. falciparum*, no se coloca en la periferia para simular el rubí engarzado en el anillo, sino más bien se coloca en el centro o en el borde interno del mismo, observándose en las preparaciones teñidas dentro de la vacuola. Este detalle es de mucha utilidad para el diagnóstico microscópico, pues en el *P. falciparum* casi nunca se encuentra esta disposición.

Siendo el plasmodio muy "vivaz" —de ahí su nombre— emite pseudópodos desde muy temprana edad, lo que hace aparecer a los anillos, mucho menos definidos, menos exquisitos en sus contornos que los del *P. falciparum*; y a igualdad de tiempo de evolución, mucho más gruesos.

Esporogónico, con su Fase Gametocitogónica. No nos quedaría más que explicar las calidades relevantes o matices específicos que adquiere cada especie de plasmodio en los diversos momentos de su proceso evolutivo.

(b) Conforme se vayan leyendo los momentos culminantes del proceso evolutivo, suplicamos al lector observar las figuras contenidas en la Lámina II.

Desde las primeras horas de vida intracorporal —5 a 6 horas— ya contiene el citoplasma varios gránulos de pigmento que irán aumentando en número con la edad. De color café claro, amarillento, pardo rojizo o aun negro, estos gránulos son de tamaño variable, a veces finos, alargados o aciculares; opinando algunos autores^{3d} que estos caracteres pueden ser de ayuda en el diagnóstico del plasmodio.

A medida que el parásito crece, los movimientos amiboideos aumentan en intensidad, deformando visiblemente el citoplasma que ha acrecentado su volumen haciendo desaparecer la forma inicial de anillo; la vacuola no parece disminuir de tamaño y desde ese momento se empiezan a notar cambios muy marcados en el glóbulo rojo parasitado: 1) Aumento de tamaño —a veces hasta el doble— sin que el plasmodio lo llegue a ocupar por completo todavía; 2) En las preparaciones teñidas disminuye de color, tomando un tono rosado pálido; 3) A menudo se observa deformado en sus contornos; y 4) Al mismo tiempo se cubre de un fino y numeroso punteado que en las coloraciones con Giemsa toma una tonalidad rojo-ladrillo, conocido con el nombre de *Granulaciones de Schüffner*; siendo condición indispensable para que aparezcan, que el agua con que se mezcle la solución madre del colorante, sea alcalina, con un pH 7.2 a 7.5.

Algunos autores, Hingst⁹ entre ellos, opinan que estas granulaciones se derivan de los filamentos reticulares de la célula parasitada. Y es que hay investigaciones como las de Craik, en 1920, Eaton, en 1934, Hegner, en 1938, y Kitchen en 1939,^{3a} que tratan de demostrar la marcada tendencia del *P. vivax* a parasitar los reticulocitos.

El hecho de que uno de nuestros investigadores más responsables —Dr. Erwin Jacobsthal— haya sido atraído por este mismo problema a resolver, obteniendo conclusiones que no concuerdan en todos sus puntos con las obtenidas por los investigadores arriba mencionados; y debido también, a que de esas conclusiones se derivan interpretaciones fisiopatológicas de importancia para comprender el “poder anemizante” de las diferentes especies de plasmodios, es que nos detendremos un poco más sobre este punto.

Cuando el Dr. Erwin Jacobsthal fungía como Jefe del Laboratorio Bacteriológico y Serológico de la Dirección General de Sanidad Pública de Guatemala, presentó al IV

Congreso Médico Centroamericano, celebrado en esta ciudad, en Noviembre de 1936, un concienzudo trabajo¹⁰ al respecto y en el cual concluía que no sólo el *P. vivax* tenía tendencia a la invasión de reticulocitos, sino que también el *P. falciparum*, opinando que es más marcada la tendencia de este último, cuando dice: “Diferente que la del *Plasmodium vivax*, es la infección por el *Plasmodium falciparum*. En los frotis se ve que casi exclusivamente son los infectados, los elementos reticulocitarios.” Y más adelante, refiriéndose al complejo protoplasmático del reticulocito, prosigue: “Mis experiencias han demostrado que los trastornos del protoplasma son aquí en principio los mismos que el *vivax*; la diferencia es solamente cuantitativa no cualitativa. Esto es que las granulaciones en el *falciparum* son menores en número, mayores en tamaño y menos frecuentes. Esto parece aclararnos la génesis de los gránulos de Maurer.”^(c)

Y es aquí en donde discrepa totalmente con el último de los investigadores arriba mencionados (Kitchen, 1939), quien opina que el *P. falciparum* se observa más abundantemente en los glóbulos rojos maduros que en los reticulocitos.

Expresa además, el Dr. Erwin Jacobsthal, que en el paludismo cuartano “regularmente no se infectan los reticulocitos”; esto, sin afirmarlo en definitiva, dado lo difícil que es encontrar esta especie de plasmodio, para usarlo en sus investigaciones.

Aunque nosotros no hemos llevado a cabo ninguna investigación al respecto, estamos en condiciones de tomar partido a favor de las conclusiones del Dr. Jacobsthal, basándonos en pruebas indirectas de incuestionable valor, que de haber sido conocidas o tomadas en cuenta por el grupo de investigadores antes mencionados, les hubiera obligado a una revisión de los resultados obtenidos. Por eso mismo es de lamentar que el Dr. Jacobsthal también las haya ignorado, pues de otro modo las hubiera expuesto como argumentos de peso para apoyar sus propias conclusiones.

Creemos, pues, con el Dr. Jacobsthal, que la mayor afinidad para parasitar los reticulocitos la tiene el *P. fal-*

(c) Las GRANULACIONES DE MAURER son, para el glóbulo rojo parasitado por el *P. FALCIPARUM*, lo que las GRANULACIONES de Schüffner son para el glóbulo rojo parasitado por el *P. VIVAX*.

ciparum, siguiéndole en segundo término el *P. vivax* y postergando al *P. malariae* a un lugar muy inferior, desde este punto de vista. Nos basamos, para ello, en lo siguiente: 1) No hay duda de la alta especificidad que presentan los plasmodios que estamos estudiando, para parasitar al hombre; tanto, que descartando la probable tendencia de los hematozoarios de los primates para infectar al ser humano, ningún otro plasmodio posee esa facultad. 2) Este alto grado de especificidad evidencia, marcadamente, la antiquísima asociación entre el hombre y sus plasmodios. Y 3) En 1930, Knowles y Senior-White expresaron que el "*Plasmodium malariae* es la más vieja de las especies en la escala de evolución, y que, actualmente en senectud, está gradualmente desapareciendo. En apoyo de este punto de vista apuntan (a) su asociación con los habitantes aborígenes de la región, más que con los inmigrantes blancos, (b) su ostensible restricción geográfica, y (c) que en ciertas limitadas regiones parece capaz de dominar a expensas de cualquiera de las otras especies. Sugieren que, previamente a la evolución del hombre, pudo existir como parásito de los primates. Sea de esto lo que fuere, parece, sin duda alguna, que esta especie ha progresado mucho más que las otras en el camino que la llevará a convertirse en parásito comensal. En opinión de Knowles y Senior-White, el *P. vivax* fué la segunda especie en evolucionar y consideraran que ya se ha adaptado altamente a las condiciones que lo rodean. Finalmente, el *P. falciparum* es conceptualmente, como la más reciente especie en parasitar al hombre, puesto que varias características, incluyendo los severos síntomas que se manifiestan durante la infección por este plasmodio, son considerados como indicaciones de una todavía pobre adaptación."^{3c}

Así es que, de acuerdo a la escala de evolución, mientras más "nuevo" es el parásito más severo es el ataque, debido a la marcada intolerancia existente entre ambos —hombre y plasmodio— intolerancia que se manifiesta entre otras cosas, por una mayor cantidad de merozoítos derivados de cada roseta y por una ostensible tendencia a invadir los reticulocitos.

Y continuando con la evolución del *P. vivax*, llega un momento en que el parásito ha alcanzado su desarrollo máximo en un lapso que varía alrededor de las 36 horas. Inmediatamente se suceden los cambios anunciadores de que el parásito entrará en esquizogonia: disminución del

tamaño de la vacuola hasta completa desaparición de la misma; cese de los movimientos amiboideos, tomando el plasmodio una forma más compacta, más regular, y agrupamiento en uno o dos lugares, de los gránulos de pigmento.

Después, la consabida reproducción esquizogónica del núcleo hasta llegar a un número que oscila entre 12 a 24 porciones cromatínicas alrededor de las cuales se ordenan otras tantas porciones del citoplasma que ha seguido al núcleo en su partición.

Formada así la roseta (Esquizonto Segmentado), se produce la esporulación, la cual libera los merozoítos para iniciar —la mayoría de ellos— una nueva fase eritrocítica o, invadiendo las células tisulares, producir una fase pre-eritrocítica secundaria.

Wolpers, en 1942,^{3a} estudiando el *P. vivax* con el microscopio electrónico logra observar que, en plena esquizogonia, el parásito disuelve los lipoides de la membrana globular, al mismo tiempo que los merozoítos se cubren de una membrana de iguales calidades, de la cual se desprenden al infectar al eritrocito. Sin embargo, a pesar de la protección que puede brindar la capa que envuelve al merozoíto, no hay que olvidar que muchos de ellos son destruidos por los medios que hemos descrito en la sección anterior, al quedar en libertad en el torrente circulatorio.

La Fase Gametocitogónica se inicia cuando algunos de los merozoítos que han invadido los glóbulos rojos, evolucionan en formas sexuadas produciendo gametocitos machos o microgametocitos y gametocitos hembras o macrogametocitos; y aparecen dentro de los tres a cinco días después de que el cuadro clínico se ha establecido.

Ya esté en pleno crecimiento o que haya alcanzado su máximo desarrollo, el gametocito conserva siempre su forma redonda u oval, poseyendo las otras características generales expuestas en la sección anterior.

3) *Aspecto Microscópico en el Frote.*—En general, podemos decir que en todo momento, el glóbulo rojo parasitado se constata de mayor tamaño que los demás; frecuentemente con sus contornos deformados cuando contienen formas asexuadas del plasmodio (véase las figuras b, c, d, e y f de la Lámina II). Con el Giemsa toma una coloración débil, rosado-pálida o rosado-salmón, que contrasta visiblemente con la de los eritrocitos no infectados, debien-

do aparecer las granulaciones de Schüffner en un alto porcentaje a menos que el proceso de coloración no haya sido bien llevado.

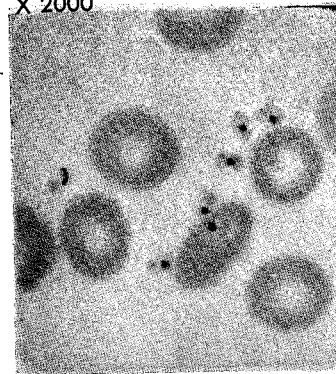
En la forma inicial de anillo el citoplasma es más grande, más extenso que el del *P. falciparum* y el del *P. malariae*; y la cromatina también más grande y más densa que la del primero. Ya desde esa edad existen, a veces, deformaciones en el citoplasma debidas a incipientes movimientos amiboideos.

En sus experiencias, el autor del presente trabajo nunca ha podido constatar la doble cromatina que algunos autores aseguran que puede existir en este estadio evolutivo del parásito. Empero, sí ha observado más de una vez, en un mismo anillo, la respectiva cromatina, grande, redonda u oval, engarzada plenamente en el citoplasma; y en cualquier lugar en la extensión de éste, un gránulo pequeño, como si fuese producto de la fragmentación(d) de la cromatina, ya que tiene la misma tonalidad que ésta. Jamás hemos encontrado dos cromatinas de igual tamaño formando parte de la forma en anillo del *P. vivax*, lo cual sí sucede en el *P. falciparum*, siendo esto una de sus características específicas.

Conforme avanza el proceso evolutivo los movimientos amiboideos se hacen más pronunciados, el citoplasma se vuelve multiforme aumentando de tamaño lo mismo que la cromatina, la cual ya no guarda siempre la forma redonda u oval, sino que se vuelve filamentososa. La vacuola sigue siendo ostensible y los gránulos de hemozoína aumentan en número (véase *fig. c*, de la *Lámina II*).

Con la llegada del plasmodio al estadio de esquizonto presegmentado, se inicia la esquizogonia (véase *fig. d*, *Lám. II*), previos los cambios indicadores del inicio de ésta (cese de los movimientos amiboideos, desaparición de la vacuola, etc.). Las características tintoriales siguen siendo idénticas a la de los estadios anteriores, pero es en este momento que se observa el mayor número de granulaciones de Schüffner y de gránulos de hemozoína, aunque reunidos estos últimos en uno o dos grupos.

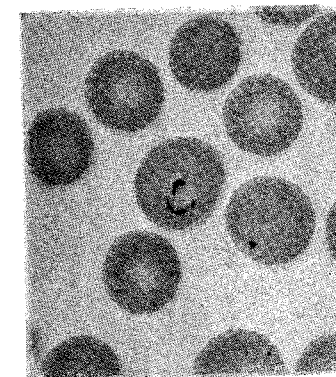
(d) Obsérvese que decimos **FRAGMENTACION** y no **DIVISION ESQUIZOGONICA**. Además, aceptando la posibilidad de una precoz proliferación filamentososa de la cromatina en el anillo, puede que el gránulo en cuestión haya estado unido al cuerpo cromático por medio de uno de los filamentos, que por su tenuidad no puede ser coloreado por el Giemsa; o en última instancia, que este filamento se haya roto al hacer el frote.



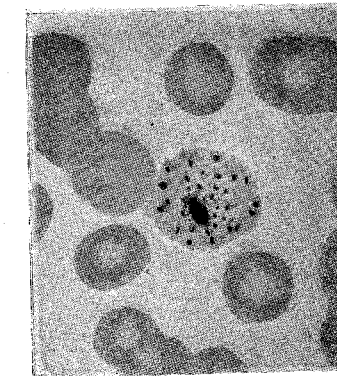
a) Merozoítos



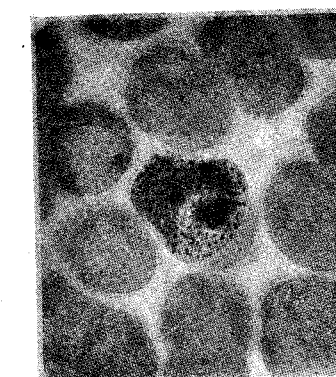
d) Esquizonto Presegmentado



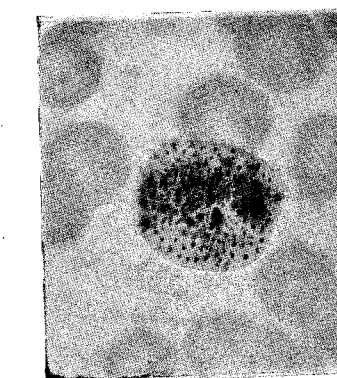
b) Forma en anillo



e) Esquizonto Segmentado



c) Trofozoíto adulto. Granulaciones de Schüffner



f) Macrogametocito

LAMINA II

El esquizonto segmentado casi ocupa todo el eritrocito, el cual ha alcanzado su máximo tamaño y palidez, vislumbrándose apenas como un delgado anillo periférico. Los merozoítos, en número de 12 a 24 —generalmente 16— se ordenan constituyendo cada uno un pétalo rojo y azul de la clásica roseta que una vez estallada los liberará en el torrente sanguíneo, tal como se observa en la *fig. a*, *Lam. II*.

Para el estudio de las características que pueden ayudar a la diferenciación de los gametocitos jóvenes de los trofozoítos, así como para el diagnóstico de las formas sexuadas adultas —aun para la clasificación en macro y microgametocitos— remitimos al lector a la FASE GAMETOCITOGONICA descrita en la sección anterior, agregando en este caso, dos detalles específicos: en el macrogametocito la cromatina está situada en la periferia, en el microgametocito está colocada en la parte central; y el pigmento es más abundante en este último. Véase además, la *fig. f*, de la *Lám. II*.

4) *Aspectos Microscópicos en la Gota Gruesa.*—Es en este plasmodio, más que en cualquiera de las otras especies, que se observan casi todos los estadios evolutivos en una misma preparación de gota gruesa sanguínea. Y es que la Fase Pre-eritrocítica Primaria puede estar en continua evolución en los tejidos, dejando en libertad, de vez en cuando, ráfagas de merozoítos en la corriente sanguínea, las cuales se desarrollan como generaciones aisladas explicando así la marcada asincronía en la esporulación de estos parásitos; característica que en los casos sin tratar, va disminuyendo lentamente hasta desaparecer casi por completo al cabo de dos semanas, más o menos.

Fuera del aspecto general que presentan las distintas especies de plasmodios en la gota gruesa sanguínea, hay uno marcadamente ostensible en el *P. vivax* —un poco menos en el *P. malariae*— que llama de inmediato la atención del microscopista: con los métodos de coloración descritos por nosotros, el parásito, cualquiera que sea su momento evolutivo, conserva la mayoría de las veces la membrana eritrocitaria intacta, con todas las características que posee el glóbulo rojo parasitado en el frote (aumento de tamaño, palidez y hasta las granulaciones de Schüffner). Esto se observa, no sólo en la periferia de la gota, como es el caso para las distintas especies, sino que en cualquier campo microscópico, aun en las regiones más espesas.

Si aceptamos que la hemólisis es el paso de la hemoglobina del glóbulo rojo al medio hemolizante, difundiendo en él, sin necesidad de que la membrana eritrocitaria se disuelva o fragmente, podríamos entonces preguntarnos por qué ésta conserva la misma tonalidad, el mismo color, que los glóbulos rojos parasitados observados en la periferia de la gota gruesa, en donde muchos de ellos escapan a la acción hemolizante del agua destilada del colorante Giemsa; o por qué las granulaciones de Schüffner en la membrana eritrocitaria no presentan ninguna diferencia, en número o disposición, con las del glóbulo rojo intacto. Creemos que la hemólisis total, si se llevara a cabo en ellos, tendería a disminuir el número de tales granulaciones o a disponerlas más apretadamente en la membrana eritrocitaria por disminución marcada del volumen globular —aunque la extensión sea la misma— lo que haría que algunas de ellas se aglutinaran con otras formando grumos, fenómeno que, como sabemos, no se produce.

Por lo arriba expuesto, no estamos de acuerdo con uno de los autores que trata sobre el diagnóstico del plasmodio en gota gruesa, cuando dice: "Como se ha disuelto la hemoglobina de los eritrocitos, no hay gránulos de Schüffner que ayuden a confirmar el diagnóstico, ni existe la posibilidad de comparar el tamaño y coloración de las células parasitadas con respecto a las que no lo están."^{7a}

¿Podemos deducir de todo ello que, o la hemólisis no se lleva a cabo en su totalidad debido al corto tiempo de coloración, o que las granulaciones de Schüffner son el producto de los trastornos que se verifican únicamente en la membrana eritrocitaria? ¿O que tal vez sean los vestigios de los puntos de implantación en la membrana eritrocitaria de los filamentos que constituyen la trama reticulocitaria?

La forma en anillo tiene un diámetro mucho mayor que el de las otras especies, siendo el citoplasma siempre mucho más extenso y la cromatina, grande y densa, colocada a veces en la vacuola y no en el "aro" del parásito. En la región central de la preparación este estadio se constata, casi siempre, muy compacto, sin vacuola, formado únicamente por la cromatina grande y el citoplasma en frente de aquella, adoptando figuras muy diversas, tal como se explicó con anterioridad. Desde luego, la coloración de ambos elementos resalta visiblemente en todos los campos examinados. No debe considerarse como parásito ningún hallazgo en el que sólo se observe un punto rojo ais-

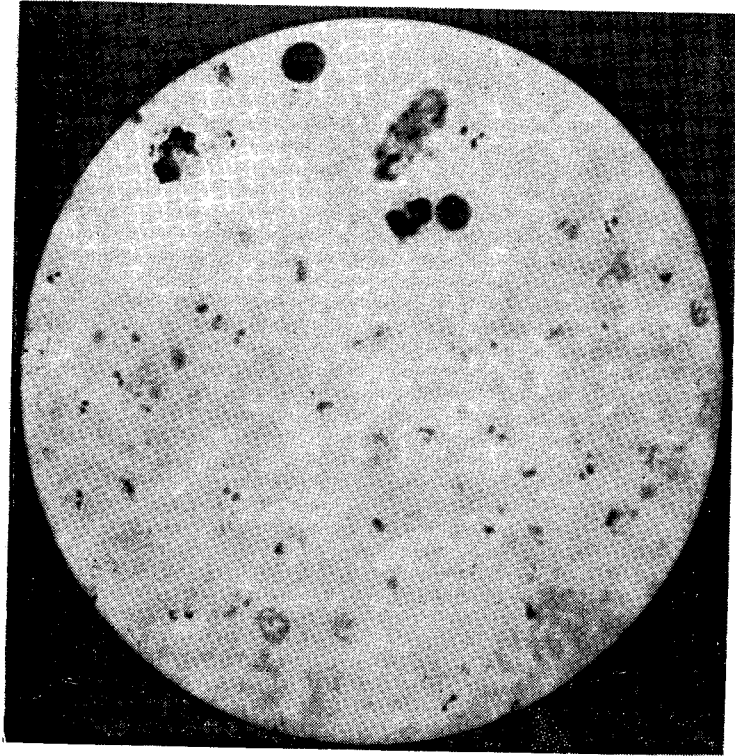


Fig. 14.—Formas en anillo de *PLASMODIUM VIVAX*. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

lado, simulando la cromatina; o un supuesto fragmento citoplasmático de color azul. Es necesario que ambos estén apareados o que indiscutiblemente formen un solo cuerpo. En la sección dedicada a Confusiones y Errores volveremos sobre el mismo asunto un poco más detalladamente.

En la *figura* 14 se observan anillos de *P. vivax* en la parte central de la preparación. Nótese la ausencia de vacuolas, debido a la retracción y deformación de los parásitos; pero de todos modos, frente a cada cromatina —el punto más oscuro— está el correspondiente citoplasma, más grande, ora redondo u oval, ora irregular en sus contornos; y si se corre el ocular hacia la periferia, los anillos se encontrarán dentro de los eritrocitos en su forma óptima. Esta preparación, que presentaba una sola edad del plasmodio, pertenecía a un caso que ingresó al Hospital General de esta ciudad después de varias semanas de padecer la infección.

La *figura* 15 nos presenta estadios más avanzados del hematozoario (trofozoítos y esquizontos jóvenes) observándose en todos ellos el citoplasma proteiforme —debido a los activos movimientos amiboideos— y en algunos de ellos, muy claramente, se constata la vacuola. Esta preparación, que tuvo un tiempo de coloración de 45 minutos, prueba una vez más lo que hemos dicho hace poco: la acción hemolizante —debido al prolongado tiempo— se llevó a cabo en su totalidad, razón por la cual los parásitos se encuentran exentos de su respectiva membrana eritrocitaria.

