

XXI.—Viaje de estudio á la Guinea española.

Observaciones acerca del *Trypanosoma gambiense* y algunos otros Protozoos parásitos del hombre y de los animales.

POR GUSTAVO PITTALUGA.

Desde la mitad del mes de Junio hasta últimos de Octubre del pasado año de 1909 he tenido ocasión de recorrer y visitar diferentes lugares de la isla de Fernando Póo y de los territorios de la Guinea Continental española, como Jefe de una Comisión del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII, enviada por el Ministerio de Estado á aquellas posesiones coloniales con el objeto principalísimo de determinar la existencia, extensión é intensidad de la llamada «enfermedad del sueño» ó tripanosomiásis humana, en los términos de la Colonia, y de contribuir al estudio de las condiciones sanitarias de ésta.

Durante la expedición hubo que llevar á cabo numerosas observaciones parasitológicas. Y de los resultados de algunas de ellas, que se refieren particularmente al *Trypanosoma gambiense* y á otros protozoos parásitos del hombre y de animales, me propongo dar cuenta en esta breve Memoria á la Real Academia de Ciencias.

Séame permitido recordar aquí, con palabras de sinceras alabanzas, la eficaz cooperación de mis dos compañeros de viaje, el Dr. D. Luis Rodríguez Illera y el Sr. D. Jorge Ramón, y al propio tiempo el incondicional apoyo y las muchas cortesías recibidas del Gobernador general de la Colonia, Excmo. Sr. D. José Centaño, y de las autoridades todas de la isla de Fernando Póo y de los dos distritos de Elobey y de Bata, en el Continente.

Antes de exponer los resultados de nuestras observaciones, creo oportuno comunicar á los lectores de la REVISTA DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS un breve relato de la expedición. En las dos láminas que acompañan al presente trabajo, se halla trazado en los Mapas de Fernando Póo y de la Guinea Continental española el itinerario recorrido por la Comisión que tuve el honor de dirigir.

I

Itinerario de la expedición y resumen general de los trabajos efectuados.

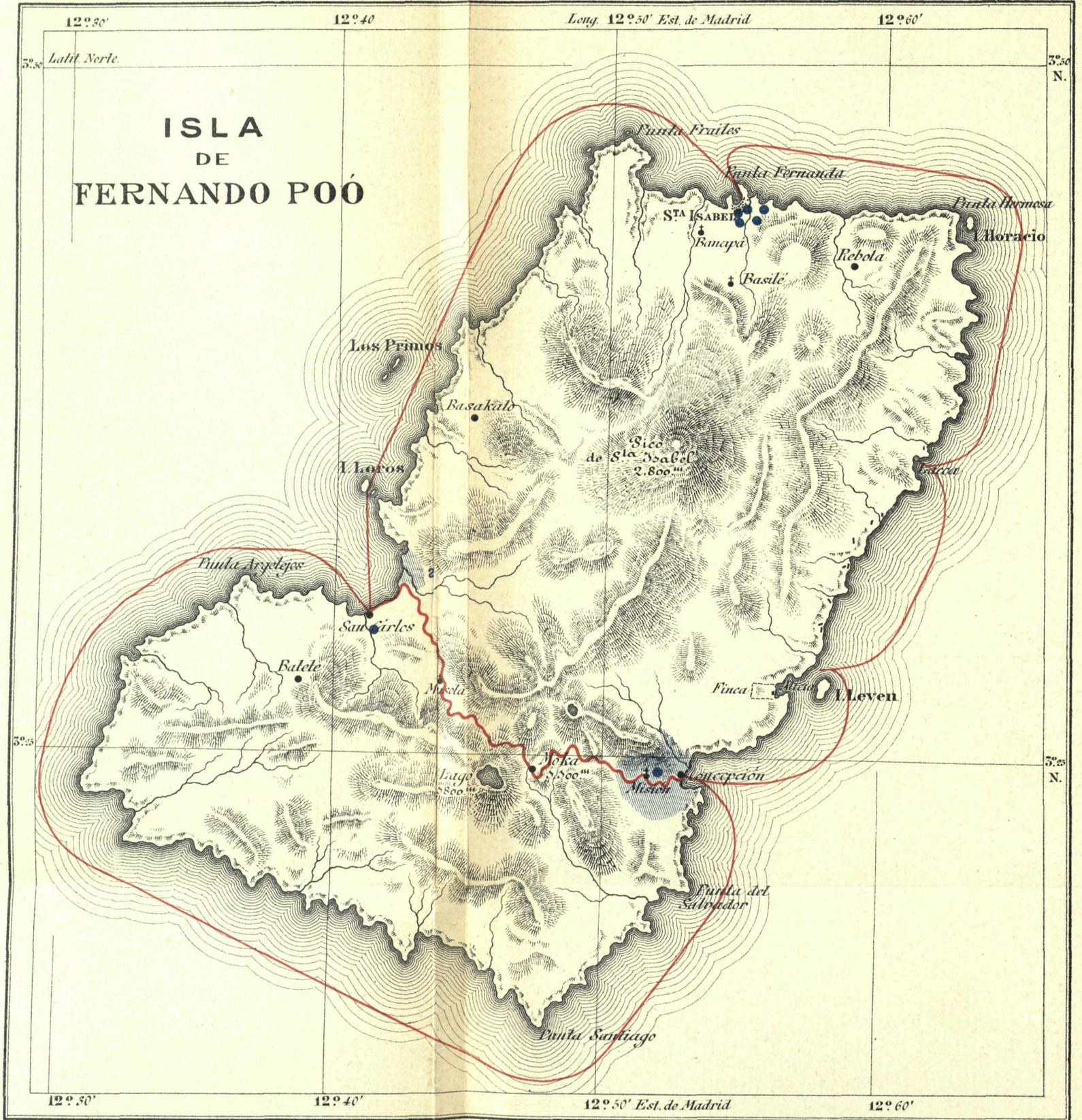
La Real orden de nombramiento de la Comisión lleva la fecha del 21 de Mayo de 1909. Organizada apresuradamente la expedición en parte con el material del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII, en parte con material adquirido en los días que corrieron entre el 21 y el 28 de Mayo, con cargo al crédito consignado por la Sección colonial del Ministerio de Estado, salimos de Madrid el día 28 y de Cádiz el 30, á bordo del vapor *San Francisco*, de la Compañía Trasatlántica.