Los esquizontos presegmentados y segmentados se visualizan muy bien, resaltando sobre el fondo del campo más o menos homogéneo. En los segmentados se constatan claramente los merozoítos, los cuales, fácilmente contables, oscilan entre 12 y 24, con un término medio de 16.

Con respecto a los gametocitos, se puede decir que gozan de las mismas características y calidades tintoriales que en el frote, recordando que en la región central de la gota gruesa se observan más pequeños y más deformados que en la periferia.

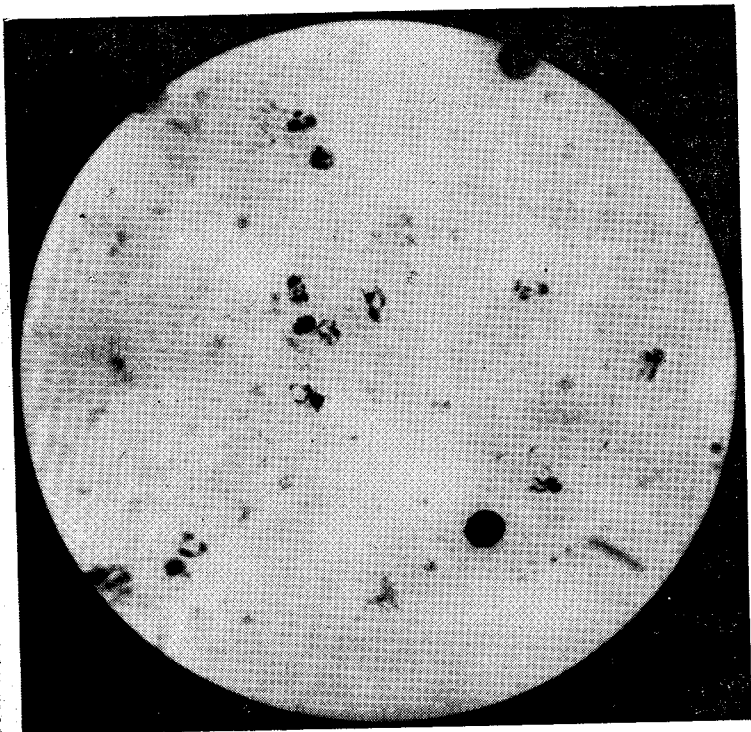


Fig. 15.—Estadios más avanzados del PLASMODIUM VIVAX. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

V

PLASMODIUM MALARIAE

(Grassi y Feletti, 1890)

1) *Consideraciones Generales.*— Como a las demás especies, Laveran la colocó en el género *Oscillaria* dándole el nombre de *malariae*, suponiéndose que haya sido la primera especie estudiada por este investigador. Como lo dejamos dicho oportunamente, debido a las Leyes de Prioridad en las Reglas Internacionales de Nomenclatura Zoológica, el género *Oscillaria* no pudo seguir aplicándose a estos parásitos debido a la existencia de un ser organizado que fué clasificado previamente bajo esa denominación; por consiguiente, en este caso como en el del hematozoario estudiado en la sección anterior, Grassi y Feletti lo describieron por primera vez en el año 1890, dándole el nombre de *Haemamoeba malariae*. Pocos años más tarde, sale a luz el nombre científico de *Plasmodium malariae quartanum* (Labbé, 1899) como sinónimo del anterior, conociéndose desde entonces, simplemente como *Plasmodium malariae*.

Es el parásito productor del paludismo cuartano, desencadenándose, por consiguiente, el acceso febril cada 72 horas, más o menos.

A pesar de la relativa benignidad de la infección, los escalofríos —aunque menos frecuentes— son más severos que los provocados por el *P. vivax*. Los desenlaces fatales son raros, pudiendo producirse en tiempos de epidemia o esporádicamente, dependiendo esto último de factores individuales mencionados en la sección anterior y que tienen igual validez en el estudio de este plasmodio.

Característica sobresaliente es la tendencia marcada a la cronicidad, contándose con observaciones de recaídas que fluctúan desde los 3 años (Fuchs-Wolfring, 1913) hasta los 60 años (Rist y Boudet, 1907).^{3e}

Y aquí, como en el *P. vivax*, puede haber más de una generación de parásitos en evolución que maduran, no simultáneamente, sino en tiempos diferentes, produciendo

la correspondiente asincronía en la esporulación; este fenómeno se manifiesta clínicamente por la producción del paroxismo, no cada tercer día —cuartana simple— sino que puede presentarse en dos días sucesivos con el tercero afebril —cuartana doble— o uno diario durante tres días —cuartana triple—. Las mismas razones que se dieron para explicar estos hechos en el *P. vivax* se pueden aducir para los producidos en el *P. malariae*, con la diferencia de que en éste la asincronía desaparece más rápidamente que en el primero.

De los plasmodios humanos es el que tiene el período de incubación más largo, oscilando entre 20 a 40 días, pero abarcando comúnmente un lapso de 28 a 35 días por término medio. (a)

2) *Morfología y Etapa Evolutiva en el Hombre.*—Si la tendencia a las recaídas en el *P. vivax* puede explicarse, como lo hicimos ya, diciendo que son debidas a que la Fase Pre-eritrocítica Primaria está evolucionando continuamente en los tejidos, llegando a producir la Fase Pre-eritrocítica Persistente, podríamos decir lo mismo con respecto al *P. malariae* cuya tendencia a la cronicidad es mucho más pronunciada que en aquél. Habría que tomar igualmente en cuenta las fases pre-eritrocíticas secundarias como factores de consideración.

Puesto que la Fase Eritrocítica se desarrolla en 72 horas, a igualdad de tiempo con el *P. vivax*, el *P. malariae* presenta sus formas evolutivas más pequeñas, marcándose más esta diferencia en las primeras 24 horas.

En sus primeros momentos la forma en anillo ocupa la cuarta parte del glóbulo parasitado. El citoplasma se constata más compacto, más denso que el del *P. vivax*; siendo una característica de este estado, que la cromatina también es grande y densa, tanto, que casi siempre es del mismo diámetro que el citoplasma. La vacuola es muy pequeña, desapareciendo mucho más rápidamente que en las demás especies. Rara vez el pigmento aparece en esta forma.

Según va creciendo, las características de esta especie van en aumento. En pasando de la forma de anillo, la va-

(a) Sin embargo, hay publicaciones^{4a} que expresan textualmente: "...para la cuartana se indican unas 2—3 semanas, (en esta forma no se han comprobado períodos de incubación más prolongados)..."

cuola casi siempre no existe y los movimientos amiboideos son escasos si no ausentes, dando por resultado que el parásito tenga un aspecto más compacto, más regular, tomando en las preparaciones teñidas una coloración mucho más intensa que en las demás especies. El pigmento aparece en forma de gránulos gruesos, más oscuros que los del *P. vivax*, alineándose periféricamente y casi siempre en el lado opuesto al del núcleo.

Es en ese entonces que el plasmodio ostenta su pronunciada característica de crecer a todo lo largo de uno de los diámetros del glóbulo rojo, extendiéndose hasta ambos extremos del mismo y produciendo la conocida "*forma en banda*", tanto más ancha cuanto mayor es la edad del parásito.

El glóbulo rojo parasitado no sufre las modificaciones tan marcadas como las producidas por el *P. vivax*. No aumenta de tamaño, antes bien, en algunos casos parece contraído; en las preparaciones teñidas no disminuye su color; y algunos autores —Ziemann y James, entre ellos— han podido constatar granulaciones más pálidas que las de Schüffner y a las cuales James^{3f} ha propuesto llamarlas *Granulaciones de Ziemann*. Si aceptamos como buenas las explicaciones dadas en la sección anterior con respecto al origen de las granulaciones, la rareza de encontrarlas en los glóbulos rojos parasitados por el *P. malariae* estribaría en que es el que menos tendencia tiene a parasitar los reticulocitos.

En alcanzando el trofozoito su plena madurez —lo que sucede cuando han transcurrido 48 a 60 horas— llena casi siempre por completo el glóbulo rojo. Los gránulos de pigmento forman un solo grupo, de preferencia en el centro del parásito, rara vez en la periferia, indicando con ello el inicio de la esquizogonia, la cual se verifica mediante un proceso análogo al de los demás plasmodios.

De 6 a 12 merozoítos —8 por término medio— son los que resultan formando la roseta, con sus pétalos regularmente colocados, conociéndosele con el nombre de "*forma en margarita*" por su semejanza estrecha con esta flor.

Obsérvese como dato interesante que, a pesar del pobre o escaso resultado del proceso reproductivo, el paso de esquizonto presegmentado a esquizonto segmentado puede tomar a veces hasta 24 horas.

Las formas sexuadas son muchas más escasas que en las otras especies, originándose como en éstas, en los órganos internos. En los estadios jóvenes nunca adopta la "forma en banda" como lo hacen los trofozoítos; y en las formas maduras las características son, poco más o menos, análogas a las del *P. vivax*, haciendo la observación de que el glóbulo parasitado sigue siendo de tamaño normal o a veces más pequeño, llenándolo por completo el hematozoario.

3) *Aspecto Microscópico en el Frote.*—Los merozoítos, ya sea que se encuentren todavía constituyendo la "forma en margarita" o que estén libres y cercanos a los residuos del glóbulo estallado, adoptan una conformación rechoncha, con ambos elementos —citoplasma y núcleo— intensamente coloreados (Lám. III, fig. a).

Las formas en anillo, como hemos dicho, se muestran compactas en sus elementos constituyentes, llamando la atención lo intensamente coloreadas, así como el gran tamaño de la cromatina.

Conforme avanza en crecimiento, el plasmodio ya puede ser claramente diferenciado por su tendencia a adoptar la "forma en banda," la escasez o ausencia completa de movimientos amiboideos y con vacuola pequeña o ausente (Lám. III, fig. c), constatándose el pigmento compuesto de gránulos gruesos y coloración de tonalidad más oscura que en el *P. vivax* y el *P. falciparum*. La ordenación de estos gránulos es periférica y casi siempre opuesta al núcleo. Las granulaciones de Ziemann rara vez son visibles.

El esquizonto presegmentado, pequeño, con escasas divisiones nucleares y con tendencia del pigmento a reunirse en un solo grupo central (Lám. III, fig. d).

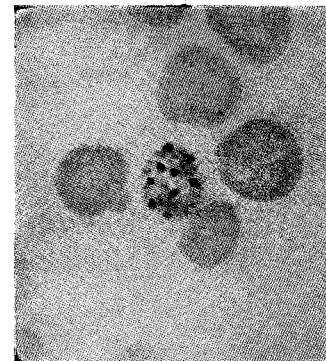
En el esquizonto segmentado los merozoítos oscilan entre 6 y 12 —generalmente 8— resaltando marcadamente el aumentado tamaño de las cromatinas (Lám. III, fig. e). El parásito ocupa todo el glóbulo rojo.

Los gametocitos se observan raramente en el frote, y como dijimos en líneas anteriores, poseen casi iguales características que las del *P. vivax*, recordando una vez más, que el tamaño del glóbulo parasitado es normal o más pequeño (Lám. III, fig. f).

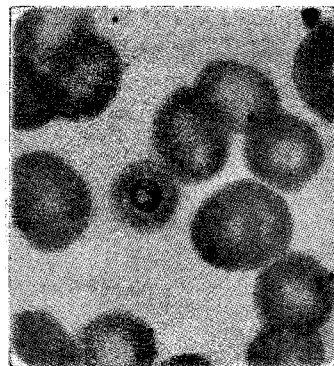
X 2000



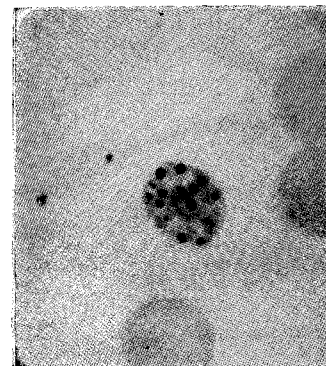
a) Merozoítos



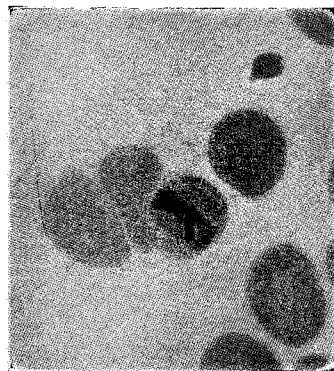
d) Esquizonto Presegmentado



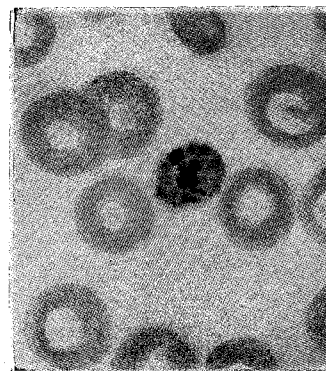
b) Forma en anillo



e) Esquizonto Segmentado



c) Forma en banda



f) Microgametocito

4) *Aspecto Microscópico en la Gota Gruesa.*—Como para el *P. vivax*, es muy frecuente en esta especie de parásito encontrar varios estadios evolutivos en una misma preparación de gota gruesa sanguínea. A este respecto Barber^{5b} opina que jamás ha visto una preparación de éstas, que siendo positiva de *P. malariae*, exhiba únicamente las formas en anillo. Las mismas razones expuestas para explicar esta característica en el plasmodio primeramente mencionado es aplicable en el segundo. Con frecuencia además, éste conserva la membrana del glóbulo rojo que parasita, la cual ha escapado a la total acción hemolizante del agua destilada con que se mezcla la solución madre del colorante Giemsa, tal como se expuso en la sección anterior.

Las formas en anillo son pequeñas en relación a las del *P. vivax* y mucho más densas y compactas que las del *P. falciparum*; la vacuola de las mismas se ve muy raramente en las regiones centrales de la preparación, no así en la periferia en donde la gota gruesa sanguínea goza de las mismas características del frote. Por dicha razón estas formas presentan, la mayoría de las veces, un citoplasma lleno, esférico u ovoide, pequeño, con su correspondiente cromatina grande, con suma frecuencia del mismo tamaño que el citoplasma. La *figura 16* nos muestra un campo microscópico de gota gruesa sanguínea en donde se observan varios anillos, destacándose las cromatinas como puntos definitivamente negros, en frente de cada uno de los cuales se constata otra área puntiforme, de color gris, que constituye el citoplasma.

En edades más avanzadas las características arriba mencionadas se hacen más sobresalientes, dado que para este entonces, las demás especies exhiben mayor irregularidad en sus contornos debido a los activos movimientos amiboideos de que están dotados.

Los gránulos de pigmento, gruesos, oscuros y abundantes, se esparcen al principio, en toda la extensión del citoplasma, pero poco a poco se ordenan periféricamente, constituyendo un dato precioso para el diagnóstico de esta especie; pudiéndose observar, además, la "*forma en banda*", en la periferia de la preparación.

Los esquizontos presegmentados y segmentados presentan, poco más o menos, igual aspecto que en el frote. Con respecto al esquizonto segmentado se podría decir que es la forma más fácilmente diagnosticable en esta especie. Muchas veces esta "*forma en margarita*" está consti-

tuida únicamente por el pigmento agrupado en el centro y las cromatinas rodeándolo, y aparentemente sin sus correspondientes citoplasmas, los cuales permanecen incoloros (véase la "forma en margarita" en la fig. 16).

Los gametocitos ostentan iguales caracteres que en el frote, haciendo la salvedad de que son difíciles de diferenciar de las formas asexuadas que han alcanzado plena madurez y cuyas cromatinas no están divididas; esto sucede con mayor frecuencia en los macrogametocitos, ya que los microgametocitos tienen características mucho más fáciles de constatar (cromatina grande, irregular, a veces granular, y citoplasma débilmente coloreado, con abundantes gránulos de pigmento, gruesos y oscuros).

Y siempre recuérdese que: pasada la forma en anillo, el parásito es diagnosticable —en sus formas asexuadas y sexuadas— por su tamaño pequeño, densidad, intensidad en la coloración, regularidad en su forma y pigmento grueso y obscuro; distintivos estos que se marcan ostensiblemente en la gota gruesa sanguínea.

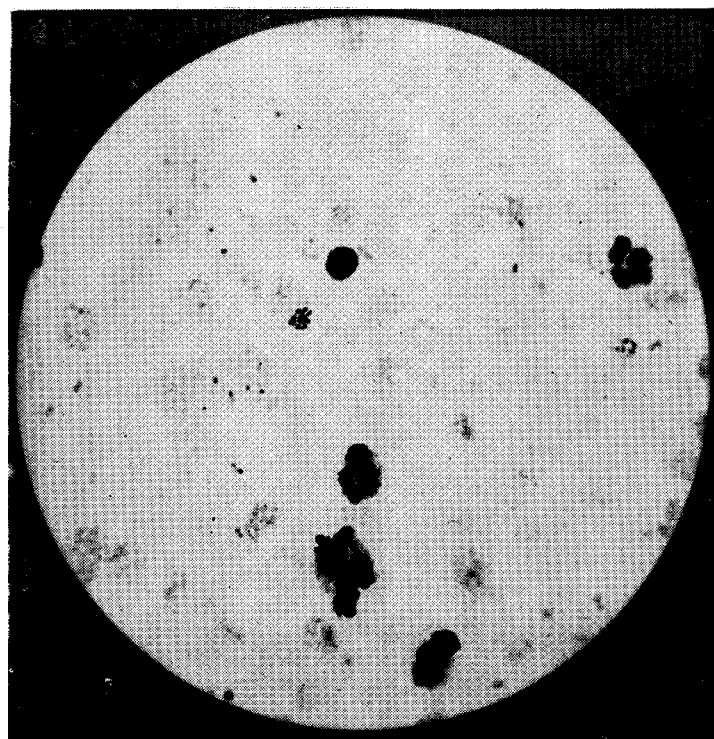


Fig. 16.—Formas en anillo y un esquizonto segmentado —forma en margarita— de *PLASMODIUM MALARIAE*. Obsérvese la policromasia y el punteado basófilo. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

VI

PLASMODIUM FALCIPARUM

(Welch, 1897)

1) *Consideraciones Generales.*—Como lo hemos expuesto en la Sección II, intitulada HITOS EN LA LUCHA CONTRA EL PALUDISMO, perteneciente a este mismo capítulo, Laveran, al hacer público su descubrimiento en el Boletín de la SOCIÉTÉ MÉDICALE DES HOSPITAUX DE PARIS, hizo la descripción sucinta de las formas sexuadas del *P. falciparum* al expresar que: “*Los cuerpos No. 1* son elementos alargados, más o menos aguzados en sus extremidades, a menudo encurvados en forma de media luna o algunas veces de forma oval. Miden de ocho a nueve milésimas de milímetro. Son incoloros, excepto hacia la parte central, en donde existe una mancha negruzca formada por una serie de granulaciones redondeadas que parecen gránulos de pigmento. Algunos de estos cuerpos ostentan en el lado cóncavo una línea curva, pálida, que parece unir las extremidades de la media luna.”

Como este investigador creyó que las diversas especies de plasmodios humanos hoy conocidas eran diferentes formas en el proceso evolutivo de un mismo parásito, al cual, como hemos visto, denominó *Oscillariae malariae*, resulta que el *P. falciparum*, igual que los dos estudiados en las páginas anteriores, se rotula entre los sinónimos como *Oscillariae malariae*, *pro parte*.

A pesar de que Golgi, 4 años después de la publicación de Laveran, pensó que las medias lunas descritas pertenecían a una especie distinta, no es sino hasta el año 1889, que el binomio Marchiafava y Celli por un lado y Canalis por otro, describieron este parásito como poseyendo características propias suficientes para ser considerado como una especie nueva.

El término “*falciparum*” fué aplicado por Welch (1897), y aceptado por la Comisión de la Sociedad de las Naciones (Boletín IX, 1940).¹¹ “Sigerist (1942), defendiendo el significado del nombre específico *falciparum* de

Welch, especialmente contra las críticas de Scott (*A History of Tropical Medicine*, 1939, Vol. I, p. 155), hace notar que el término se deriva de *falx* (hoz o creciente) y *parere* (producir), y que no se trató de significar con él "semejante a un creciente, como Scott supone."^{7b}

Después de aplicarse el primer nombre científico, surgieron otros, tales como *Haemamoeba praecox* Grassi y Feletti, 1890; *Laverania malariae* Grassi y Feletti, 1892; *Plasmodium immaculatum quotidianum* Craig, 1909; *Plasmodium tenue* Stephens, 1914; hasta llegar al nombre actualmente aceptado por la mayoría de los investigadores y que es el que encabeza esta sección.

Es el plasmodio productor de la fiebre trópica o tropical, terciana maligna, subterciana de los ingleses, o estivo-otoñal de los países templados, tomando la fase eritrocítica de 24 a 48 horas para completar su evolución.

Es la especie que produce los más variados cuadros clínicos, al mismo tiempo que se le adjudica el más alto porcentaje en la producción de los accesos perniciosos. Si a la sífilis se le ha llamado, con justa razón, la "*gran simuladora*", no pecamos de exagerados al conceptuar al *P. falciparum*, como el "*gran simulador*", debido a la razón primeramente apuntada. Y si a lo proteiforme de esta infección parasitaria, se agrega la marcada tendencia a la perniciosidad, tendremos una explicación más o menos gruesa del porqué, entre los plasmodios humanos, es el que posee el más alto índice de mortalidad.

El período de incubación es de 10 a 14 días, por término medio, pudiéndose agregar circunstancias concomitantes que hacen oscilar dicho lapso en unos pocos días, en más o en menos, pero nunca tanto como en el caso de las otras dos especies anteriores.

La tendencia a las recaídas es escasa, siendo la cronicidad muy corta aun en los casos no tratados, opinando algunos autores³⁵ que en la mayor parte de las infecciones el plasmodio desaparece de la sangre en unos 6 a 12 meses.

Su alta capacidad reproductiva aunada al gran poder invasivo para los eritrocitos hacen que esta especie sea la que alcance las más altas densidades parasitémicas.

Agréguese que la asincronía descrita en las otras dos especies se observa en ésta también, dándose para ella más de una explicación, ninguna de las cuales satisface por sí

sola; sea de ello lo que fuere, parece que la "*sincronización*" tarda más en establecerse en este plasmodio que en los otros.

Todo esto nos ayuda a explicar por qué, en la infección corriente desencadenada por este parásito, lo que más llama la atención del médico en el cuadro clínico ya establecido es la variabilidad de las formas que adquiere la curva febril: remitente, intermitente, continua o aun irregular, escapando esta última a cualquier encuadre que se le desee dar.

Los cuadros clínicos producidos por el acceso pernicioso pueden clasificarse, para algunos autores^{3h} en formas *cerebrales*, *gastro-intestinales*, *álgidas* y un cuarto grupo final que contemplaría los *no comprendidos en los anteriores*; para otros, podrían encasillarse dentro de los siguientes grupos: *comatoso*, *delirante*, *cerebroespinal*, *tetánico*, *hemipléjico*, *bulbar*, *disentérico*, *colérico*, *álgido*, *cardiálgico*, *pneumónico*, *hemorrágico*, *bilioso* y *tifóidico*. (a) Como se comprende, no son contadas las ocasiones en que el médico puede desviarse hacia una falsa impresión diagnóstica si no tiene en mente la infección palúdica.

Otras características que pueden inducir a errores son: 1) Es el plasmodio en donde más raramente se produce el escalofrío, siendo en última instancia, mucho menos marcado; 2) El paroxismo es más severo y de mayor duración —24 a 36 horas— que en las otras especies; y 3) La curva febril tiene tendencia al ascenso lento, y cuando desciende, lo hace en lisis más comúnmente que en crisis.

2) *Morfología y Etapa Evolutiva en el Hombre*.—De acuerdo con los experimentos de Fairley, podríamos decir que la fase pre-eritrocítica del *P. falciparum* tomaría un tiempo de 6 días para completarse. Esta fase, comprobada por Shortt y colaboradores, fué expuesta en la Sección III del presente capítulo, en donde se expone, entre otras cosas, que "... la ausencia de recrudescencias y recaídas una vez que la parasitemia ha sido erradicada por

(a) Véase al final del presente trabajo el APENDICE intitulado FUNDACION DEL DEPARTAMENTO DE GOTA GRUESA SANGUINEA DEL HOSPITAL GENERAL, en donde se exponen varias observaciones con diagnósticos equivocados, debido a que los cuadros clínicos simulaban entidades mórbidas comprendidas dentro de estos grupos.

drogas antimaláricas y la reconocida corta vida en el curso de las infecciones por el *P. falciparum*, podría testimoniar con cierta evidencia, que de existir algún ciclo exoeritrocítico después del establecimiento de la infección sanguínea, deba ser de corta vida si acaso exista." Además, hemos de recordar al lector el esquema No. 2, en donde se explica el probable mecanismo seguido por este plasmodio para producir el ataque clínico de paludismo.

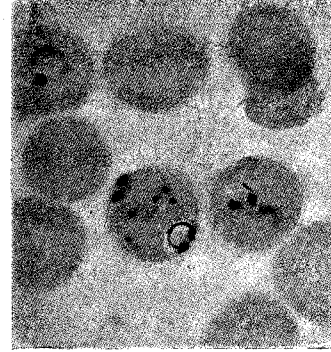
Lo fino del citoplasma, la cromatina menuda haciendo veces de piedra engarzada, sobresaliendo de la periferia del citoplasma, lo delicado del aspecto, lo exquisito, en fin, del conjunto, hacen de la forma inicial de anillo, uno de los estadios más fácilmente diagnosticables del parásito. Ocupa una sexta parte —a veces menos— del diámetro del glóbulo parasitado, y éste puede ser invadido, en más de una ocasión, por uno o varios merozoítos, habiéndose encontrado hasta ocho en algunos de ellos, en casos de infección masiva (véase *fig. b, Lám. IV*).

La doble cromatina es frecuente (véase *Lám. IV, figs. a y c*), la mayoría de las veces adoptando la forma de bauriculares telefónicos, y otras veces colocadas diametralmente opuestas.

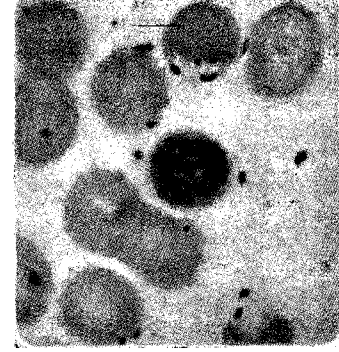
Conforme la evolución avanza los movimientos amiboideos se hacen más ostensibles, aumentan las dimensiones de las formas en anillo, sobre todo las del citoplasma que se abulta con frecuencia en el lado opuesto al de la cromatina. Este estadio se prolonga por unas 24 horas y ya para ese entonces el pigmento ha hecho su aparición en forma de gránulos finos y oscuros (verdosos o negroverdosos).

A la característica de que el parásito permanece más tiempo bajo la forma en anillo, que cualquiera de las otras especies, se agrega la peculiaridad de que llega un momento —cuando ha alcanzado un tamaño igual al tercio del diámetro del eritrocito— en que, en las infecciones corrientes, desaparece de la sangre periférica para seguir evolucionando en los capilares de los órganos internos, así como en los senos sanguíneos y médula ósea, en donde se aglomeran los plasmodios, ocluyendo los capilares viscerales y produciendo las embolias consiguientes.

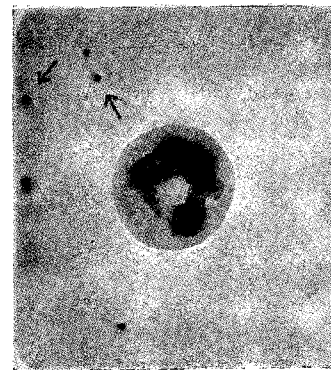
Muchas opiniones se han vertido para explicar dicho fenómeno, pareciéndonos que las de Knisely y Bloch^{3b} (1942) pueden dar cuenta del mismo bastante ampliamente.



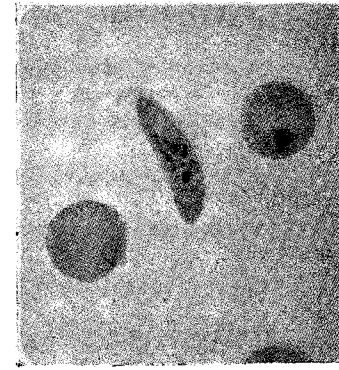
a) Formas en anillo. Granulaciones de Maurer



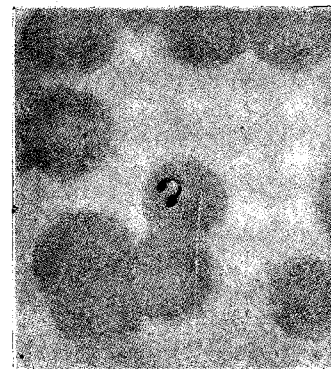
d) Esquizonto Segmentado



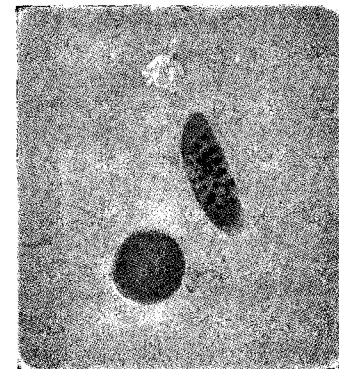
b) Formas en anillo. Infección múltiple.



e) Macrogametocito



c) Forma en anillo con doble cromatina



f) Microgametocito

LAMINA IV

te. Para estos investigadores, en la superficie del glóbulo rojo parasitado se deposita una capa de fibrina que lo vuelve pegajoso, ocasionando con ello la adherencia a otros glóbulos infectados y aun al endotelio de los capilares. No se trata, pues, de un viscerotropismo positivo tal y como algunos autores lo expresan, sino más bien, de un trastorno físico-químico que, producido en el glóbulo rojo habitado por el plasmodio, repercute en el plasma sanguíneo, produciendo la capa de fibrina antes mencionada.

Tanto los trofozoítos de edad avanzada como los esquizontos presegmentados y segmentados pueden constatare en la circulación sanguínea periférica cuando la parasitemia es intensa, masiva, siendo entonces signo de mal pronóstico. Estas formas son más pequeñas que las del *P. vivax*, y aun con frecuencia, también de menor diámetro que las del *P. malariae*. Corrientemente, desde el estadio de trofozoíto de edad avanzada, ya el pigmento puede estar formando una sola masa compacta. El esquizonto segmentado no llena más que las dos terceras partes, a veces los tres cuartos, del diámetro del eritrocito. La división nuclear se inicia mucho antes que la del citoplasma, y generalmente ésta principia cuando aquélla ya ha producido unas 8 a 16 porciones cromatínicas. Los merozoítos resultantes oscilan entre 6 y 32, y algunas veces, hasta 36. Algunos autores opinan que cuando se constatan rosetas con un gran número de merozoítos hay que pensar en la probabilidad de que el glóbulo rojo haya sido parasitado simultáneamente por dos o más formas en anillos. Otros investigadores contemplan la posibilidad de una *fisión binaria supernumeraria*^{1c} que se efectuaría en la forma en anillo. ¿Estará esta precoz multiplicación del parásito en relación con la doble cromatina que presentan muchas de las formas en anillo? ¿Puede considerarse la doble cromatina como el inicio de la *fisión binaria supernumeraria*? La contestación afirmativa a estas preguntas podría ser la explicación a la gran variabilidad en el número de merozoítos contenidos en cada roseta del plasmodio.

El glóbulo rojo parasitado por formas asexuadas, no sufre alteraciones en el tamaño, aunque su contorno puede, a veces, estar deformado, arrugado o "*en cremallera*". Tampoco se decolora como es el caso del *P. vivax*, pero en más de una ocasión se constata exhibiendo un aspecto bronceado. Y aquí, como en las dos especies anteriores el glóbulo ostenta, en las preparaciones teñidas, un pun-

teado de color rosado, formado por gránulos de contornos triangulares o irregulares más gruesos y más escasos que los contenidos en el glóbulo parasitado por el *P. vivax*. Stephens y Christophers (1900-1903) fueron los que primeramente hicieron la descripción de estas granulaciones,^{7d} a pesar de ello, son más conocidas bajo el nombre de *Granulaciones de Maurer*.

Después de varias fases eritrocíticas, se producen las formas sexuadas, originándose en los capilares viscerales con más frecuencia que en los capilares de la circulación sanguínea periférica. Las formas incipientes de los gametocitos tienen las mismas características que los de las otras especies: redondos u ovoides, compactos, sin vacuolas, con la cromatina pequeña, en medio del citoplasma, ostentando ya algunos gránulos de pigmento, que aumentan rápidamente en número conforme progresa el crecimiento. A veces, en edades más avanzadas, son ostensibles las formas en uso o lanceoladas. Alcanzada la completa maduración, los gametocitos adquieren la forma de media luna, hoz, salchicha o de riñón, característica específica tan sobresaliente, que ha hecho exponer a más de un investigador la creencia de que este parásito pertenece a un género distinto al del plasmodium (véanse *figs. e y f* de la *Lám. IV*). Generalmente aparecen en la sangre periférica alrededor de los 10 días después de que la infección se ha establecido en definitiva; lo hacen por oleadas o "andadas" y casi siempre, pronostican una remisión del cuadro clínico. El glóbulo invadido sufre un alargamiento hasta de una y media veces el diámetro del mismo, estrechándose el diámetro perpendicular al anterior, hasta su mitad. Debido a este estiramiento, la membrana globular no se observa más que en la parte correspondiente a la concavidad del parásito, presentando un color rosado pálido, en las preparaciones teñidas.

Fuera de que en el macrogametocito la forma es más alargada, estrecha, en media luna o en hoz; y el microgametocito es más rechoncho, un poco más corto y de extremidades romas, ambas formas gozan de las mismas características diferenciales que poseen los gametocitos de las otras especies.

3) *Aspecto Microscópico en el Frote*.—Es en esta preparación ya coloreada que resaltan más distintamente las características de delicadeza de la forma en anillo; la cromatina de color rojo-rubí o rojo-vinoso sobresale del cito-

plasma, fino, bien delineado. La exquisitez en el aspecto, lo pequeño del anillo (en las especies humanas de plasmodio es el de diámetro menor) más el hecho de que, la mayoría de las veces, sólo estas formas jóvenes del ciclo asexual se pueden constatar en la sangre periférica, hace que digamos con Aimee Wilcox^{8c}: "...que cuando únicamente formas en anillo en gran número son vistas y no pueden ser encontrados trofozoítos adultos o esquizontos, la infección es, con toda probabilidad, estivo-otoñal."

Las formas "superpuestas" de algunos anillos parecen estar colocadas en la superficie del glóbulo; haciéndose más ostensible esta peculiaridad cuando algunas de ellas, situándose en la periferia globular, se adhieren estrechamente al contorno del mismo. El plasmodio se visualiza entonces como formado únicamente por un filamento citoplasmático curvo, de color azul, en medio del cual se coloca la cromatina roja, sobresaliendo francamente, como lo hace cuando el anillo se constata en su totalidad. Esta forma es conocida por algunos, como en "ojo de pollo," incluyéndose entre las denominadas formas "acolé" o "applique" de los autores franceses e ingleses.

El trofozoito adulto sigue siendo pequeño, compacto, con la cromatina casi igual a la del anillo y citoplasma también compacto, sin vacuola, o si existe, muy pequeña; el pigmento puede estar todavía repartido en toda la extensión del citoplasma, o agrupado en una masa compacta de color negro-verdosa.

El esquizonto presegmentado tiene un aspecto muy parecido al del *P. malariae*, pero frecuentemente más pequeño, encontrándose los gránulos de pigmento ya agrupados como lo expusimos en las líneas anteriores. En este estadio, llama la atención del microscopista la cromatina ya dividida parcialmente, formando gránulos rojos en medio del citoplasma azul todavía entero.

El esquizonto segmentado sigue gozando de las mismas afinidades tintoriales que en las otras especies. Los merozoítos resultantes oscilan entre 6 y 36—corrientemente de 20 a 24—bastante pequeños, observándose únicamente la cromatina de los mismos en la mayoría de los casos. A pesar de ser la roseta que mayor número de merozoítos tiene, no llena, como expusimos anteriormente, más que las dos terceras o las tres cuartas partes del glóbulo rojo.

Con respecto a las formas sexuadas, hemos de recordar que los estadios jóvenes se encuentran muy raramente en la circulación periférica, no así las formas adultas o maduras, las cuales destacan marcadamente de los anillos, trofozoitos adultos y esquizontos de este plasmodio o de cualquier otra especie (véase *Lam. IV*, figs. *c* y *f*). Fuera de ello, la organización interior y las afinidades tintoriales de estos gametocitos, difieren muy poco del de los otros plasmodios: macrogametocito con citoplasma denso, azul oscuro; cromatina en forma de masa pequeña y compacta, colocada centralmente; y los gránulos de pigmento situados alrededor del núcleo y a veces acultándolo. Microgametocito con citoplasma pálido o gris azulado, a veces rosado, cromatina difusa, dispersa en gránulos; y el pigmento con tendencia también a la dispersión.

4) *Aspecto Microscópico en la Gota Gruesa.*—Aquí como en el frote, siguen siendo válidas las características morfológicas y tintoriales que hacen posible el diagnóstico en esta especie de hematozoario.

Las formas en anillos se observan, desde luego, mucho más numerosas que en el frote, dado que la gota gruesa es un método de enriquecimiento; de donde, si en aquél el hallazgo de dichas formas únicamente, inducen "... con toda probabilidad..."⁵⁰ al diagnóstico del *P. falciparum*, en ésta adquiere caracteres de certeza. Conforme en el examen microscópico se va ascendiendo de la periferia al centro —hacia el mayor espesor de la preparación— los anillos se visualizarán en diferentes secciones ópticas, con diversas formas: semi-anillos, signos de admiración, hélices (con la cromatina haciendo veces de punto central), puentes, comas, etc. Y en más de una ocasión se podrá constatar la doble cromatina en algunos de estos estadios. Las figuras 17 y 18 nos presentan sendos campos microscópicos en donde estas formas iniciales se constatan en enorme número. (b)

Las formas avanzadas se encuentran, como hemos dicho, en las infecciones masivas, graves; y aunque los trofozoitos adultos pueden ser confundidos con los del *P. malariae*, un examen atento puede encontrar ciertas diferencias: aquéllos son más pequeños, más compactos, con fre-

(b) Estas mismas figuras exhiben otros datos que se detallarán oportunamente.

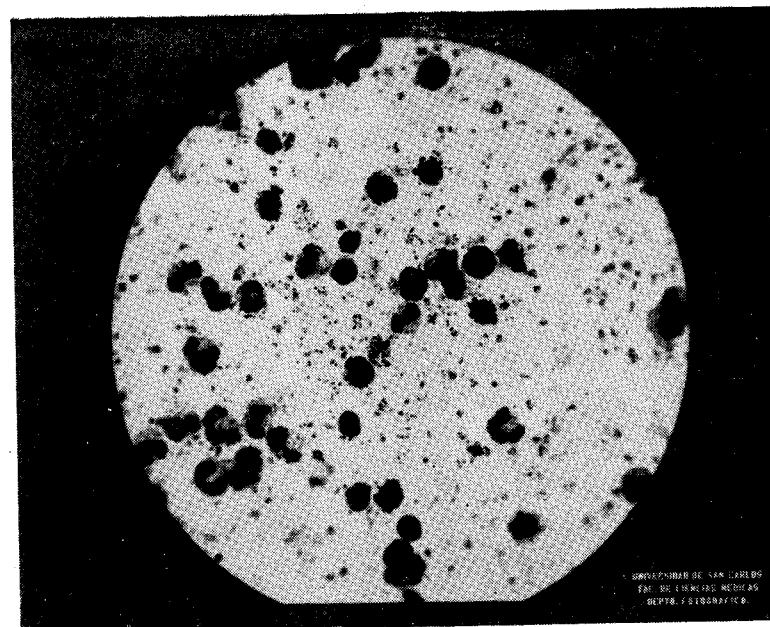


Fig. 17.—Infección masiva con *PLASMIDIUM FALCIPARUM*: abundantísimas formas en anillo y un esquizonto segmentado —roseta— a medio estallar ligeramente a la izquierda y abajo del centro de la preparación. Policromasia y punteado basófilo. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

cuencia la vacuola ha desaparecido, y los gránulos de pigmento están reunidos en una masa compacta y oscura. En el centro de la *figura 18* se observa un macrófago que ha fagocitado dos trofozoítos adultos; la *figura 19*, que es la región central de la figura anterior, ampliada al máximo, exhibe el mismo macrófago con detalles más perceptibles. Los esquizontos presegmentados siguen teniendo los mismos caracteres que poseen los trofozoítos adultos, haciendo la observación de que ya en este estadio se destaca de manera prominente la masa compacta y negro-verdosa del pigmento como la peculiaridad más importante para su diagnóstico. Los esquizontos segmentados ostentan análogas características que en el frote: merozoítos frecuentemente en mayor número que en las otras especies, mucho más pequeños, parásito no llenando por completo el glóbulo invadido, etc., particularidades que se comprueban sobre todo en las regiones periféricas de la preparación. Ligeramente a la izquierda y abajo del centro de la *figura 17* se observa un esquizonto segmentado a medio estallar; formas análogas se encontraron en otros campos microscópicos de la misma preparación, que como en el caso de la *figura 18*, pertenecieron a casos con desenlace fatal. De cualquier manera, si la identificación de esta especie por medio de las formas avanzadas deja alguna duda, siempre habrá en la preparación suficientes anillos que inclinarán la balanza hacia el diagnóstico del *P. falciparum*.

Los gametocitos son fácilmente identificables, guardando estrecha semejanza con el aspecto que presentan en el frote, tanto en la forma como en la coloración y organización interior. Recordemos que estas formas aparecen en la circulación sanguínea periférica casi siempre en oleadas o "andanadas", como es el caso corriente; pero pueden aparecer también, aunque en menor número, juntamente con los anillos que predominan de modo ostensible. Y la presencia inconfundible de estos gametocitos puede agregarse a la de los anillos, para inclinar el diagnóstico hacia el *P. falciparum* cuando, como expusimos hace un momento, la identificación de esta especie por medio de las formas de edad avanzada suscita alguna duda. Se observan también en gran cantidad, cuando la infección palúdica producida por este plasmodio no ha sido bien dirigida, como es el caso de la *figura 20* que muestra un campo de gota gruesa perteneciente a un enfermo palúdico a quien sólo se le administró medicamentos esquizontocidas. Se le verificó diariamente un control (examen de gota grue-

sa) durante 29 días, presentando siempre gametocitos; el día del último control se le dió su salida del hospital sin que se atendiera o tomara en cuenta la existencia de formas sexuadas. No hay duda de que la sintomatología palúdica, el "*paludismo clínico*" había desaparecido, no así el "*paludismo social*" que sin lugar a discusión, interesaba sobremanera a la comunidad donde el paciente había convivido y a la cual regresaba.

Con el medicamento empleado en el caso anterior, Chaudhuri y Chakravarty verificaron un ensayo clínico cuyos resultados publicaron en el *Indian Journal of Malariology*,¹² haciendo notar entre otros detalles que los gametocitos de falciparum "...persistieron hasta el vigésimo sexto día." Es de hacer notar, por consiguiente, en el caso que nos ocupa, que la existencia de dichos gametocitos ha de haberse prolongado mucho más de los 29 días durante los cuales estuvo bajo el control diario del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General de esta ciudad.

Algunas veces estas formas logran percibirse redondas u ovoides, sobre todo en las porciones más espesas de la gota gruesa, dando lugar a posibles confusiones con los trofozoítos adultos y gametocitos de *P. malariae*; pero examinando dichas formas más detalladamente el microscopista constatará ciertas diferencias que le hará insistir en la búsqueda de otros estadios del plasmodio en diversos campos de la preparación, y casi siempre lo logrará, agregándose a ello el hallazgo de gametocitos de *P. falciparum* en las márgenes de la gota, pero no ya adoptando la forma redonda u ovoide, sino la clásica de media-luna, salchicha o riñón. Algunos autores opinan que las formas redondas u ovoides se observan cuando la preparación se ha secado lentamente; pero creemos que puede explicarse también debido al hecho de que percibiéndose, como se percibe, en las regiones más espesas de la gota gruesa, estas formas plasmodiales asumen una posición vertical en relación a la lámina porta-objeto, proyectándose ópticamente, como una sección transversal del parásito. Hemos de agregar además, en apoyo de nuestra opinión, que en más de una oportunidad hemos constatado no la forma redonda u ovoide, sino más bien —siempre conservando el diámetro transversal del gametocito— una configuración que puede describirse como de borde convexo en la mayor parte de su contorno, y suavemente cóncavo en la menor; con los polos o extremos romos, y el conjunto mucho más pe-

queño, desde luego, que cuando asume la posición típica u horizontal. ¿Podría deducirse de ello que el lado interno del gametocito es excavado a todo lo largo de su mayor diámetro, tomando el conjunto una forma abarquillada?

Y aquí aprovechamos la oportunidad para explicar lo que prometimos en la SEGUNDA PARTE de este trabajo (Capítulo Primero, Sección III) en la cual abordamos el tema de la autoaglutinación en la gota gruesa sanguínea: Cuando la sangre autoaglutinada contiene gametocitos de *P. falciparum*, éstos se observarán al examen microscópico tal como lo hemos descrito en las líneas anteriores, pero siendo el fenómeno mucho más marcado; difícilmente se podrá encontrar una forma sexual en completa posición horizontal, aún en las regiones periféricas de la preparación. La figura 21 presenta un campo microscópico de sangre autoaglutinada en donde se constatan perfectamente las proyecciones redondas u ovoides de los gametocitos.