Tocó el *San Francisco* los puertos de Las Palmas, Río de Oro, Sierra Leone y Monrovia (República de Liberia) y el día 15 de Junio llegó á Santa Isabel de Fernando Póo.

Instalado nuestro modesto laboratorio en la casa del Sr. Capmany, expresamente alquilada para este objeto, pudimos emprender nuestras tareas el día 20.

La Comisión permaneció en Santa Isabel de Fernando Póo — en esta primera etapa — desde el 15 hasta el 28 de Junio. Los médicos del servicio sanitario colonial, D. Tomás Ramos Pabalán, jefe del servicio, D. Arturo Gil Fabre y D. César Alonso, nos auxiliaron en aquellos días y merecen por nuestra parte un vivo recuerdo de gratitud.

Constante é inteligentísima cooperación nos prestó el Jefe



G. Pittaluga, dib.

Escala 1: 250.000.

SOLER

-  Itinerario seguido por la Comisión del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII enviada por el Ministerio de Estado.
-  Foco endémico de enfermedad del sueño, y territorio en que se han recogido gran número de moscas del género "Glossina".
-  Focos dudosos de enfermedad del sueño.
-  Casos de tripanosomiasis humana personalmente observados por la Comisión.

de la Sección Comercial de la Compañía Trasatlántica, nuestro buen amigo D. Pedro Bengoa.

A partir del día 21 empezaron á acudir á nuestro laboratorio numerosos indígenas acusando diferentes dolencias. Todos ellos, cualquiera que fuese la enfermedad clínicamente diagnosticada, fueron sometidos á examen metódico de la sangre, y en los casos sospechosos el examen fué repetido muchas veces en días sucesivos ó en horas distintas del día.

Fueron adquiridas por entonces las primeras noticias exactas acerca de la procedencia de algunos casos de enfermedad del sueño observados en Santa Isabel y en el territorio de la Colonia en general. Resultaron de gran provecho para la Comisión, además de los datos recogidos por los médicos del servicio colonial en años anteriores, las indicaciones que nos proporcionaron el Rvdo. P. Armengol Coll, Vicario apostólico, y el P. Juanola, de las Misiones desde larga fecha establecidas en la isla y en el continente.