Sea que el gametocito tome propiamente la forma redonda u ovoide, o que se proyecte bajo el lente microscópico en posición vertical, sería de importancia investigar si la autoaglutinación sanguínea (que como sabemos puede tener lugar *in vivo*) altera sus propiedades vitales impidiendo su ulterior desarrollo en el estómago del mosquito.

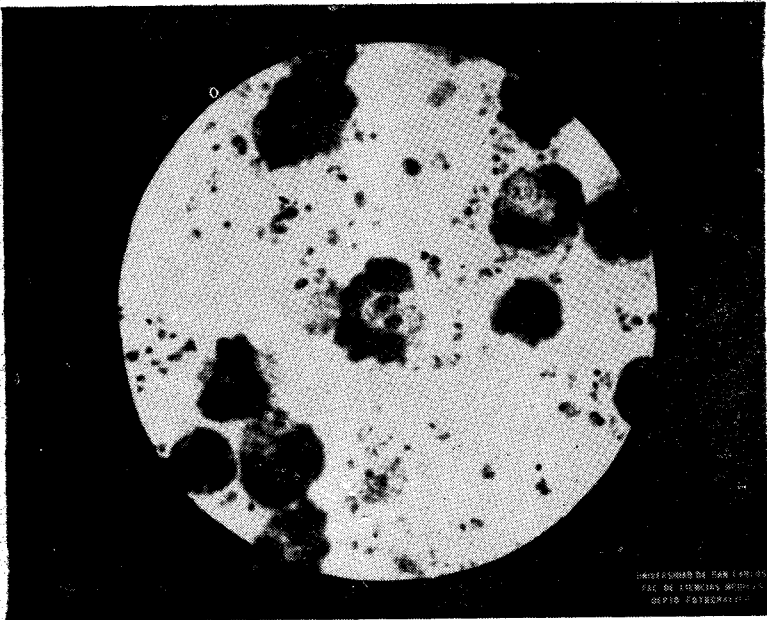


Fig. 19.—Región central de la figura anterior ampliada al máximo, observándose la fagocitosis de los dos plasmodios más detalladamente. Lo mismo sucede con las formas en anillo. Observéense los monocitos que han englobado pigmento palúdico —leucocitos pigmentófagos—. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

VII

PLASMODIUM OVALE

(Stephens, 1922)

Hasta la fecha este plasmodio no ha podido ser puesto en evidencia en nuestro país, pero de sospecharse su presencia en el frote, deberá ser sometido a otras pruebas y estudios, fuera de la simple constatación de los detalles morfológicos que puede ofrecer ese método. Entre estas pruebas y estudios estarían: la infección del mosquito con la sangre parasitada; la transmisión palúdica por la vía natural (mosquito-hombre); la transmisión palúdica por la vía artificial (inyección al hombre de sangre infectada); cultivo; patogenia; etc. La inmutabilidad de sus características biológicas y morfológicas a través de estos procesos derivaría hacia una indiscutible confirmación de la existencia de este plasmodio en Guatemala. Posteriormente, y después de que se familiarizaran con los frotos positivos inicialmente obtenidos, laboratoristas bastante bien calificados en microscopía malárica podrían identificar el *P. ovale* en frotos óptimamente logrados.

Debido, entre otras razones, a que este parásito goza de varias características pertenecientes unas al *P. vivax* y otras al *P. malariae*, es que la mayoría de los autores e investigadores serios están totalmente de acuerdo en que es imposible identificar esta especie en la gota gruesa sanguínea.

Esta razón, más nuestra falta de experiencia al respecto, nos exime de estudiar este plasmodio tal como lo hemos hecho con los anteriores, concretándonos a remitir al lector a los libros de malariología y patología tropical, en donde se encuentran detallados los datos pertinentes. Sin embargo, para que esta laguna no fuera total, lo hemos colocado en el CUADRO DIAGNOSTICO PARA LOS DIVERSOS PLASMODIOS.

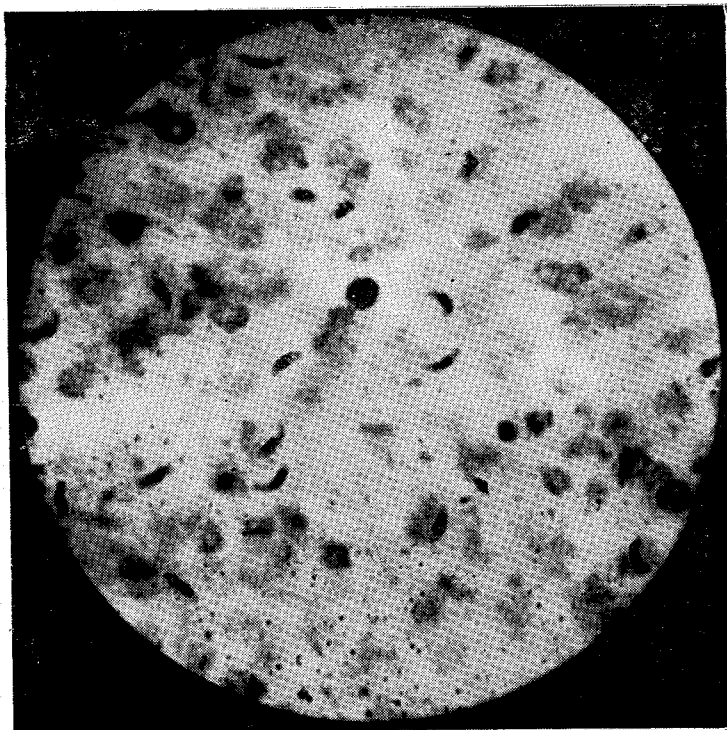


Fig. 20.—Gametocitos de PLASMODIUM FALCIPARUM. Demás leyendas en el texto. (Fotomicrografía original).

VIII

INFECCIONES MIXTAS

Se debe tener presente la posibilidad de infecciones mixtas siempre que se examinen gotas gruesas sanguíneas. Muchos microscopistas suspenden el examen al encontrar los primeros parásitos que caracterizan a una especie dada e informan de inmediato sobre estos hallazgos. Esta conducta no es nada recomendable; hay que continuar con el examen de la muestra encontrada positiva, para lograr poner en evidencia una probable infección mixta o, como sucede en la mayoría de los casos, descartarla. Y es que, cuando existe una infección mixta, una de las dos especies de plasmodio oculta a la otra en mayor o menor grado. Tal sucede con el *P. falciparum* cuando parasita, conjuntamente con el *P. vivax* o el *P. malariae*, los glóbulos rojos del hombre. Debido a su abundante y rápida multiplicación, logra sobresalir en los diversos campos microscópicos haciéndose fácilmente observable al ojo del microscopista quien, si no insiste un poco más en el examen, pasará por alto la infección mixta.

La infección conjunta del *P. falciparum* y del *P. vivax* es la más frecuente, pudiendo existir todas las combinaciones posibles entre las cuatro especies de plasmodios humanos, habiéndose dado casos de infecciones triples en zonas hiperendémicas.

En más de una ocasión, el que examina una gota gruesa de control (para constatar el curso de la parasitemia de acuerdo al tratamiento indicado) se sorprenderá con el hallazgo de otra especie más de plasmodio, diferente a la diagnosticada en el examen primero verificado en la sangre del paciente. Esto se explica al comprobar que la especie diagnosticada inicialmente ha disminuído en su parasitemia en virtud del tratamiento instituído y que la otra especie, que permanecía en segundo plano debido a su relativa escasez, puede ser ahora fácilmente diagnosticable.

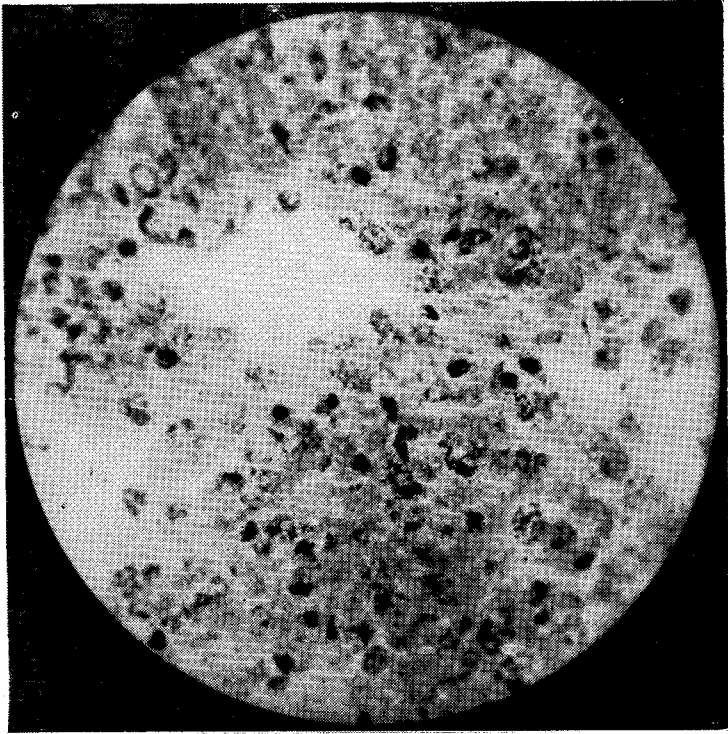


Fig. 21.—Campo microscópico de sangre autoaglutinada en gota gruesa, en donde se constatan perfectamente las proyecciones redondas u ovoides de gametocitos de PLASMODIUM FALCIPARUM.

(Fotomicrografía original).

IX

DETALLES A TOMAR EN CUENTA

1) Las regiones del frote en donde los parásitos se encuentran con mayor frecuencia son: los bordes y la *cola*.

2) El examen de gota gruesa hay que iniciarlo en el borde, en donde los elementos no están muy deformados, teniendo semejanzas marcadas con el frote.

3) El anillo del plasmodio siempre es igual en coloración: citoplasma azul y cromatina roja o rojo rubí.

4) Buscar siempre, y desde un principio, el color rojo de la cromatina.

5) En la región central de la gota gruesa —la de mayor espesor— el parásito se constata más pequeño y deformado que en el borde.

6) Debido a los diferentes planos ópticos de la gota gruesa, el microscopista debe estar continuamente cambiando el enfoque de los campos microscópicos para obtener imágenes bien definidas.

7) Tomar en cuenta que el *P. ovale* no puede ser diagnosticado en gota gruesa sanguínea.

8) En pacientes que no han tenido nunca paludismo o que han vivido fuera de las zonas endémicas el paroxismo puede producirse con parasitemias submicroscópicas; por consiguiente, no basta una gota gruesa en estos casos, sino que se tomarán muestras en días sucesivos hasta un número de tres.

9) De preferencia la muestra debe obtenerse, no momentos antes o durante el paroxismo, sino de una a tres horas después. Momentos antes del paroxismo, la rosetas están prestas a estallar, pero se encuentran más abundantemente en los capilares viscerales que en la circulación periférica; y durante el paroxismo, los merozoítos se encuentran libres en la sangre, tratando de parasitar los glóbulos rojos, al mismo tiempo que muchos de ellos son fagocitados y la totalidad se enfrenta a factores adversos en el plasma sanguíneo.

CUADRO DIAGNOSTICO PARA LOS DIVERSOS PLASMODIOS

	<u>PLASMODIUM VIVAX</u>	<u>PLASMODIUM MALARIAE</u>	<u>PLASMODIUM FALCIPARUM</u>	<u>PLASMODIUM OVALE</u>
	48 HORAS	72 HORAS	24 a 48 HORAS	48 HORAS
duración de la fase e- ritrocítica.	Aumentado de tamaño y pálido. Granulaciones de Schüffner.	Tamaño normal, a veces un poco más pequeño. No se decolora. Granulaciones de Ziemann rara vez observadas.	Tamaño normal y contornos arrugados para formas asexuadas. No se decolora, al contrario, en ocasiones toma un color bronceado. Granulaciones de Maurer. Infecciones múltiples más frecuentes que en las otras especies.	Aumentado de tamaño, pero no tanto como el parasitado por el P. VIVAX. Pálido. Granulaciones de Schüffner aparecen precozmente y se observan casi en el 100 por ciento de los glóbulos parasitados. Adopta la forma oval o exhibe los bordes desgarrados.
Modificaciones en el eritrocito infectado.	Casi todo el glóbulo.	Todo el glóbulo.	Las dos terceras o a veces las tres cuartas partes.	Más o menos las tres cuartas partes del glóbulo.
Formas observadas en sangre periférica.	Todas las formas.	Todas las formas.	Formas en anillo y gametocitos; en infecciones masivas, graves, se observan trofozoítos desarrollados, esquizontos presegmentados y rosetas.	Todas las formas.
Movilidad del parásito.	Muy activo hasta trofozoíto desarrollado.	Poco activo.	Poco activo.	Poco activo.
Pigmento (hemozoína).	Gránulos de tamaño variable: finos, alargados o aciculares. Color café claro, amarillento o pardo rojizo.	Café oscuro o casi negro, grueso, frecuentemente marginal y opuesto al núcleo.	Negro o negro verdoso, fino, concentrándose precozmente.	Término medio entre las características y cantidades en el P. VIVAX y el P. MALARIAE.
Forma en anillo.	Cromatina única, grande, densa, a veces en el centro o en el borde de la vacuola. Citoplasma grande, en ocasiones finos pseudópodos.	Cromatina única, grande, compacta, a veces del mismo diámetro que el citoplasma que se muestra compacto, con vacuola pequeña que desaparece rápidamente.	Citoplasma fino, cromatina pequeña, sobresaliendo con frecuencia de la periferia del citoplasma, a veces doble. Conjunto pequeño, exquisitamente delineado. En ocasiones forma en "ojo de pollo" incluida dentro de las formas "accolé" o "appliqué" de algunos autores.	Difícil o casi imposible distinguirlo de esta forma del P. VIVAX; pero aún en este estadio las Granulaciones de Schüffner se presentan en un altísimo porcentaje.
Trofozoíto desarrollado	Configuración irregular. Cromatina, citoplasma y vacuola aumentados de tamaño. Marcada actividad pseudopódica. Pigmento francamente discernible, disperso.	Densamente coloreado, regular y compacto por desaparición de la vacuola y escaso movimiento amiboido. Tendencia pronunciada a la "forma en banda".	Conjunto pequeño, regular, compacto. Cromatina relativamente pequeña. Citoplasma sin vacuola y sin pseudópodos. Rara vez se encuentra en sangre periférica.	Muy parecido al del P. MALARIAE; pero recuérdense las granulaciones de Schüffner y el tamaño del glóbulo parasitado.
Esquizonto en segmentación (Presegmentado)	Parásito de contornos regulares por retracción de los pseudópodos. Desaparición de la vacuola. Cromatina y citoplasma en proceso de división. Pigmento abundante, concentrado en uno o dos grupos.	Como en el P. VIVAX: contornos regulares por retracción de pseudópodos; desaparición de la vacuola. Pero más pequeño, llenando todo el glóbulo. A veces el pigmento no ha terminado de agruparse.	Parecido al del P. MALARIAE, pero más pequeño y con el pigmento ya agrupado. Mientras que la cromatina está ya en pleno proceso de fisión binaria, el citoplasma con frecuencia no está ni siquiera en sus inicios de división. Rara vez se encuentra en la sangre periférica.	Parecido al P. MALARIAE, pero aquí es relativamente frecuente encontrar los glóbulos parasitados de forma oval —algunos con bordes desgarrados o "desflecados"— conteniendo al plasmodio de forma redonda y centralmente situado.
Roseta (Esquizonto)	La más grande de las cua-	6 a 12 merozoítos (tér-	6 a 36 merozoítos (co-	Más grande que la del P.

Segmentado)	tro especies. 12 a 24 merozoítos (término medio 16).	mimo medio 8). Simetría exquisita, constituyendo la clásica "FORMA EN MARGARITA". Pigmento casi siempre bien centrado.	frecuentemente 20 a 24) bastante pequeños, observándose únicamente la cromatina de los mismos en la mayoría de los casos. Rara vez se encuentra en la sangre periférica.	MALARIAL, pero como este, con 6 a 12 merozoítos (8 por término medio) simétricamente colocados.
Macrogametocito.	Más grande que el microgametocito. Redondo u ovoide. Cromatina marginal, pequeña, compacta, roja oscura. Citoplasma sin vacuola, homogéneo, azul oscuro. Pigmento café oscuro, disperso.	Análogas características que el del P. VIVAX, pero más pequeño y con el pigmento más grueso, café oscuro o negro. Llena por completo el glóbulo rojo.	Más grande que el microgametocito. En forma de media luna o en hoz. Citoplasma denso, azul oscuro, sin vacuola. Cromatina en masa pequeña, central. Pigmento rodeándola u ocultándola.	Difícil de diferenciar de la misma forma que la del P. VIVAX.
Microgametocito.	Más frecuentemente redondo que ovoide. Cromatina central, difusa, rosada. Citoplasma también sin vacuola, de coloración más suave: azul claro, rosado pálido y a veces incoloro.	Análogas características que el del P. VIVAX, pero siempre más pequeño; con las diferencias en el pigmento y llenando por completo el glóbulo rojo.	Más rechoncho que el macrogametocito. En forma de salchicha o de riñón. Citoplasma mucho más pálido, a veces rosado, y también sin vacuola. Cromatina difusa, frecuentemente dispersa en gránulos; pigmento también disperso.	Difícil de diferenciar de la misma forma que la del P. VIVAX.
Observaciones.	La especie más difundida en Guatemala; y la que mayor diversidad de formas evolutivas exhibe en el frote y gota gruesa.	De las tres especies constatadas hasta ahora en Guatemala, es la menos abundante. También exhibe diversas formas evolutivas en el frote y gota gruesa.	En orden de frecuencia es la segunda especie en Guatemala. Con respecto a epidemología ocupa el primer lugar.	El menos común de los plasmodios humanos. No se ha constatado su existencia en Guatemala. Imposible su diagnóstico en gota gruesa sanguínea.

X

MANERA DE INFORMAR Y CONTEO
DE PARASITOS

Al constatar que una gota gruesa sanguínea es positiva de hematozoario, no basta con identificar la especie encontrada e informar sobre la misma, sino que para una mejor comprensión del cuadro clínico, es necesario rendirle al médico tratante —cuando no es él, desde luego, quien verifica personalmente el examen— todos los datos inherentes al plasmodio, así como los hallazgos hematológicos anormales que pueden presentarse conjuntamente.

Además de la especie, como decíamos, hay que informar sobre el número de parásitos, ya sea a *grosso modo*, como es el caso corriente (por medio de cruces), o haciendo el conteo de los mismos (número de parásitos por milímetro cúbico), dato que en ocasiones es de suma necesidad para orientar la conducta terapéutica a seguir.

Para informar sobre el número de parásitos por medio de cruces —que es lo más usual— seguimos la siguiente pauta: 1) Cuando en el examen encontramos un plasmodio en uno que otro campo microscópico, el número es calificado como una cruz (+). 2) Si en cada campo se presentan de 1 a 10, el número de cruces es de dos (++) . 3) Si de 10 a 50 por campo, rotulamos el número por medio de tres cruces (+++). Y 4) Si pasan de 50, la muestra es clasificada como de cuatro cruces (++++). Desde luego que pueden presentarse posibilidades de que al informar sobre (++++) no estemos exponiendo toda la situación del caso, que puede ser bastante grave. Es entonces cuando —si no podemos o no sabemos hacer el conteo cubomilimétrico de parásitos— redactamos una nota al pie del informe, más o menos en esta forma: "NOTA.—La infección es masiva." De esta manera el médico, al ordenar el control al día siguiente, no se extrañará de que, con el tratamiento instituido, el número de parásitos siga siendo de (++++), a pesar de que hayan disminuído ostensiblemente, pero sin rebasar el límite mínimo para seguir

siendo catalogado como tal. En este caso, otra nota indicando tal disminución —a pesar de la persistencia de (++++)— es siempre muy útil para el médico tratante.

Los conteos de parásitos pueden hacerse, como en el caso de los eosinófilos, por métodos directos o por métodos indirectos. Los primeros escapan a la índole de este trabajo porque entran en juego otros elementos que los hacen poco útiles en la práctica diaria. Los segundos casi siempre son de la competencia del laboratorista o del médico general que sepa utilizar las pipetas de dilución para el conteo de elementos figurados de la sangre, y la cámara cuenta-glóbulos respectiva. Están basados en el conteo simultáneo de parásitos y de glóbulos blancos o de glóbulos rojos, hasta un número dado, para después hacer la proporción con el número de glóbulos por milímetro cúbico y obtener así el dato que se busca.

El conteo cubomilimétrico de plasmodios empleando el método indirecto con los glóbulos rojos, aunque bastante exacto, no lo tomaremos en cuenta, puesto que para contar los glóbulos —tanto parasitados como no parasitados— hay que invertir mucho tiempo y es indispensable el empleo del frote. Esto no sucede con el conteo indirecto empleando los glóbulos blancos ya que estos elementos figurados pueden ser contados en la gota gruesa sanguínea en un número mayor en tiempo menor.

El mismo proceso llevado a cabo para el conteo cubomilimétrico de eosinófilos y que expusimos en su oportunidad, es el que empleamos corrientemente para el conteo de plasmodios: 1) Se cuentan 500, 600 o 1,000 glóbulos blancos. 2) Se lleva, al mismo tiempo, la cuenta de los plasmodios que se encontraron en los diversos campos microscópicos utilizados para contar los glóbulos blancos. Y 3) Con la pipeta de dilución y la cámara cuenta-glóbulos, se hace la cuenta de glóbulos blancos por milímetro cúbico.

Con estos tres datos, procédase al cálculo correspondiente.

Fórmula:

$$X = \frac{\text{Núm. de parásitos} \times \text{glób. blancos por mm}^3}{\text{Núm. de glób. blancos contados}}$$

Aplicación:

Suponiendo que en los diversos campos microscópicos recorridos se contaron 1,000 glóbulos blancos, que simultáneamente se contaron 3,000 plasmodios y que el número de glóbulos blancos por milímetro cúbico resultó ser de 9,000, tendríamos:

$$\frac{3000 \times 9000}{1000} = 27000 \text{ parásitos por mm}^3$$

Una vez establecida la especie y contemplado el número de parásitos, hay que dirigir la investigación sobre la sexualidad o asexualidad de los mismos; dato de importancia ya que, como sabemos, el no tratamiento de formas sexuadas hace posible la persistencia de lo que hemos dado en llamar el *paludismo social*.

Inmediatamente después de ello, se entra a calificar la edad o las distintas edades del parásito presentes en la muestra positiva que se examina. Para facilitar la comprensión de este dato, hemos creído conveniente dividir las distintas edades en cuatro grupos: 1) Anillos. 2) Esquizontos Jóvenes. (a) 3) Esquizontos Presegmentados. Y 4) Esquizontos Segmentados o Rosetas. El número de parásitos de cada uno de estos grupos puede también ser informado por medio del sistema de cruces anteriormente descrito.

No está de más hacer ver que el control de la parasitemia debe verificarse diariamente si el caso es grave (en ocasiones hasta dos veces al día) o en días alternos cuando el caso es corriente.

Con esta manera de proceder nos evitaremos sorpresas desagradables y en más de una ocasión con resultados fatales. Y es que sucede que a veces el antipalúdico administrado no está produciendo los efectos benéficos esperados debido a que la cepa de plasmodio que se está comba-

(a) Hacemos la aclaración de que en el grupo de Esquizontos Jóvenes incluimos todos los trofozoítos comprendidos entre las formas en anillos y los Esquizontos Presegmentados. Esta conducta la hemos seguido en aras de una mayor claridad al redactar los informes. Así es que serán Esquizontos Jóvenes todos los parásitos asexuados que, habiendo perdido la forma en anillo y teniendo sus contornos irregulares por la emisión de pseudópodos, no han iniciado todavía la división nuclear.

tiendo es resistente a dicho medicamento. Entonces, si el médico no ordena los exámenes de control con la frecuencia arriba expuesta, no podrá darse cuenta de que la parasitemia va en aumento progresivo y, por consiguiente interpretará la persistencia y empeoramiento del cuadro clínico como debido a otra causa y no al paludismo. Las consecuencias, como se comprende, no son nada halagadoras.

Con los exámenes de control el médico tratante estaría en condiciones óptimas para adaptar su terapéutica a una nueva situación que el microscopio ha ayudado a descubrir.

Y Y

XI

TRASTORNOS HEMATOLOGICOS OBSERVABLES EN LA GOTA GRUESA POSITIVA DE PLASMODIO

La mayoría de las veces la gota gruesa sanguínea positiva de plasmodio nos ofrece otros datos de interés que pueden ser constatados ya sea en los glóbulos rojos o en los leucocitos.

Circunscribiéndonos a los primeros, podemos decir que éstos son destruidos, no sólo por el estallido de las rosetas, sino que también por: 1) La acción fagocítica de los leucocitos al englobar los eritrocitos parasitados o no. 2) La existencia de hemolisinas (como es el caso en la fiebre de aguas negras). Y 3) Otros factores (toxina parasitaria (?) entre ellos) que no han podido ser puestos en evidencia plena todavía.

La anemia así producida es secundaria en mayor o menor grado, dependiendo de varios factores, entre los cuales se coloca en primer lugar la densidad parasitaria, siguiéndole en segundo término la tendencia que exhiben dos de los plasmodios humanos (*P. falciparum* y *P. vivax*, en orden de importancia) para invadir los reticulocitos, tal y como lo explicamos en su debida oportunidad (Sección IV de este mismo capítulo).

A pesar de ser hipocrómica la más de las veces, esta anemia puede, en el paludismo crónico o en las recaídas, tener semejanzas con la anemia perniciosa³¹ y aun ser francamente megaloblástica.

La reticulocitosis se establece desde muy temprano, aumentando conforme avanza la parasitemia.

Este cuadro eritropénico y reticulocítico se completa frecuentemente con cambios en la forma y tamaño de los glóbulos; con policromatofilia, punteado basófilo y, en ocasiones, con células rojas nucleadas.

Recuérdese que la *policromasia* y el *punteado basófilo* son dos trastornos de la serie roja que pueden ser estudia-

dos en la gota gruesa sanguínea; estudios que hicimos en detalle en la Sección II, Capítulo Tercero de la SEGUNDA PARTE de este trabajo. Con respecto a la primera recalamos en dicha sección que: "Siendo la *policromasia* signo indiscutible e inequívoco de la persistencia de la función eritropoyética, su ausencia o presencia adquiere en clínica un alto valor diagnóstico y pronóstico, ya que la *policromasia* corre pareja con la intensidad de producción de glóbulos rojos por parte de la médula ósea."

A veces la oligocitosis puede ser tan marcada que los glóbulos rojos descienden del millón, habiendo nosotros constatado un caso que llegó a 650,000 por milímetro cúbico.

Con respecto a los leucocitos podemos decir que se mantienen debajo de los conteos normales con las excepciones siguientes: 1) En el paludismo agudo, cuando el cuadro clínico se inicia. 2) Durante el paroxismo. 3) En las complicaciones y enfermedades intercurrentes leucogénicas (apendicitis y peritonitis agudas, pneumonías, etc.). Y 4) En las infecciones masivas con cuadros clínicos perniciosos, en los cuales el organismo hecha mano de sus reservas leucocíticas enviándolas a la circulación no importando si pertenecen a la serie linfocítica, monocítica o neutrofílica (Véanse *figuras* 17 y 18).

Además de estas alteraciones cuantitativas, en la gota gruesa sanguínea se pueden constatar alteraciones cualitativas, tales como la neutrofilia acompañada de células jóvenes (cayados, metamielocitos, etc.) con franca desviación nuclear hacia la izquierda,^(a) en los inicios de la infección y durante el paroxismo, para descender debajo de lo normal cuando el cuadro palúdico se ha instalado por completo o en los intervalos apiréticos entre uno y otro paroxismo. Es entonces que, junto a la leucopenia, aparece la monocitosis que puede llegar a ser bastante ostensible.

Autores hay que pretenden hacer el diagnóstico del paludismo aunando el cuadro leucopénico (acompañado de monocitosis y linfocitosis relativa) con la policromasia y el punteado basófilo. Esta manera de proceder no deja de

(a) Esta desviación es susceptible de ser medida por un índice (relación entre los neutrófilos jóvenes y los polimorfonucleados). Normalmente es de 1/16, aproximadamente.

ser aleatoria, pues además de que estos datos pueden ser ofrecidos por otras entidades mórbidas, el diagnóstico positivo no se obtiene más que demostrando el plasmodio en la sangre del enfermo.

Quando el médico no tiene en mente la infección palúdica puede, basado únicamente en el examen clínico, los conteos globulares y la fórmula leucocitaria porcentual, instituir una terapéutica totalmente desviada, haciéndole perder al enfermo horas que le pueden ser decisivas para salvar la vida.

En varias oportunidades constatamos casos con impresiones diagnósticas (diagnósticos de admisión hospitalaria) rotuladas, ya como apendicitis agudas (conteo leucocitario alto con neutrofilia, más el cuadro clínico simulador de la misma), ya como fiebre tifoidea (leucopenia con linfocitosis relativa, más el cuadro estuporoso correspondiente), etc., que más tarde, a veces hasta el día siguiente, al verificar el examen de gota gruesa respectivo, el hallazgo del plasmodio no nos sorprendía.

En suma, lo acabado de relatar nos hace derivar hacia la siguiente afirmación: Ningún dato o conjunto de datos hematológicos pueden por sí solos afirmar o negar la presencia de la infección palúdica, la cual —no nos cansaremos de repetir— se pone en evidencia únicamente por medio de la comprobación directa del plasmodio al examen microscópico.

El hallazgo de pigmento palúdico en los elementos figurados de la sangre sirvió por mucho tiempo para hacer el diagnóstico —aunque de manera indirecta pero bastante aceptable— de dicha infección. Desde luego que con el descubrimiento de Laveran la importancia diagnóstica de dicho pigmento ha sido relegada a segundo término ya que, siempre que se constata en las preparaciones sanguíneas, el plasmodio se encuentra indefectiblemente en la gota gruesa.

Ya Lancisi (1716) y Bright (1831) habían sido atraídos por la coloración oscura de ciertas vísceras como el hígado, el cerebro y el bazo en las fiebres intermitentes. pero no fue sino hasta más tarde —Meckel en 1847— que se observaron los gránulos de pigmento en la sangre y el bazo de un demente que había muerto de paludismo.

Desde entonces a la fecha se han hecho numerosas investigaciones a este respecto, suscitándose al principio

cierta confusión que poco a poco ha ido desapareciendo conforme los estudios se han ahondado más y más.

Al principio era tal la confusión que la mayoría de los autores consideraban que el pigmento palúdico era melamina, pero los estudios de Brown condujeron a la plena certeza de que ambas substancias son completamente diferentes; de ahí que no debemos insistir en seguir denominando leucocitos melaníferos a los glóbulos blancos que contienen gránulos de pigmento; de ser necesario rotularlos, es preferible llamarlos *leucocitos pigmentófagos* como ya lo hacen algunos investigadores.

No hay que confundir la *hemozoína*^(b) que es el pigmento palúdico propiamente dicho puesto que se encuentra únicamente en las infecciones producidas por los plasmodios, con la *hemosiderina* que se constata en varias afecciones incluyendo al paludismo. La primera deriva básicamente de la hemoglobina eritrocitaria, produciéndose como deshecho bajo la influencia del parásito. La segunda, derivada también de la hemoglobina —y aún de la misma hemozoína— se encuentra en los histiocitos.

En la gota gruesa sanguínea óptimamente lograda, se pueden constatar los gránulos de hemozoína ya sean libres o intracelularmente. De preferencia se encuentran en las etapas finales del paroxismo, sobre todo en los casos de infecciones masivas o de accesos perniciosos. Es entonces que el poder fagocítico no sólo aumenta en los monocitos, sino que se extiende ampliamente a todos los glóbulos blancos, inclusive las formas jóvenes de la serie neutrófila.

En las figuras 17 y 18 se pueden observar, además de otros elementos anormales (*P. falciparum*, punteado basófilo, etc.) explicados oportunamente, abundantes granulaciones libres e intracelulares, sobre todo dentro de los monocitos. En la figura 19, que es la parte central de la figura 18 bastante ampliada, se constatan más detalladamente las granulaciones libres y las que están dentro de varios monocitos. En la región central de la misma se observa un monocito que ha englobado dos esquizontos jóvenes de *P. falciparum*; y dispersas por toda la extensión del campo microscópico se ven abundantes formas en anillo de ese mismo plasmodio.

(b) Actualmente se considera dicho pigmento como ácido ferrihémico o hematina libre.

XII

CAUSAS DE ERRORES Y CONFUSIONES

Ambos —errores y confusiones— pueden evitarse en altísimo porcentaje si se cumple con todas las indicaciones expuestas en las páginas anteriores. Fuera de ello, no basta la simple experiencia para salvar dichas dificultades; es necesario que el que examine una muestra esté dotado de honestidad, escrupulosidad y conciencia, en una palabra, que tenga la responsabilidad suficiente para darse cuenta de que el informe que rinda será decisivo en la conducta a seguir para el tratamiento del paciente.

Los errores pueden originarse en diversas fuentes: preparación del colorante, del agua destilada, proporción en que se mezclan los mismos, tiempo de coloración, etc.

En las coloraciones en serie existe la posibilidad de incurrir en un error que puede echar por tierra todo el trabajo verificado: cuando una de las gotas gruesas ha sido tomada en una lámina sucia, grasienta, fácilmente puede desprenderse en su totalidad o en parte, en ocasión en que el paquete que la contiene esté en los procesos de coloración o de lavado. Al desprenderse se divide en múltiples fragmentos, los cuales se adhieren a las preparaciones vecinas; y si la muestra desprendida es positiva de hematozoario, comprenderemos los múltiples errores que se cometerán, al informar como positivas las gotas gruesas a las cuales se les adhirió uno de los fragmentos que contenía parásitos.

El Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General de esta ciudad tuvo un caso de error atribuido a la causa antes apuntada: En un paquete de 25 láminas coloreadas en serie, hubo un conjunto de positivas de *P. falciparum* que se inició con una preparación de (++) ++), la siguiente de (+++), la subsiguiente de (++), la inmediata de (+), y 3 más de (+). Estos resultados los consideramos como dudosos, puesto que de 25 preparaciones, 7 eran positivas de la misma especie de plasmodio, con una parasitemia gradualmente decreciente y lo que era más

llamativo, las positivas estaban colocadas en orden sucesivo. Pero lo que nos decidió, de una vez por todas, a colorear las gotas gruesas duplicadas (recuérdese que el departamento antes mencionado siempre toma dos de cada paciente) fue el haber encontrado la primera de las preparaciones positivas parcialmente desprendida. Verificado el examen microscópico de la serie duplicada, se pudo constatar que solamente la primera era la positiva, siendo negativas las demás.

En la *figura 22* se observa una gota gruesa tomada en el extremo de un porta-objeto que fué intencionalmente "engrasado" al pasar varias veces el dedo pulgar por su superficie. La preparación se desprendió parcialmente, sin fragmentarse, doblándose sobre sí misma e inutilizándose completamente, para el examen microscópico, la sección así engrosada.

En la mayoría de los casos el simple examen macroscópico de la gota gruesa coloreada nos puede inducir a descartarla o aceptarla para el examen microscópico respectivo, pues como lo expresamos en ocasión en que tratamos sobre la **COLORACION DE LA GOTA GRUESA**: "La gota gruesa bien coloreada tomará un color azul-violáceo que con el secado a 37°C se tornará en franco y hermoso azul que recuerda algo el de Prusia. Colores débiles, indefinidos, amarillo-verdosos o coloraciones aparentemente normales en el centro pero con aureolas de diferentes matices (rosadas la mayoría de las veces) serán descartadas desde ese mismo instante, para ahorrar el examen microscópico, ya que estas láminas adolecen de graves defectos en la coloración, sean éstos debidos a descuidos en la preparación de la solución madre o a fallas groseras en el pH del agua empleada."

Las confusiones pueden producirse mucho más frecuentemente, sobre todo para el microscopista principiante, teniendo múltiples orígenes, los cuales podemos dividir en dos grupos bien definidos: externo e interno.

Entre los primeros están: las bacterias y los cocos, que pueden provenir del pulpejo del dedo cuya antisepsia se ha verificado deficientemente, o de las mismas manos del laboratorista; los hongos, que pueden originarse en la misma utilería mal lavada, o en el agua destilada que no se renueva con la frecuencia debida; los pólenes, esporas y partículas de polvo, existentes en el aire, sobre todo en campo abierto, en ocasión de verificar encuestas parasita-



Fig. 22.—Desprendimiento parcial de una gota gruesa sanguínea tomada en el extremo de un porta-objeto que fué intencionalmente "engrasado" al pasar varias veces el dedo pulgar por su superficie. (Fotografía original).

rias; los excrementos de insectos (moscas, cucarachas, etc.) cuando las muestras permanecen sin protección, de un día para otro; las hilachas, desprendidas de un lienzo inapropiado para secar las láminas, o del algodón empleado para la antisepsia, cuando no ha sido cortado tal como lo explicamos en su oportunidad; las láminas rayadas o empañadas por el continuo uso; pequeñas burbujas de aire que pueden producirse cuando se aplica el aceite de cedro; y en fin, otros más de menor importancia.

Entre los del segundo grupo podemos considerar como los más importantes, los siguientes: 1) Los gránulos de un eosinófilo estallado por el batido o desfibración, que pueden ser considerados a primera vista como puntos cromáticos, pero que un examen atento hará descartar dicha impresión inicial, ya que el color de dichos gránulos nunca es el clásico rojo-rubí o rojo-violáceo de la cromatina nuclear parasitaria; fuera de ello, siempre se encontrarán dichos gránulos en una sola área de la preparación, nunca en toda la extensión de la misma; 2) Las plaquetas, sobre todo si se encuentran en unidades aisladas y no en "bancos", máxime si están colocadas arriba o abajo de un glóbulo rojo, cuando se está examinando el borde de la gota gruesa; 3) Cuando, transcurrido algún tiempo después que una sangre ha sido oxalatada, se toma de ella una gota gruesa, las plaquetas "pueden formar procesos filamentosos o en forma de espinas. Las preparaciones coloreadas de tal sangre pueden exhibir plaquetas que semejan flagelados, tripanosomas o piroplasmas."¹³ y 4) Restos nucleares de elementos figurados de la sangre pueden simular cromatinas parasitarias, sobre todo si están situados como en el caso descrito en el punto 2.

De todos modos, en tratándose de artefactos o elementos que aparentan estar dentro del glóbulo rojo, un cuidadoso enfoque del plano óptico nos convencerá de que se encuentra arriba o abajo del mismo.

Y como regla general, no deberá aceptarse como parásito ningún cuerpo que suscite dudas al respecto.

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Russel, Paul F., West, Luther S. and Manwell, Reginald D.: Practical Malariology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, 1946, p. 29.
 - 1a. Id. p. 33
 - 1b. Id. p. 42
- 2.—Shortt, H. E., Fairley, H., Covell, G., Shute, P. C. and Garnham, P. C.: The Pre-Erythrocytic Stage of Plasmodium Falciparum. Reimpreso de The Royal Society of Tropical Med. and Hyg., Vol. 44, No. 4, February, 1951.
- 3.—Boyd, M. F.: Malariology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, 1949, Vol. 1, p. 59.
- 4.—"Bayer": Diagnóstico Microscópico en Medicina Tropical. Publicado por la Sección Científica de la Casa Bayer, Leverkusen, Alemania, ps. 19 y 20.
 - 4a. Id. p. 19
- 5.—Wilcox, Aimee: Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. National Institute of Health Bulletin No. 180, United States Government Printing Office, 1943, p. 4.
 - 5a. Id. ps. 4 y 5
 - 5b. Id. p. 29
 - 5c. Id. p. 12
- 6.—Bispham, William N.: Malaria: Its Diagnosis, Treatment and Prophylaxis. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1944, p. 20.
 - 6a. Id. p. 21
 - 6b. Id. p. 23

- 7.—Craig, C. F. y Faust, E. C.: Parasitología Clínica. Unión Tipográfica. Editorial Hispano Americana, México, 1951, p. 197.
- 7a. Id. p. 203
- 7b. Id. p. 206
- 7c. Id. p. 207
- 7d. Id. p. 208
- 8.—Schaudinn, F.: Arb. K. Gesundheitsamte, 19:169, 1902. Citado por Bispham, William M.: Malaria: Its Diagnosis, Treatment and Prophylaxis. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1944, p. 22.
- 9.—Hingst, H. E.: Amer. J. Trop. Med. 16:679-684, 1936. Citado por Russel, Paul F., West, Luther S. and Manwell, Reginald D.: Practical Malariology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, 1946, p. 43.
- 10.—Jacobsthal, E.: Los Reticulocitos en la Infección Palúdica. Memoria del IV Congreso Médico Centroamericano. Guatemala, C. A. Febrero de 1938, p. 505.
- 10a. p. 511
- 11.—Joyeux, Ch.: Precis de Médecine Coloniale. Masson et Cie., Editeurs, Troisième Edition, Paris, 1944, p. 666.
- 12.—Chaudhuri, R. N. y Chacravarty, N. K.: Comunicación publicada en el Indian Journal of Malariology, 2:115, 1948 y comentado en la revista Notas Terapéuticas, Parke, Davis y Cia., Detroit, E. U. A.
- 13.—Wintrobe, Maxwell M.: Clinical Hematology, Second Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1947, p. 187.

CAPITULO TERCERO

LAS FILARIAS

Las filarias más importantes que infectan al hombre son:

- 1) *Wuchereria bancrofti* o Filaria bancrofti.
- 2) *Loa loa* o Filaria loa.
- 3) *Wuchereria Malayi* o Filaria malayi.
- 4) *Dipetalonema ozzardi* con los sinónimos: Filaria ozzardi y Mansonella ozzardi.
- 5) *Dipetalonema perstans* conocida también como Acanthocheilonema perstans.
- 6) *Dracunculus medinensis* con su sinónimo: Filaria medinensis. Y
- 7) *Onchocerca volvulus* igualmente conocida bajo la denominación de Onchocerca caecutiens.

Son nemátodos que en estado adulto viven, ya sea en el sistema linfático, sistema circulatorio, cavidades serosas o en el tejido conectivo. Los dos sexos están altamente diferenciados y son ovovivíparas. Al mismo tiempo que las hembras van poniendo los huevos, los embriones se van estirando y convirtiéndose en organismos "culebroides" conocidos bajo el nombre de *microfilarias*. Estas pueden abandonar o no abandonar la cápsula ovular, denominándose entonces microfilarias "no envainadas" o "envainadas" respectivamente. Este detalle es de importancia para el cuadro diagnóstico como tendremos oportunidad de comprobar dentro de un momento.

Todas estas clases de microfilarias, a excepción de la perteneciente a la *Dracunculus medinensis* (cuyo huésped intermediario es un crustáceo), son ingeridas por insectos hematófagos en cuyo interior sufren determinado número de transformaciones hasta que, ya completamente madu-

ras, pasan de la cavidad hemocélica al *labium* y de ahí a la piel del hombre, cuando de nuevo el insecto logra conseguir su alimentación sanguínea.

Fuera de las microfilarias de la *Dracunculus medinensis* y de la *Onchocerca volvulus* las otras cinco se encuentran en la sangre periférica; de ahí que descartemos a las primeras en relación a la utilidad diagnóstica que puede prestar el método en estudio y hagamos resaltar la importancia que tiene la gota gruesa sanguínea para la búsqueda de las segundas.

Para todos los numerosos aspectos que pueden presentarse en la investigación y el estudio de las filarias que parasitan al hombre, remitimos al lector a las obras de parasitología y patología tropical.

Aunque no han sido, al parecer, puestas en evidencia en Guatemala, no por eso dejan de tener importancia para nosotros, pues no hay razón para que no existan en nuestro suelo (tan abundante en insectos transmisores de estos nemátodos) cuando en otros países de América, desde Argentina hasta el sur de los Estados Unidos de Norte América (incluyendo las Antillas), se han puesto en evidencia plena algunas de ellas. Es posible que generalizando y rutinizando la gota gruesa sanguínea en la búsqueda del plasmodio, logremos en un futuro cercano hacer el hallazgo, siempre que las tengamos en mente al verificar el examen, o cuando el médico tratante frente a un cuadro clínico que le haga pensar en filariasis, ordene el examen o los exámenes correspondientes para confirmar o negar su impresión diagnóstica.

He aquí un cuadro que resume las características sobresalientes de las microfilarias susceptibles de ser investigadas en sangre periférica:

ESPECIE	MICROFILARIAS	HUESPED INTERMEDIARIO	PATOLOGIA
Wuchereria bancrofti	Curvas gráciles y amplias. Nocturna en circulación periférica. Envainada. Cola casi siempre recta, puntiaguda, sin núcleo terminal. Hasta 300 x 7.5 micras.	Culex, Anopheles y Aedes.	Elefantiasis del escroto, de las extremidades, etc.
Loa loa	Aspecto rígido con curvas angulosas. Diurna en circulación periférica. Envainada. Cola se adelgaza gradualmente, con núcleos que se continúan insensiblemente con los del tronco. 250 x 7 micras.	Moscas del género Chrysops.	Tumefacciones fugaces. "Nódulos de Calabar."
Wuchereria malayi	Aspecto semejante a Loa loa. Nocturna en circulación periférica. Envainada. Cola puntiaguda con dos núcleos terminales. 200 x 5 micras.	Anopheles, Mansonioídes.	Limitada la mayoría de las veces a los linfáticos de las extremidades superiores.
Dipetalonema ozzardi	Diurna y nocturna en circulación periférica. No envainada. Cola puntiaguda y sin núcleo terminal. 200 x 5 micras.	Culicoides y Aedes.	Los autores no están de acuerdo sobre si es patógena o no.
Dipetalonema perstans	Mayor movilidad que las anteriores. Diurna y nocturna en circulación periférica. No envainada. Cola roma, casi truncada. 200 x 5 micras.	Culicoides	Los autores no se han puesto de acuerdo sobre la patogenia.

En ocasión en que el Profesor Henry Gaillard, titular de la cátedra de Parasitología en la Facultad de Medicina de París, dictó una serie de pláticas en nuestra facultad, tuvo a bien proporcionar dos gotas gruesas positivas de *Wuchereria bancrofti*, tomadas en la Indochina Francesa, obteniéndose de ellas las fotomicrografías exhibidas en las figuras 23, 24 y 25.

En la primera se constata una sola microfilaria (objetivo de inmersión, 1,020 aumentos); en la segunda se observan dos microfilarias y parte de otra (objetivo en seco, 480 aumentos); y en la tercera se logran contar 14 microfilarias (objetivo en seco, 84 aumentos).

Desde luego que la búsqueda de cualquiera de las especies de estos nemátodos se facilitará si empleamos el objetivo en seco de menor aumento, puesto que entonces cada campo microscópico abarcará una mayor extensión de la gota gruesa. El objetivo de inmersión se empleará en el estudio detallado de la microfilaria encontrada; y en ocasiones, utilizando este objetivo se puede, sorpresivamente, constatar la presencia de microfilarias en gotas gruesas sanguíneas en las cuales se están investigando rutinariamente los plasmodios.

El campo microscópico de la figura 26 representa una infección mixta: a la izquierda, una microfilaria de *Loa loa*, en la cual se observa muy claramente la vaina; a la derecha, una microfilaria de *Dipetalonema perstans*, de longitud y grosor mucho menores.

La figura 27 nos muestra los extremos caudales de microfilarias *Loa loa* y *Wuchereria bancrofti*. Obsérvese la manera de terminar de ambas colas y como, en la segunda, no existe núcleo terminal.

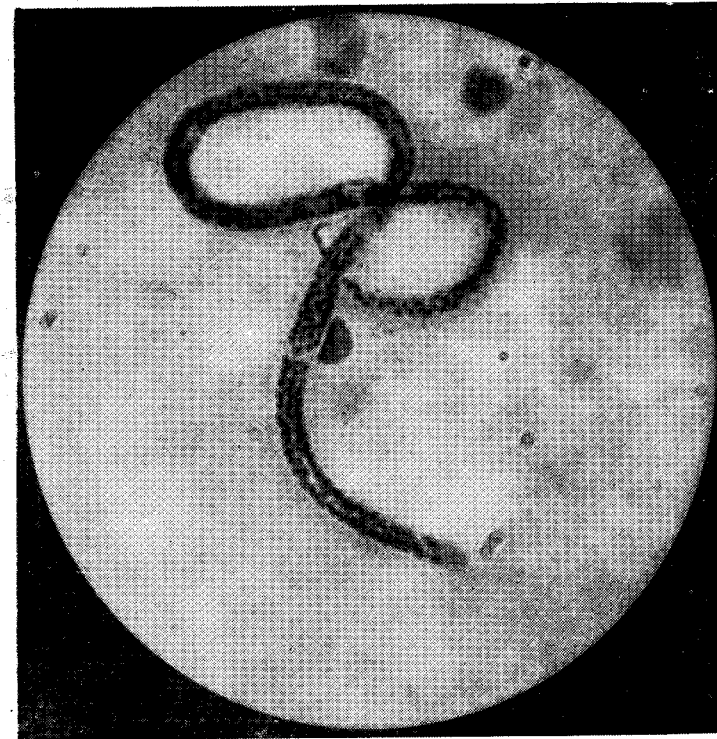


Fig. 23.—*WUCHERERIA BANCROFTI* en gota gruesa sanguínea proporcionada por el Prof. Henry Gaillard. Muestra procedente de Indochina. Objetivo de inmersión.

(Fotomicrografía original $\times 1020$).

CAPITULO CUARTO

LOS TRIPANOSOMAS

Son protozoarios que pertenecen a la clase Mastigophora, conocida también como Flagellata porque abarca todos los organismos compuestos de una sola célula que se mueven por medio de flagelos.

Los tripanosomas que parasitan la sangre y los tejidos humanos que han sido mejor estudiados en sus variados aspectos, son: 1) *T. gambiense*; 2) *T. rhodesiense*; 3) *T. cruzi*; y 4) *T. rangeli*.

Desde luego que, por razones obvias, las especies que nos interesan son las dos últimas, remitiendo al lector a las obras de parasitología y patología tropical para el estudio detallado de las cuatro especies acabadas de mencionar.

Carlos Chagas (destacado para combatir el paludismo en el Estado de Minas Geraes, Brasil) estando en Mananguinhos,¹ descubrió en el intestino del *Panstrongylos megista* formas de *T. cruzi*; después alimentó estos insectos infectados en un mono (*Hapale penicillata*), encontrándose el tripanosoma 20 días más tarde en la sangre de ese animal. Posteriormente, encontró este mismo tripanosoma en la sangre de un niño que exhibía un cuadro febril acompañado de anemia, aumento de tamaño de los ganglios linfáticos, etc., estableciendo con ello la existencia de la entidad mórbida que lleva su nombre. "En la historia de la medicina, éste es el primer caso en que se descubrieron el parásito y el insecto transmisor antes de diferenciar la enfermedad en el hombre."²

"Chagas originalmente creyó que durante cierto estado del ciclo evolutivo del parásito en el hombre, el *Trypanosoma cruzi* se multiplicaba por esquizogonia y, por consiguiente, estableció el género *Schizotrypanum* nombrando al parásito *Schizotrypanum cruzi*. Posteriormente, sin embargo, se demostró que la multiplicación en el huésped ma-

mífero (aunque ocurría dentro de las células en el estadio de leishmania) no era por esquizogonia, sino por el método corriente de fisión binaria; por consiguiente, se pensó apropiado retener al tripanosoma dentro del género *Trypanosoma*, y emplear el nombre original que le dió Chagas, *Trypanosoma cruzi*."

"Hoare (1936) acepta este punto de vista. Sin embargo, Días (1939) que ha estudiado la cuestión en detalle, cree que el género *Schizotrypanum* debe ser conservado. Expone que el *Schizotrypanum* posee caracteres morfológicos peculiares que lo asimilan a la *Leishmania* en el período intracelular, y al *Trypanosoma* en el estadio sanguíneo. Los flajelados que pertenecen a este género están caracterizados no sólo por la morfología de la forma tripanosómica, sino también por la evolución en el organismo vertebrado. Difiere por su evolución en el insecto y su mecanismo de transmisión, los cuales son comunes a los tripanosomas no patógenos. Cree que el *S. cruzi* no puede ser rigurosamente incluido ni en el Género *Trypanosoma* ni en el de *Leishmania*, ya que es fácilmente distinguible tanto por su morfología como por su biología."

Por mucho tiempo se le ha concedido a la enfermedad de Chagas el sinónimo de tripanosomiasis americana; pero desde el descubrimiento del *T. rangeli* en el hombre ya no nos es posible hablar de una tripanosomiasis americana sino de varias.

La tripanosomiasis producida por el *T. cruzi* está ampliamente extendida desde la Argentina y Chile, hasta México; y los triatómidos infectados se han encontrado tan al norte como en el Estado de California, en los Estados Unidos de Norte América.

En Guatemala, las tripanosomiasis americanas adquieren gran importancia debido a que los insectos transmisores están ampliamente distribuidos en nuestro medio rural, y a que el número de casos humanos ha ido en aumento a medida que se insiste más en la búsqueda de estos protozoarios.

Con respecto al *T. rangeli*, podemos decir que el Dr. J. Romeo De León ha sido de los científicos que más ha profundizado en su estudio, tanto en los huéspedes transmisores y medios de cultivo, como en el huésped humano. Le corresponde a este investigador —dicen el Dr. Félix Pifano y colaboradores, en el Vol. No. 1, Enero de 1948, de

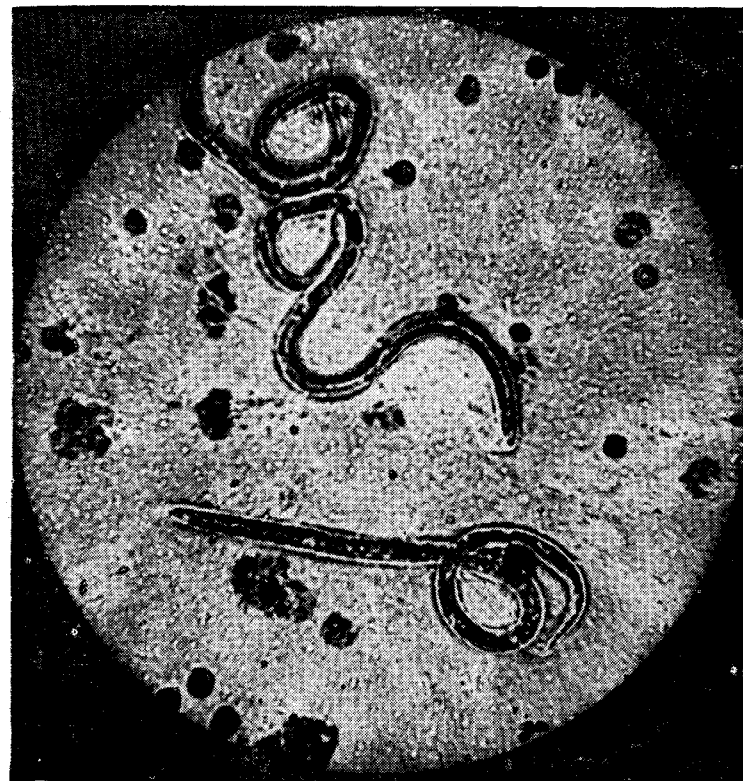


Fig. 24.—La misma muestra que la anterior, pero con objetivo en seco de gran aumento. (Fotomicrografía original $\times 480$).

los Archivos Venezolanos de Patología Tropical y Parasitología Médica— "haber visto y descubierto por primera vez la forma sanguícola, en el vertebrado, del *Trypanosoma rangeli* de Tejera."

En relación a la patogenia de este mismo protozooario, el Dr. De León expone en su estudio intitulado EL TRY-PANOSOMA RANGELI Observado en Seres Humanos en Guatemala (Publicaciones del Instituto de Investigaciones Científicas No. 3, Imprenta Universitaria de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, C. A. 1949) que: "El estudio de esta tripanosomiasis en la actualidad, sólo está en su fase parasitológica, faltando por determinarse su eventual patogenia y reservorios naturales primarios del *Trypanosoma rangeli*." En este mismo año de 1956, el mismo autor me ratificaba verbalmente esta afirmación.

Por los datos contenidos y para una mejor comprensión del problema que afronta nuestro país a este respecto, creemos necesario trasladar a estas páginas algunas partes del PROYECTO DE PLAN DE LUCHA CONTRA LAS TRIPANOSOMIASIS AMERICANAS, presentado al Ministerio respectivo por la Dirección General de Sanidad Pública a principios de 1955:

"1.—*Generalidades:*

- 1.1 La Dirección General de Sanidad Pública acordó establecer en Abril de 1952 la Sección de Investigación de Enfermedades Tropicales. En esta Sección se consagró especial atención a las encuestas de orientación para la Lucha contra las Tripanosomiasis Americanas.

2.—*Razones Científicas:*

- 2.1 A partir del año 1932 cuando simultáneamente y sin conocimiento uno de otro, el Dr. Reichenow y el Dr. J. Romeo De León investigaban la existencia de la enfermedad de Chagas en Guatemala, el primero de los citados descubrió los dos primeros casos en la Finca "Las Viñas", jurisdicción de Barberena, del Departamento de Santa Rosa.
- 2.2 En el año 1934 el Dr. De León descubrió en la Aldea "El Conacaste" de la jurisdicción de

Sanarate, Departamento de El Progreso, el *Trypanosoma rangeli* en seres humanos.

- 2.3 En una conferencia dictada en la Facultad de Ciencias Médicas y en una publicación científica del Dr. Reichenow manifestó muy A PRIORI la inocuidad del *Schizotrypanum cruzi* en Guatemala, afirmación que posteriormente ha llegado fatalmente a la conclusión de ser del todo errónea, una vez que se ha comprobado que en Guatemala como en cualquier otra parte del Continente Americano en donde se comprueba esta Tripanosomiasis humana, los casos demuestran cuando menos una repercusión cardíaca, manifestándose con los clásicos síntomas y signos de cardiopatías irreversibles.

3.—Plan de Trabajo:

Por lo anteriormente expuesto las encuestas de Sanidad Pública en la iniciación de la Sección se encaminaron a determinar:

- 3.1 a) Las zonas afectadas por *Schizotrypanum cruzi*.
- b) El grado de infestación de las viviendas con los redúvidos transmisores de esta Tripanosomiasis.
- c) Encuesta de "Gota Gruesa" y Frotis sanguíneo para el diagnóstico directo de la enfermedad de Chagas.
- d) Hemocultivo para el mismo diagnóstico directo de la Enfermedad de Chagas.
- e) Xenodiagnósticos con el mismo propósito que los dos anteriores.
- f) Reacción Serológica de fijación del complemento de Machado Guerreiro.
- g) Electrocardiogramas en los casos comprobados para determinar la repercusión cardíaca de esta Tripanosomiasis.
- h) Hospitalización de algunos casos comprobados para su estudio clínico completo.
- i) Investigación de Reservorios naturales de *S. cruzi*.

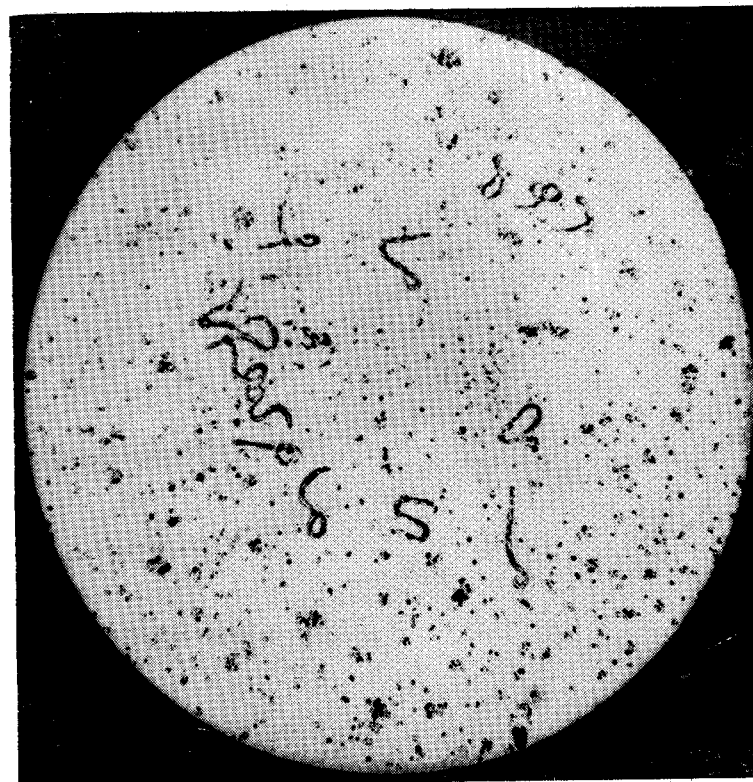


Fig. 25.—La misma muestra anterior, pero con objetivo seco de pequeño aumento. (Fotomicrografía original $\times 84$).

- j) Estudio histopatológico de las vísceras de estos mismos reservorios en la Sección de Patología de la Dirección General de Sanidad Pública.
 - k) Crianza de Redúvidos limpios para la práctica de Xenodiagnósticos.
 - l) Preparación de medios de cultivo adecuados para los hemocultivos.
 - m) Preparación de antígenos específicos de *S. cruzi*.
 - n) Infección experimental de animales de Laboratorio y selváticos con cepa guatemalteca de *S. cruzi*.
 - o) Ensayos de insecticidas para el control de los Redúvidos transmisores.
 - p) Crianza de aves y conejos para alimentar Redúvidos.
- 3.2
- a) Las zonas afectadas por *Trypanosoma rangeli*.
 - b) El grado de infestación de las viviendas con los Redúvidos transmisores de esta Tripanosomiasis.
 - c) Encuesta de "Gota Gruesa" y Frotis sanguíneo para el diagnóstico directo del *Trypanosoma rangeli*.
 - d) Hemocultivos para el diagnóstico directo del mismo *Trypanosoma rangeli*.
 - e) Xenodiagnósticos con el mismo propósito que los dos anteriores.
 - f) Hospitalización de algunos casos comprobados para su estudio clínico completo.
 - g) Crianza de Redúvidos limpios para la práctica de Xenodiagnósticos.
 - h) Preparación de medios de cultivo adecuados para los hemocultivos.
 - i) Preparación de antígenos específicos de *T. rangeli* (en preparación).
 - j) Aislamiento de cepas de *T. rangeli* para antígeno y para experimentación.
 - k) Inoculación experimental de diversos animales con la cepa guatemalteca de *T. rangeli* (sin éxito).

- l) Ensayos de insecticidas para el control de los Redúvidos transmisores.
- m) Crianza de aves y conejos para alimentar Redúvidos.

Con base en todos estos trabajos se ha llegado a establecer que el *S. cruzi* es patógeno con las repercusiones cardíacas que muestran a través de todo el Continente Americano en donde se efectúa el estudio y la atención de esta Tripanosomiasis humana y que el número de casos en Guatemala hasta la fecha indica que su frecuencia es considerable. (116 casos comprobados hasta la fecha).

Por lo anteriormente expuesto amerita el estudio específico y cuidadoso de esta parasitosis humana.

En cuanto a la Tripanosomiasis por el *T. rangeli* cuyos casos han sido comprobados en Guatemala como el país en el Continente Americano que los muestra con más frecuencia (38 casos en la actualidad), interesa continuar la encuesta para su estudio, sacándolo de su fase actual puramente de comprobación parasitológica a su aspecto clínico para determinar su patogenicidad."

Como se habrá podido observar por algunos de los párrafos anteriormente transcritos, la gota gruesa es uno de los métodos de que disponemos para hacer el diagnóstico directo de ambos parásitos. Para el *T. cruzi*, el mayor porcentaje de positividad se obtiene tomando las muestras de sangre en las fases iniciales, períodos agudos y febriles de la infección; en caso contrario, el método se muestra muy aleatorio, prefiriéndose otros medios (xenodiagnóstico, hemocultivo, etc.). Para el *T. rangeli*, la gota gruesa sigue siendo de valor, pero debido a que su estudio está todavía en la fase parasitológica, no podríamos señalar un momento óptimo para la extracción de la muestra. La utilidad del método se manifiesta en las encuestas sanitarias dedicadas a ese fin, y desde luego, en los hallazgos accidentales, sorprendentes, cuando se trabaja rutinariamente en la búsqueda de otros protozoarios sanguíneos.

Sea de ello lo que fuere, los métodos antes mencionados (gota gruesa, xenodiagnóstico, hemocultivo, etc.) deben complementarse unos a otros para el estudio detallado y la investigación consciente de ambos protozoarios.

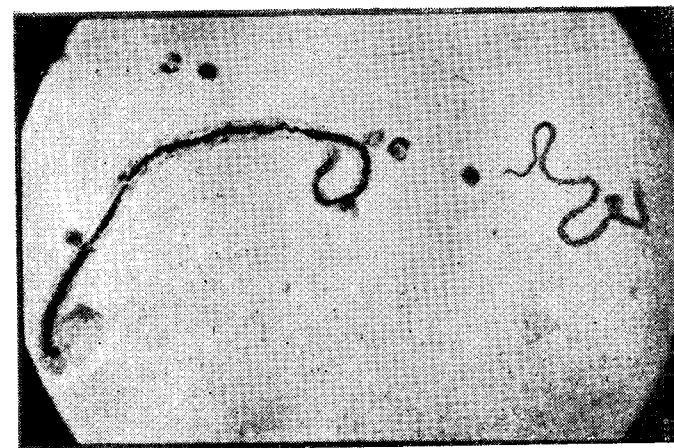


Fig. 26.—*FILARIASIS*: infección mixta con *LOA LOA* a la izquierda, y *DIPETALONEMA PERSTANS* a la derecha. Nótese la presencia de vaina en la primera y la ausencia de la misma en la segunda, que es de longitud y grosor mucho menores. Preparación en gota gruesa sanguínea. (Fotomicrografía cortesía de Sandoz Ltd., Basilea, Suiza: "Atlas of Haematology." x400).

El Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General de esta ciudad ha encontrado en dos ocasiones el *T. cruzi*: la primera, accidentalmente, en exámenes rutinarios por plasmodios; la segunda, en preparaciones en que específicamente se solicitaba la investigación de dicho parásito.

La *figura 28* nos muestra un campo microscópico de frotis sanguíneo, en cuyo centro se constata un *T. cruzi*. La *figura 29* es también una fotomicrografía de frotis sanguíneo, en cuyo centro se constata un típico *T. rangeli*.

Para valorizar la obra desarrollada a este respecto en Guatemala, o para orientarse en la investigación de las tripanosomiasis americanas en nuestro país, precisa conocer los trabajos de los doctores J. Romeo De León, Manuel L. Montenegro, Luis M. Peñalver y otros más.

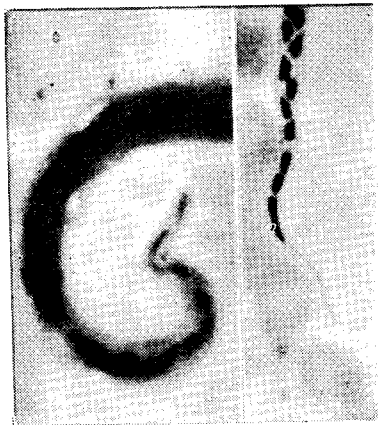


Fig. 27.—Extremos caudales de microfilarias, de LOA LOA a la izquierda, y W. BANCROFTI a la derecha. Obsérvese que en la segunda no existe núcleo terminal. (Fotomicrografía cortesía de Sandoz Ltd., Basilea, Suiza: "Atlas of Haematology." x1200).

CAPITULO QUINTO

LAS BORRELIAS

Pertenece al grupo *Spirochaetacea*, sobre el cual los investigadores no se han podido poner de acuerdo en relación a su clasificación. Algunos, siguiendo a Schaudinn (1905), colocan este grupo dentro de los protozoarios; otros, lo consideran como formando parte de las bacterias, al grado de que Bergey lo clasifica en la clase *Schizomycetes* y orden *Spirochaetales* (Manual of Determinative Bacteriology, 1939).³

Esto nos obliga a considerar tales organismos como formando un grupo aparte que puede ser considerado, ya sea como de transición entre las bacterias y los protozoarios, o como simplemente un *status* temporal, mientras investigaciones posteriores puedan aportar las pruebas definitivas para encasillarlos dentro de una de las dos ramas mencionadas.

De los seis géneros que componen el grupo, únicamente tres tienen importancia médica puesto que sus componentes parasitan al hombre: 1) *Borrelia* Swellengrebel, 1907. 2) *Treponema* Schaudinn, 1905. Y 3) *Leptospira* Noguchi, 1917.

Para una comprensión anticipada de la patogenicidad de estos organismos —aunque a *grosso modo*, desde luego— podemos decir que las borrelias son las espiroquetas de la sangre; los treponemas, las espiroquetas de los tejidos; y las leptospiras, las espiroquetas que tienen características que se encuentran también en las dos anteriores.

Se deduce por el párrafo anterior que el solo género que nos interesa en relación a la gota gruesa sanguínea, es el *Borrelia* (al que originalmente Noguchi denominó *Spirochaeta*) con sus especies causantes de las fiebres recu-

difícil encontrarlas por el método en estudio. En casos de resultados negativos, deberá inocularse al ratón con sangre del enfermo sospechoso, pudiéndose encontrar las espiroquetas en la sangre de este animal 24 a 48 horas después. Y, desde luego, hay que recordar que el método de iluminación del campo oscuro tiene aquí una de sus más preciosas indicaciones.

En Guatemala, las borrelias se han encontrado en más de una ocasión. Pertenece la prioridad al Dr. Horacio Figueroa, quien las encontró en un enfermo procedente de la Finca "Anubis", el 13 de Julio de 1938; habiendo publicado la observación en la Revista Guatemala Médica, el 13 de Agosto del mismo año. (b) Al mes siguiente, el Dr. Joaquín Cipriani publica otro caso en la misma revista. Años más tarde (1942), el Dr. Ernesto Marroquín G. informa, por medio de la revista de la Cruz Roja Guatemalteca, de otros 3 casos, (c) intitulado el artículo: LA FIEBRE RECURRENTE EN GUATEMALA, de donde tomamos la fotomicrografía que se reproduce en la *figura 30*.

Esos cinco casos, más la existencia del *Ornithodoros talaje* —huésped transmisor de estas espiroquetas— muy abundante por cierto en nuestro suelo, nos están indicando la necesidad de tener en mente a las fiebres recurrentes al hacer el diagnóstico diferencial de infecciones que con ellas puedan suscitar confusión.

(b) Revista Guatemala Médica. Año III, No. 8. Agosto de 1938, ps. 3 y 4.

(c) Revista de la Cruz Roja Guatemalteca, Vol. 9, No. 1. Enero de 1942, ps. 14, 15 y 16.

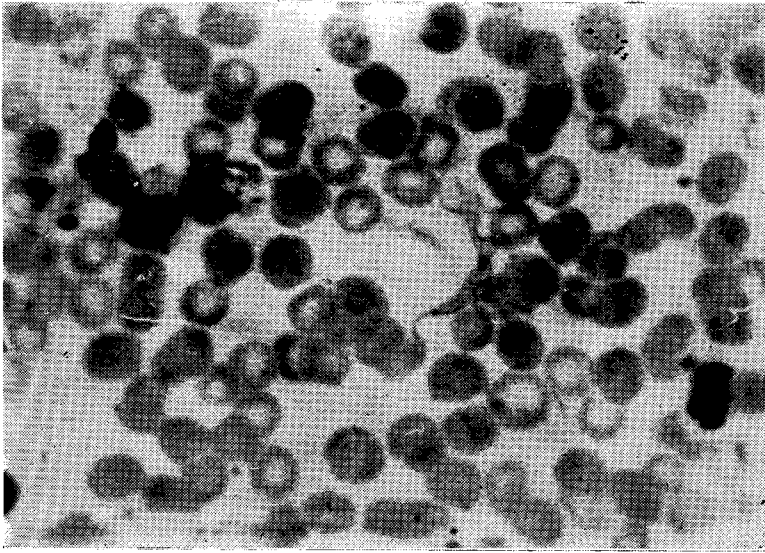


Fig. 29.—*TRYPANOSOMA RANGELI* en frotis sanguíneo.
(Fotomicrografía cortesía del Dr. J. Romeo de
León. Instituto de Investigaciones Científicas,
Sección Médico-Biológica).

BIBLIOGRAFIA

> <

- 1.—Joyeux, Ch.: Précis de Médecine Coloniale. Troisième Edition. Masson et Cie., Paris, 1944, p. 871.
- 2.—Craig, C. F. y Faust, E. C.: Parasitología Clínica. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, México, 1951, p. 172.
- 3.—Strong, Richard P.: Stitt's Diagnosis, Prevention and Treatment of Tropical Diseases. The Blackiston Company, Philadelphia, 1943, Vol. I, p. 321.

3a. Id. ps. 207 y 208.

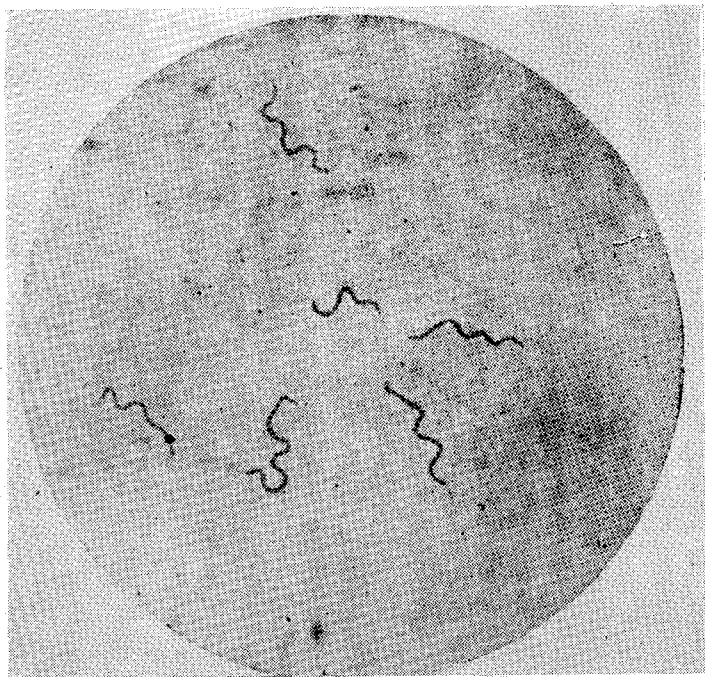


Fig. 30.—Borrelias productoras de fiebre recurrente en Guatemala. Muestra de sangre de ratón inoculado con sangre de enfermo. (Fotomicrografía que acompaña al artículo del Dr. Ernesto Marroquín G., mencionado en la llamada de pie de página (b)).

APENDICE

FUNDACION DEL DEPARTAMENTO DE
GOTA GRUESA SANGUINEA EN EL
HOSPITAL GENERAL

I

PALABRAS OBLIGADAS

A raíz de haber sustentado las pruebas de los exámenes privados —de esto hace ya seis años— presenté a la decanatura de la facultad mi trabajo de tesis, el cual intitulaba: IMPORTANCIA DE LA GOTA GRUESA SANGUÍNEA PARA EL MEDICO GENERAL (EXPERIENCIAS PERSONALES CON 25,000 EXAMENES).

En dicho trabajo hacía ver la necesidad de que el médico general de nuestras latitudes dominase un arma de tan trascendental importancia y de tan fácil manejo como es la gota gruesa sanguínea; ya que con ella no sólo podía llegar en términos de minutos al *diagnóstico positivo* de enfermedades tropicales tales como el paludismo, tripanosomiasis, etc. cuyos cuadros clínicos son tan proteiformes, sino que en casos de negatividad en dichas búsquedas, podía también obtener, en esos exámenes, informes hematólogicos de indiscutible importancia, como por ejemplo: leucocitosis, con neutrofilia o con linfocitosis, leucopenias con iguales calidades, eosinofilias, policromasias, punteados basófilos, etc., datos, como dije más arriba, de tanta importancia, que no admiten discusión.

Un microscopio, colorante Giemsa, agua destilada —o hervida corriente—, bicarbonato de sodio y papel indicador del pH y he aquí, decía, a un médico general, en un pueblo apartado de las comodidades de los laboratorios de las ciudades, resolviendo problemas clínicos con mayor seguridad que sin los implementos arriba mencionados; problemas que una vez resueltos habrían de ayudar, sin duda alguna al empleo de una terapéutica más efectiva, con el ahorro consiguiente de tiempo, dinero, y lo que es más, en muchos casos, con el ahorro de vidas humanas.

Días después, en los pasillos del Hospital General y de la Facultad de Ciencias Médicas, compañeros estudiantes y médicos, hicieronme preguntas respecto al trabajo de tesis antes mencionado. En la mayoría de ellas se inquiría

sobre el *modus operandi* de la gota gruesa sanguínea. En las otras, las menos, iba implícita la duda y hasta la negación de que pudiese obtener tanto dato, de una simple gota de sangre coloreada.

Fueron esas dudas y esas negaciones las que me impulsaron a tomar 500 gotas de sangre —ese fué el límite inicial que me marqué— de otros tantos enfermos de nuestro máximo centro hospitalario, colorearlas, examinarlas y por último constatar los resultados, estudiarlos y concluir sobre los mismos.

Y para sorpresa de muchos, incluyéndome entre los mayormente sorprendidos, las primeras gotas examinadas estaban demostrando el paludismo agudo, allí donde los pacientes estaban siendo tratados por tifoideas, gripes, síndromos disenteriformes, colapsos periféricos, abortos sépticos, etc., con las defunciones consiguientes; estaban demostrando el paludismo crónico, allí donde los pacientes estaban siendo tratados por neuralgias, neuritis, artritis y otras diversas afecciones, con los consiguientes gastos innecesarios de medicinas, aumento del número de estancias y por ende, tiempo y dinero gastados inútilmente.

En descargo del cuerpo médico del hospital hago constar de una vez por todas, que éste descartaba el paludismo del cuadro diagnóstico, basado en informes de frottes negativos de hematozoarios; ya que desde mis trabajos iniciales pude constatar que en los laboratorios, y en ese entonces, NO SE HACIAN INVESTIGACIONES DE HEMATOZOARIOS EN GOTA GRUESA.

El peso de los hechos comprobados y de las razones arriba apuntadas me convencieron de la necesidad de que el Hospital General contara con un Departamento de Gota Gruesa Sanguínea para darle al personal científico y al enfermo, más y más armas: para aquél, la oportunidad de emplear su acervo terapéutico más científicamente; y para éste, una oportunidad mayor de encontrar el alivio o curación que no encontró en la calle.

Para terminar con estas explicaciones que consideré necesarias diré que, el Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General se fundó a raíz de las labores anteriormente mencionadas. Y podemos decir con orgullo, con satisfacción, que después de estar funcionando conti-

LA LIMA NUEVA.
Oct. 4 de 1945.
Rep. de Honduras.

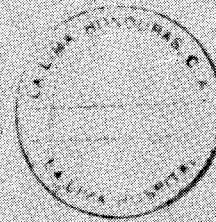
A Q U I E N I N T E R E S A

El suscrito Médico y Cirujano, Director del Hospital La Lima de la United Fruit Co. CERTIFICA: que el señor Bienvenido Michelen trabajó como Técnico en el laboratorio bacteriológico de este hospital, del primero de Febrero de 1941 al mes de Junio de 1942, y que durante este período practicó un total de 25,000 exámenes de gota gruesa por malaria.

También es un verdadero placer hacer constar que el señor Michelen demostró siempre eficiencia, seriedad y un espíritu acucioso de investigación.


Dr. Rafael Martínez.

Registro: Honduras.
California State #
A-04329.



Fotostática No. 1

nuamente, durante seis años, ha rebasado ya los 100,000 exámenes con los resultados benéficos que de ellos se han derivado.

A continuación se expone un informe sobre los 2,000 primeros exámenes verificados por el Departamento (con sus hallazgos macroscópicos y microscópicos); así como, inmediatamente después, se encontrarán varios extractos de observaciones clínicas, que forman parte de un buen número en poder del autor, y que sirvieron de pruebas contundentes para la creación del Departamento.

II

HALLAZGOS EN LOS 2,000 PRIMEROS EXAMENES DE GOTA GRUESA*Examen MACROSCOPICO*

		PORCENTAJE
Anemias —Hipocromías— ...	397	19.85%
Autoaglutinaciones	246	12.30%

Examen MICROSCOPICO

CUADRO No. 1			
Leucopenias	44	2.20%	
Leucocitosis	253	12.65%	
Neutrofilias	250	12.50%	
Policromasias	1180	59.40%	
Punteados Basófilos	76	3.80%	
Eosinofilias	77	3.85%	
HEMATOZOARIOS	207	10.35%	
Leucemias	2	0.10%	

Los 207 exámenes positivos de Hematozoarios
(10.35%) se reparten así:

CUADRO No. 2	PLASMODIOS		PORCENTAJE
FALCIPARUM	83	4.15%	
VIVAX	115	5.75%	
MALARIAE	6	0.30%	
MIXTOS	3	0.15%	
	<u>207</u>	<u>10.35%</u>	

DEDUCCION DE LOS CONTROLES

CUADRO No. 3		
Número de sangres examinadas	2,000	
Número de controles hechos	—139	
Pacientes examinados: Total	1,861	
De estos 139 controles: fueron positivos	82	
fueron negativos	57	
Total	<u>139</u>	

INDICE DE FRECUENCIA

CUADRO No. 4	Número de exámenes positivos	207
	Número de controles positivos	<u>—82</u>
	Número de pacientes palúdicos	125
	en 1,861 ingresos.	

Estas dos últimas cantidades nos dan el primer índice:

EL INDICE DE FRECUENCIA

6.72%

INDICE DE RELACION

Esta cantidad de 6.72%, que es la estimación global de PACIENTES CON HEMATOZOARIOS, nos sirve para obtener el INDICE DE RELACION, es decir, el porcentaje de las diversas clases de plasmodios contenidos en dicho dato, así:

CUADRO No. 5	PLASMODIOS	CASOS	PORCENTAJE	
				POR APROXIM.
	Falcip.	43	2.31 %	2.31%
	Vivax	78	4.191%	4.19%
	Malariae	2	0.107%	0.11%
	Mixtos	2	0.107%	0.11%
	Totales	125	6.715%	6.72%

Y por cada CIEN PALUDICOS QUE INGRESAN al Hospital General hay:

CUADRO No. 6	PLASMODIOS		PORCENTAJE
	Falciparum		34.40%
	Vivax		62.40%
	Malariae		1.60%
	MIXTOS		1.60%
	TOTAL		100.00%

ALGUNOS EXTRACTOS DE OBSERVACIONES
CON DIAGNOSTICOS DESVIADOS

No. 1

XX, de 19 años de edad, de sexo femenino, originaria y residente en esta ciudad, ingresa el 10 de Octubre de 1950, en altas horas de la noche, a uno de los servicios de medicina del Hospital General (Hoja de Admisión No. 18371). Se le inicia su tratamiento de acuerdo al diagnóstico provisional de *Fiebre Tifoidea* (con embarazo en el curso del 4o. mes). Esa misma noche aborta y es trasladada a una de las salas de maternidad. Desde ese mismo momento, durante 5 días, la enferma recibe cada 3 horas, 50,000 unidades Oxford de penicilina, sulfas, sueros, analépticos, etc. Horas antes de fallecer la enferma, uno de los practicantes ordena la investigación del plasmodio, dando el examen una infección masiva de parásitos, como rara vez hemos tenido ocasión de observar.

No. 2

XX, de 64 años de edad, de sexo masculino, originario y residente en Morán, ingresa el 29 de Septiembre de 1950, a uno de los servicios de medicina del Hospital General (Hoja de Admisión No. 17134). Con el diagnóstico de admisión —*Neo Gástrico y Anemia Secundaria*— se le administran gotas de tintura de belladona. Dos días después, a temprana hora, el enfermo fallece; pero como en el caso anterior, se le ordena el examen de sangre en busca del plasmodio, dando un resultado consistente en infección palúdica masiva.

No. 3

XX, de 24 años de edad, de sexo femenino, procedente de Tiquisate, ingresa el 11 de Agosto de 1950 a uno de los servicios de medicina del Hospital General (Registro No. 1842 del Laboratorio Central), con diagnóstico del Servicio de Emergencia de *Tbc. Pulmonar*. Sin embargo, debido a febrícula de vez en cuando, ce-

falalgia occipital, dolores articulares (en rodilla sobre todo), etc. se le administran, del 13 al 17 de Agosto: Salicilato de Sodio (36 pastillas), Penicilina (25,000 unidades Oxford cada 3 horas, o sean 2 frascos diarios), salicilato local, etc. El examen de gota gruesa dió un resultado positivo de *P. falciparum* anillos (+).

No. 4

XX, de 20 años de edad, de sexo masculino, procedente del barrio La Reformita de esta ciudad, ingresa el 23 de Agosto de 1950 a uno de los servicios de medicina del Hospital General (Registro No. 9857 del Laboratorio Central), con diagnóstico provisional de *Síndrome Infeccioso*. Desde ese momento hasta el 28 del mismo mes, se le administrará sulfaguamidina, belladona, elixir, emetina, sueros mixto y glucosado en cantidad de 4 litros, Wintodon, etc. El día antes mencionado se le verifica su examen de gota gruesa sanguínea obteniéndose un resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (++++) y gametocitos (++++).

No. 5

XX, de 1 año y 2 meses de edad, de sexo masculino, procedente de Poptún, El Petén, ingresa el 23 de Junio de 1951 a una de las salas cunas del Hospital General (Registro No. 8396 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Gastroenteritis Aguda*. Fuera del tratamiento dietético, se le administra un litro de suero, diariamente, durante 4 días, al cabo de los cuales, se le hace su examen de gota gruesa sanguínea dando el resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (+).

No. 6

XX, de 2 años y 6 meses de edad, de sexo masculino, procedente de Chimaltenango (Hacienda "Vieja"), ingresa el 9 de Marzo de 1951 a una de las salas cunas del Hospital General (Registro No. 6069 del Laboratorio Central), con diagnóstico provisional de *Anemia Secundaria y Desnutrición*. El tratamiento instituido hasta el día 13 del mismo mes consiste en vitaminas, Hepatobe, ácido fólico, vit. B₁₂, etc. El día antes mencionado se le verifica su examen de gota gruesa sanguínea con el siguiente resultado: Positivo de *P. malariae* (+), con anillos, esquizontos presegmentados, segmentados y gametocitos.

No. 7

XX, de 40 años de edad, de sexo masculino, procedente de Joyabaj, ingresa el 10. de Enero de 1951 a una de las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 4403 del Laboratorio Central), con diagnóstico provisional de *Cirrosis*. Durante 8 días a partir del momento de su ingreso recibirá el paciente: sulfato ferroso, Becolín, etc. El día 8 del mismo mes se le practica el examen de gota gruesa sanguínea obteniéndose un resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (++++) y gametocitos muy pocos.

No. 8

XX, de 48 años de edad, de sexo masculino, procedente de Zaragoza, Chimaltenango, ingresa el 3 de Enero de 1951 a una de las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 4411 del Laboratorio Central), con diagnóstico provisional de *Hepatitis*. Durante ese día al 10 del mismo mes, recibe diariamente suero glucosado hipertónico, vitaminas B y C, etc. El día antes mencionado se le practica su examen de gota gruesa sanguínea obteniéndose un resultado positivo de *P. vivax* (++): anillos (+); esquizontos presegmentados (++) y gametocitos muy pocos.

No. 9

XX, de 26 años de edad, de sexo masculino, procedente de Guatalón, ingresa el 12 de Enero de 1951 a una de las salas de medicina del Hospital General con diagnóstico provisional de *Síndrome Disenteriforme y Tbc*. Desde el día siguiente hasta el 16 del mismo mes se le administra Sulfaguamidina (2 tabletas cada cuatro horas), limonada láctica, elixir paregórico, tintura de belladona y urotropina. El examen de gota gruesa sanguínea se le practicó al día siguiente de su ingreso, pero desgraciadamente el informe se traspapeló en la sala. El resultado fué positivo de *P. falciparum* (+++): anillos (+++) y gametocitos (+).

No. 10

XX, de 20 años de edad, de sexo masculino, originario y procedente de Los Cerritos, Departamento de Santa Rosa, ingresa el 24 de Agosto de 1950 a una de

las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 2063 del Laboratorio Central). La observación clínica concluye en el diagnóstico de *Estado Gripal y Fiebre Tifoidea*. Desde el día siguiente de su ingreso se le administra aspirina, fenacetina, vitamina C, jarabe de codeína, etc., durante 4 días. El 28 del mismo mes se le practica el examen de gota gruesa sanguínea obteniéndose un resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (+) y gametocitos muy pocos. Previamente se le había practicado un examen de sangre en el laboratorio de la sala con resultado negativo de hematozoario.

No. 11

XX, de 1 mes y seis días de edad, de sexo masculino, procedente de esta ciudad, ingresa el 13 de Octubre de 1951 a una de las salas cunas del Hospital General (Registro No. 10950 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Síndrome Oclusivo*, aplicándosele inmediatamente el tratamiento de Suero Ringer y sonda de Levine. Ese mismo día se le practica el examen de gota gruesa sanguínea con resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (++++) y gametocitos (++) .

No. 12

XX, de 21 años de edad, de sexo masculino, procedente de esta ciudad, ingresa el 15 de Octubre de 1951 a una de las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 11018 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Disentería Bacilar*. El tratamiento que se le instituye es de Sulfaguanidina (2 pastillas cada 4 horas), tintura de belladona, suero mixto, etc. Al día siguiente se le practica el examen de gota gruesa sanguínea dando un resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (++) .

No. 13

XX, de 31 años de edad, de sexo femenino, procedente de Moyuta, Departamento de Jutiapa, ingresa el 24 de Octubre de 1951 a una de las salas de maternidad del Hospital General (Registro No. 13080 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Amenaza de Parto Prematuro*. Al día siguiente se le

practica el examen de gota gruesa sanguínea con un resultado positivo de *P. vivax*: anillos (+); esquizontos presegmentados (++) ; gametocitos (+); policromasia (+++); y punteado basófilo (+) .

No. 14

XX, de 25 años de edad, de sexo femenino, procedente de esta ciudad, ingresa el 10 de Septiembre de 1951 a una de las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 9998 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Disquimecia Biliar*. Durante los 3 primeros días de su estancia hospitalaria recibe como tratamiento: morfina-atropina, tintura de belladona, suero glucosado, suero vitaminado, aspirina-codeína, poción (fosfato de sodio, citrato de sodio, salicilato de sodio, tintura de belladona), etc. El día 3 del mismo mes se le practica el examen de gota gruesa sanguínea con el siguiente resultado: *P. vivax* (++) : esquizontos presegmentados (+); esquizontos segmentados (++) ; gametocitos (+); y policromasia (++) .

No. 15

XX, de 22 años de edad, de sexo femenino, procedente de Jocotales, Departamento de Escuintla, ingresa el 20 de Nov. de 1951 a una de las salas de maternidad del Hospital General (Registro No. 15213 del Laboratorio Central) en donde es tratada por *Aborto Incompleto* con penicilina, ergotrato, suero mixto, suero glucosado, etc. 25 días más tarde se le practica el examen de gota gruesa sanguínea encontrándosele en la sangre el *P. vivax* (++) , con anillos: muy pocos; esquizontos presegmentados: (++) ; esquizontos segmentados: (++) ; gametocitos: (+); y policromasia (++) .

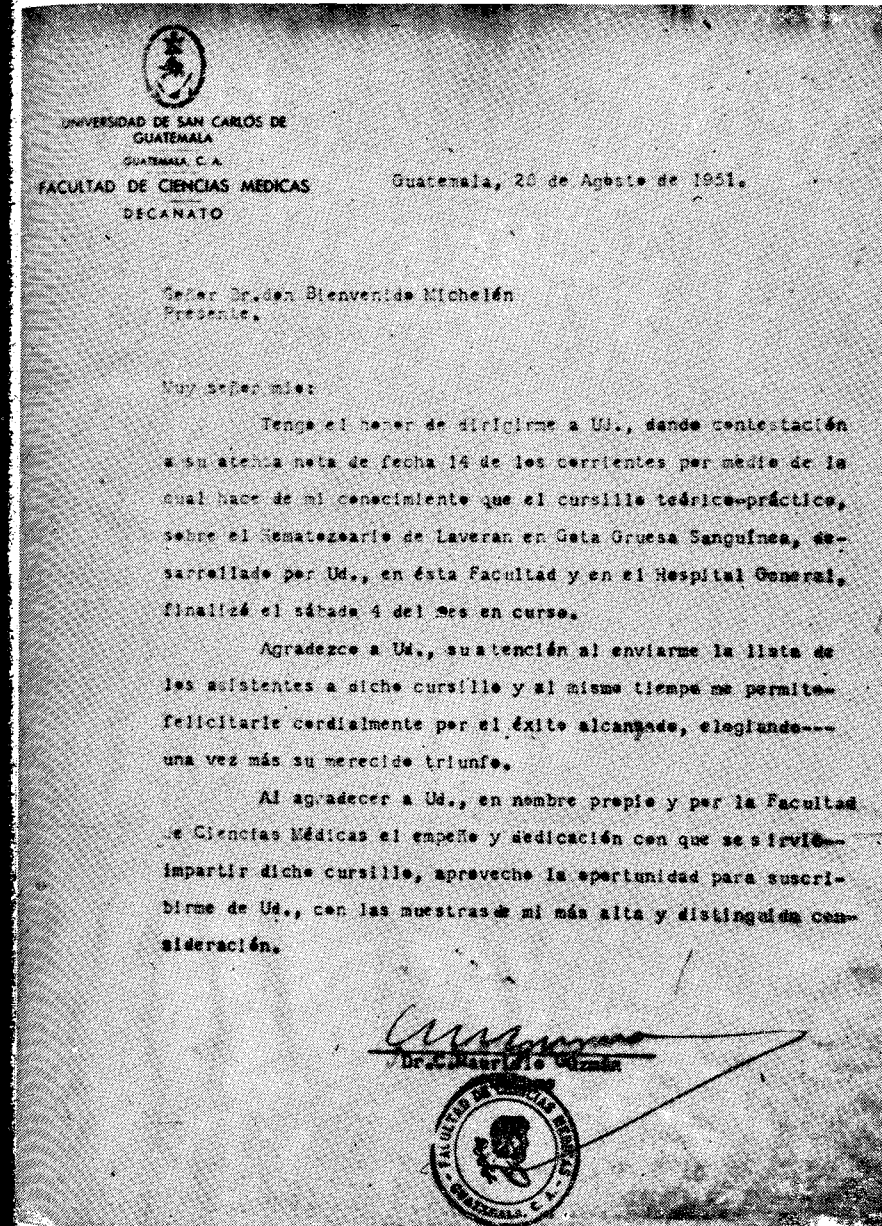
No. 16

XX, de 40 años de edad, de sexo femenino, procedente de esta ciudad, ingresa el 7 de Noviembre de 1951 a una de las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 14294 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Insuficiencia Cardíaca*, administrándosele desde su ingreso: aminofilina, Cedilanid, complejo B, vitamina C e Hígado. Al día siguiente

te se le practica el examen de gota gruesa sanguínea con un resultado positivo de *P. falciparum*: anillos (+++); gametocitos (++) ; autoaglutinación; y policromasia (+++) con la siguiente nota: Debe haber regular número de células rojas jóvenes en el frote.

No. 17

XX, de 44 años de edad, de sexo masculino, originario y procedente de San Martín Jilotepeque, ingresa el 7 de Agosto de 1950 a una de las salas de medicina del Hospital General (Registro No. 1805 del Laboratorio Central) con diagnóstico provisional de *Gastroenteritis Aguda*. Durante ese día y los días 9, 10 y 11, el paciente es tratado con poción de bismuto y tabletas de Digifortis. El último de los días mencionados se le practica el examen de gota gruesa sanguínea con resultado positivo de *P. falciparum* (+), con muy pocos anillos y gametocitos.



CONCLUSIONES

PARA LA PRIMERA PARTE

- 1a.—En 1902, Sir Ronald Ross introdujo el Método de la Gota Gruesa Sanguínea para la investigación del plasmodio; ese mismo año, Gustavo Adolfo Giemsa logró producir el colorante que lleva su nombre y que todavía se usa con la más completa satisfacción en unión del método antes mencionado.
- 2a.—A la expedición alemana enviada al Africa Oriental (1907), encabezada por Koch, se le acredita el mérito de haber aportado a la técnica de la gota gruesa sanguínea el hecho por ellos comprobado de que el agua del Giemsa diluido servía como hemolizante, al mismo tiempo que el proceso de coloración seguía su curso.
- 3a.—Todo cuadro clínico rotulado como palúdico debe considerarse un simple diagnóstico provisional mientras no se demuestre la existencia del parásito por medios directos, es decir, a través del examen microscópico.
- 4a.—Para calificar como negativo de plasmodio a un frote sanguíneo, hay que emplear un tiempo no menor de 30 minutos en el examen del mismo.
- 5a.—La gota gruesa sanguínea es un método, no sólo de concentración o enriquecimiento, sino que también de ahorro de tiempo.
- 6a.—La preparación de la gota gruesa sanguínea es mucho más sencilla que la de un frote bien logrado.

- 7a.—El principiante deberá examinar un número de campos no menor de 200, y el microscopista entrenado empleará un tiempo no mayor de 5 minutos, antes de rotular como negativa de plasmodio una gota gruesa sanguínea.
- 8a.—La gota gruesa sanguínea es superior al frote en la investigación y diagnóstico de la especie de plasmodio.
- 9a.—El bicarbonato de sodio es un buen alcalinizador del agua destilada que se utiliza para ser mezclada con la solución madre del colorante Giemsa.
- 10a.—Los tiempos de coloración para la gota gruesa —utilizando el Giemsa— no deberán sobrepasar los 4 o 5 minutos para el Método Rápido o Urgente, y los 25 minutos para los métodos lentos, sean éstos por unidad o en serie.

PARA LA SEGUNDA PARTE:

- 1a.—El que examina una muestra está en la obligación de informar sobre todas las anomalías observadas en la misma, sean de la importancia que sean.
- 2a.—La *hipocromía* es perceptible al examen macroscópico de la muestra; por consiguiente debe informarse cuando se le observe.
- 3a.—Con respecto a la *autoaglutinación* podemos concluir en que:
- a) Es un fenómeno constatado no sólo *in vitro* sino que también *in vivo*.
 - b) Únicamente se ha observado en los seres enfermos, nunca en los sanos.
 - c) Se debe considerar este fenómeno como un signo clínico indiscutible.
 - d) El fenómeno no es raro en nuestro medio.
 - e) Se sugiere que nuestros centros hospitalarios no den de alta a los enfermos mientras el fenómeno persista en ellos.

- 4a.—Los leucocitos existentes normalmente en la sangre circulante, conservan suficientes características morfológicas y tintoriales para ser identificados en la gota gruesa.
- 5a.—En el mayor espesor de la muestra pueden considerarse como normales las cantidades que oscilan entre 8 y 14 leucocitos por campo de 970 aumentos.
- 6a.—De los *eritrocitos ortocromáticos* ninguno escapa a la destrucción y disolución consecutivas a la acción hemolizante del agua contenida en el colorante Giemsa.
- 7a.—No sucede lo mismo con los *glóbulos rojos jóvenes*, en los cuales uno o varios de sus elementos estructurales resisten a dicha acción. Estos restos celulares se ponen de manifiesto en forma de *policromasia* y *punteado basófilo*.
- 8a.—El hallazgo del remanente policromatófilo de todo eritrocito joven demuestra de manera indiscutible la persistencia de la función eritropoyética, en mayor o menor grado, según la cantidad de retículos observada en la preparación en estudio.
- 9a.—En las preparaciones de gota gruesa las *plaquetas* resisten a la acción de la hemólisis; y en las muestras óptimamente coloreadas las características tintoriales son análogas a las obtenidas en el frote.
- 10a.—Entre los cuadros hematológicos anormales que pueden constatar en la gota gruesa, se encuentran:
- a) *Leucocitosis*, con *neutrofilia* o con *linfocitosis*.
 - b) *Leucopenia* con *neutropenia* o con *linfopenia*.
 - c) *Eosinofilia*.
 - d) *Conteo de Eosinófilos* (porcentual o cubomilimétrico).

- e) *Basofilia*.
- f) *Monocitosis*.
- g) *Leucemia (linfoide o mieloide)*.
- h) *Policromasia*, que se considera fuera de lo normal cuando se encuentran más de uno o dos retículos por campo. Constituye el porcentaje más alto entre los hallazgos susceptibles de ser descubiertos por el método de la gota gruesa sanguínea.
- i) *Punteado Basófilo*, que se encuentra también en glóbulos rojos jóvenes. Por consiguiente es signo irrefutable de regeneración, pero patológica.

11a.—Cuando se examina una gota gruesa sanguínea deberán buscarse uno o más eosinófilos con el fin de constatar el matiz tomado por las granulaciones protoplasmáticas de los mismos, para obtener por adelantado, una impresión de la coloración que habrán tomado los otros elementos a investigar.

12a.—La gota gruesa sanguínea puede ofrecer la *fórmula leucocitaria relativa* —porcentual— aun con manifiestas ventajas para el médico general que se propone obtenerla.

PARA LA TERCERA PARTE:

1a.—En relación al método en estudio, interesan única y parcialmente los protozoarios, los metazoarios y las espiroquetas. En el orden de frecuencia o abundancia con que pueden ser encontrados en la sangre periférica, se escalonan de la siguiente manera:

- a) Plasmodios (Protozoarios)
- b) Filarias —microfilarias— (metazoarios)

- c) Tripanosomas (Protozoarios) y
- d) Borrelias (Espiroquetas)

2a.—Los Hitos en la Lucha Contra el Paludismo pueden dividirse en cinco periodos.

3a.—Ante las ventajas indiscutibles de los insecticidas del grupo de los *hidrocarburos clorados*, están acumulándose comprobaciones, cada día más numerosas, de la resistencia de los insectos a la acción de estos compuestos; y lo que es más, están obligándolos a cambiar de conducta.

4a.—Schaudinn no desvió la atención de los parasitólogos ni retardó la comprobación de las formas exoeritrocíticas del plasmodio. Debe suspenderse, de una vez por todas, el injusto ataque de que ha sido objeto este investigador.

5a.—Se han constatado formas exoeritrocíticas en el *P. vivax*, *P. falciparum* y *P. ovale*.

6a.—El tiempo transcurrido en el desarrollo de la Fase Pre-eritrocítica es diferente para cada especie de plasmodio.

7a.—Para poner un poco de orden en la terminología técnica con que se rotulan o denominan los diferentes periodos que transcurren en la evolución del plasmodio, proponemos los términos: *Ciclos*, *Etapas* y *Fases*.

8a.—El *P. vivax* puede producir cuadros perniciosos, tal como el *P. falciparum*, pero en menor proporción que éste.

9a.—Hay marcada tendencia, por parte del *P. falciparum* y el *P. vivax* (en orden de importancia decreciente) a parasitar los reticulocitos.

10a.—En nuestras experiencias hemos podido observar la doble cromatina únicamente en la forma en anillo del *P. falciparum*, hallazgo que calificamos de patognomónico para diagnosticar esta especie.

- 11a.—En la forma en anillo del *P. vivax* hemos constatado la típica cromatina grande, engarzada en el citoplasma, y en cualquier lugar de la extensión de éste, un gránulo pequeño, como si fuese producto de la fragmentación de la cromatina, ya que tiene la misma coloración que ésta; *pero jamás hemos observado ambos hallazgos del mismo tamaño.*
- 12a.—Con los métodos de coloración descritos, el *P. vivax*, cualquiera que sea su momento evolutivo, conserva la mayoría de las veces la membrana eritrocitaria intacta, con todas las características que posee en el frote el glóbulo rojo parasitado (aumento de tamaño, palidez y hasta las granulaciones de Schüffner a veces). En el *P. malariae* se puede observar el mismo fenómeno, aunque menos ostensiblemente.
- 13a.—No estamos de acuerdo con más de algún autor que cuando trata del diagnóstico del plasmodio en gota gruesa sanguínea, niega la posibilidad de constatar los gránulos de Schüffner y de Maurer, ya que si hemos podido comprobarlos en estas preparaciones cuando están óptimamente coloreadas.
- 14a.—Cuando en la gota gruesa sanguínea se encuentran únicamente formas en anillo, en gran cantidad, la especie es con toda probabilidad *P. falciparum*.
- 15a.—Cuando la sangre autoaglutinada contiene gametocitos de *P. falciparum*, éstos se observarán redondos u ovoides (a veces suavemente cóncavos en uno de sus lados).
- 16a.—Sería de importancia investigar si la autoaglutinación sanguínea (que como sabemos puede tener lugar *in vivo*) altera las propiedades vitales de los gametocitos impidiendo su ulterior desarrollo en el estómago del mosquito.
- 17a.—Hasta la fecha el *P. ovale* no ha podido ser puesto en evidencia en Guatemala.

- 18a.—No es posible identificar el *P. ovale* en la gota gruesa sanguínea.
- 19a.—Hay que continuar con el examen de la gota gruesa sanguínea positiva para lograr poner en evidencia una probable infección mixta.
- 20a.—La infección conjunta de *P. falciparum* y *P. vivax* es la más corriente, pudiendo existir todas las combinaciones posibles entre las cuatro especies de plasmodios humanos.
- 21a.—En pacientes que no han tenido nunca paludismo o que han vivido fuera de las zonas endémicas, las manifestaciones clínicas pueden producirse con parasitemias submicroscópicas.
- 22a.—De preferencia la gota gruesa sanguínea debe obtenerse, no momentos antes o durante el paroxismo sino de una a tres horas después.
- 23a.—Cuando la infección plasmodial es masiva una simple hilera de cuatro cruces (++++) en el informe no expresa toda la gravedad de la situación. Se hace necesario el conteo cubomilimétrico de parásitos para un mejor control del cuadro clínico.
- 24a.—La gota gruesa sanguínea positiva de plasmodio puede ofrecernos otros datos de interés que pueden ser constatados ya sea en los glóbulos rojos o en los leucocitos.
- 25a.—En las infecciones masivas el poder fagocítico no sólo aumenta en los monocitos, sino que se extiende ampliamente a todos los glóbulos blancos, inclusive a las formas jóvenes de la serie neutrófila.
- 26a.—Los errores y confusiones en el examen de la gota gruesa sanguínea pueden evitarse en altísimo porcentaje si se cumplen todas las indicaciones expuestas en las páginas anteriores.

- 27a.—Como regla general, no deberá aceptarse como parásito ningún cuerpo que suscite dudas al respecto.
- 28a.—Fuera de las microfilarias de la *Dracunculus medinensis* y de la *Onchocerca volvulus*, las otras (*Wuchereria bancrofti*, *Loa loa*, *Wuchereria malayi*, *Dipetalonema ozzardi* y *Dipetalonema perstans*) se encuentran en la sangre periférica.
- 29a.—Aunque no han sido puestas en evidencia en Guatemala, es posible que en un futuro cercano logremos hacer el hallazgo de estos metazoarios en la gota gruesa sanguínea con motivo de alguna encuesta sanitaria, o cuando, teniéndola en mente, se ordene el examen correspondiente para confirmar o negar su impresión diagnóstica.
- 30a.—La búsqueda de estos nemátodos se facilitará si empleamos el objetivo en seco de menor aumento. El objetivo de inmersión se empleará para el estudio detallado de la microfilaria encontrada.
- 31a.—Los parásitos productores de las tripanosomiasis americanas han sido encontrados en Guatemala, siendo susceptibles de ser diagnosticados por medio de la gota gruesa sanguínea.
- 32a.—Guatemala es el país que con más frecuencia presenta las infecciones con el *Trypanosoma rangeli*.
- 33a.—El estudio de esta tripanosomiasis no ha salvado todavía la etapa parasitológica.
- 34a.—Las *borrelias* son susceptibles de ser diagnosticadas en la gota gruesa sanguínea, sobre todo si se toma la muestra 48 horas antes del descenso febril.
- 35a.—En Guatemala, las *borrelias* se han encontrado en más de una ocasión.

PARA EL APENDICE:

- 1a.—La fundación del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea del Hospital General de esta ciudad, se debió a las pruebas incontrovertibles, expuestas por el autor del presente trabajo ante las autoridades correspondientes y el cuerpo médico de dicho centro asistencial.
- 2a.—El número de estancias hospitalarias ahorradas, la cantidad de medicamentos no administrados inútilmente, agregado a la vida que se ha salvado en más de una ocasión, hacen del departamento una parte indispensable de los laboratorios centrales de la institución antes mencionada.
- 3a.—A seis años de distancia de la fundación del departamento, éste ha rebasado ya los 100.000 exámenes de gota gruesa.
- 4a.—Los extractos de observaciones con diagnósticos desviados que se han expuesto al final del presente trabajo, constituyen una mínima parte del profuso material que poseemos al respecto.

Yo. Bo.

(f) Dr. Marco Antonio Cabrera

Imprimase.

(f) Dr. José Fajardo
Decano

INDICE

PREAMBULO, 17; Plan de Tesis, 21.

PRIMERA PARTE

Generalidades.

Introducción, 29; Introducción (continuación), 31; Bibliografía, 33.

CAPITULO PRIMERO

I. Un poco de historia sobre la coloración y técnica de la Gota Gruesa, 35; Bibliografía, 39; II. Frote y Gota Gruesa. Estudio comparativo, 41; Bibliografía, 51.

CAPITULO SEGUNDO

Modus operandi.

I. Equipo, limpieza y preparación del material, 53; Bibliografía, 61; II. Preparación del colorante, 63; III. Preparación del agua destilada, 67; Bibliografía, 71; IV. Hechura de la Gota Gruesa, 73; Bibliografía, 81; V. Coloración de la Gota Gruesa, 83; Método lento por unidad, 83; Método lento en serie, 85; Método rápido (urgente), 87; Detalles a tener en cuenta, 87; Indicaciones prácticas resumidas, 89; Bibliografía, 93.

SEGUNDA PARTE

Sistematización y examen de la Gota Gruesa Sanguínea.

CAPITULO PRIMERO

Examen macroscópico.

I. Generalidades, 97; II. Hipocromía, 99; III. Autoaglutinación, 101; Bibliografía 107.

CAPITULO SEGUNDO

Examen microscópico.

I. Generalidades, 109; II. Cuadros Normales. Elementos de la Serie Blanca. Los Granulocitos, 111;

Granulocitos Neutrófilos, 112; Granulocitos Acidófilos, 113; Granulocitos Basófilos, 114; Los Linfocitos, 115; Los Monocitos, 116; Bibliografía, 119.

CAPITULO TERCERO

Cuadros anormales.

I. Generalidades. Elementos de la Serie Roja, 121; Policromasia. Punteado Basófilo. Las plaquetas, 123; Bibliografía, 127; II. Hallazgos Hematológicos. Serie Blanca. Leucocitosis. Leucocitosis con neutrofilia. Leucocitosis con linfocitosis. Leucopenia, 129; Eosinofilia. Conteo de eosinófilos, 130; Conteo porcentual, 131; Conteo cubomilimétrico de eosinófilos, 132; El pH y el eosinófilo, 133; Basofilia, 134; Monocitosis. Leucemia linfoide, 135; Leucemia mieloide. Fórmula leucocitaria, 136; Serie Roja. Policromasia, 141; III. Manera de informar. Hallazgos macroscópicos. Hallazgos microscópicos, 147; IV. Hallazgos de parásitos, 149; Bibliografía, 151.

TERCERA PARTE

Los parásitos de la sangre.

CAPITULO PRIMERO

Generalidades, 155;

CAPITULO SEGUNDO

Los plasmodios.

I. Clasificación, 157; II. Hitos en la lucha contra el paludismo. Primer período, 161; Segundo período, 162; Tercer período, 163; Cuarto período, 165; Quinto período, 167; Bibliografía, 177; III. Evolución. Ciclos, etapas y fases diversas de reproducción, 179; Ciclo asexual o esquizogónico, 180; Ciclo sexual o esporogónico, 188; IV. Plasmodium vivax. Consideraciones generales, 195; Morfología y etapa evolutiva en el hombre, 196; Aspecto microscópico en el frote, 201; Aspecto microscópico en la Gota Gruesa, 203; V. Plasmodium malariae. Consideraciones generales, 207; Morfología y etapa evolutiva en el hombre, 208; Aspecto microscópico en el frote, 210; Aspecto microscópico en la Gota Gruesa, 211; VI. Plasmodium falciparum. Consideraciones generales, 213; Morfología y etapa evolutiva en el hombre, 215; Aspecto microscópico en el frote, 218; Aspecto microscópico en la Gota Gruesa, 220;

VII. Plasmodium ovale, 225; VIII. Infecciones mixtas, 227; IX. Detalles a tomar en cuenta, 229; X. Manera de informar y conteo de parásitos, 231; XI. Trastornos hematológicos observables en la Gota Gruesa positiva de plasmodio, 235; XII. Causas de errores y confusiones, 239; Bibliografía, 243.

CAPITULO TERCERO

Las filarias, 245.

CAPITULO CUARTO

Los tripanosomas, 249.

CAPITULO QUINTO

Las Borrelias, 257. Bibliografía, 261.

APENDICE

Fundación del Departamento de Gota Gruesa Sanguínea en el Hospital General.

I. Palabras obligadas, 265; II. Hallazgos en los 2,000 primeros exámenes de Gota Gruesa, 269; III. Algunos extractos de observaciones con diagnósticos desviados, 271.

CONCLUSIONES

Para la primera parte, 277.

Para la segunda parte, 278.

Para la tercera parte, 280.

Para el apéndice, 285.

> <