Desde el 21 al 28 de Junio fueron examinados 18 individuos. Entre ellos merecen ser recordados la niña *María*, de diez años, procedente de la Misión de Concepción (Fernando Póo), y á la sazón en el Hospital Reina Cristina, de Santa Isabel; y el portugués *Felisardo Godiño*, de veinticinco años, procedente de Santo Tomé y Príncipe, cuya historia clínica está resumida más adelante. (Véase II, casos números 1 y 2.)

El día 29 de Junio por la mañana salimos de Santa Isabel á bordo del vapor *Annobon* para una excursión de quince días al interior de la isla, y con el objeto principalísimo de visitar los dos puntos más importantes, respectivamente, de la costa occidental y oriental de Fernando Póo (lámina I, adjunta al presente informe), San Carlos y Concepción; este último considerado, con gran fundamento, como el foco de la tripanosomiasis humana en la isla.

No fué posible detenernos en San Carlos esta primera vez sino algunas horas, durante las cuales el Sr. Tort, médico de aquel Hospital, y el Dr. Virto, que ejerce libremente la profe-

sión y posee además una finca de cacao en aquel territorio, nos comunicaron datos de interés acerca de algunos casos de probable tripanosomiasis observados en los últimos tiempos, especialmente en las cercanías de Boloco, en la finca de la Viuda de Vivour, cuyo personal indígena, muy reducido ahora, había sido numerosísimo antes y había proporcionado gran contingente de enfermos.

A las diez de la mañana del día 30 de Junio llegamos á bordo del *Annobon*, y después de haber dado la vuelta á la isla, al sitio llamado Concepción. La casa-cuartel de la guardia colonial, baja, á pocos metros sobre el nivel del mar, y un centenar de metros más arriba, la casa-factoría de la Compañía Trasatlántica, habitada por un empleado europeo que está al frente de la finca, constituyen la totalidad de las viviendas allí reunidas, con los pequeños grupos de chozas de los *bubi*. En lo alto del monte, á dos horas de camino desde la playa, se halla emplazada la hermosa casa de los Misioneros de Concepción.

En la finca de la Compañía Trasatlántica, y gracias á la inteligente cooperación y exquisita amabilidad del Sr. D. Ramón Mazo, Gerente de dicha Compañía en Fernando Póo, pudimos examinar con detenimiento 23 trabajadores indígenas, en su mayoría procedentes de Monrovia (República de Liberia) ó de otros puntos de la costa de la Guinea continental, y sólo algunos pertenecientes á la raza *bubi*, propia de Fernando Póo. De todos ellos se llevó á cabo el examen hematológico. Con el auxilio del sargento de la Guardia civil colonial, Sr. Moreno Carretero, y de sus dependientes, fueron capturadas en gran número, en aquellas localidades, las moscas del género «*Glossina*», que los naturales indican con el nombre típico de *SINKI SOTTE* ó, literalmente, «mosca grande», y cuya picadura temen como venenosa.

El día 1.º de Julio, en la Casa Misión, que, como he dicho, dista cerca de dos horas de camino de la playa, y se halla muy elevada sobre el nivel del mar, fueron observados seis

enfermos, uno de ellos (*Lepa*, de diez y ocho años) atacado desde hace tiempo de la enfermedad del sueño. El Superior de la Misión nos prodigó atenciones que vivamente le agradecemos.

El camino que conduce desde la Misión de Concepción al llamado Valle de Moka, en el centro de la isla, sube entre bosques espesos, ricos en lianas y constituidos por enormes representantes de todas las especies tropicales. El transporte de la carga por aquellos senderos — especialmente el de una carga delicada como la que constituía nuestro material de laboratorio, aunque reducido á la menor expresión — resulta pesado y difícil. Dos caballos y dos asnos, de los poquísimos que existen en la isla, y que la Compañía Transatlántica procura introducir en su potrero de Moka, hicieron á los cuatro expedicionarios — puesto que el Sr. Mazo nos acompañaba en la excursión — más llevadera la cuesta y más breve el camino.

Desde el día 2 al día 7 de Julio permaneció la Comisión en Moka, en la casa de dicho potrero de la Transatlántica, á 1.000 metros sobre el nivel del mar, y casi en el centro de la isla. Desgraciadamente, tuvimos en aquellos días lluvias continuas y torrenciales, que nos impidieron realizar gran parte de nuestro programa. A pesar de ello, pudimos darnos cuenta de las excepcionales condiciones que reúne el llamado «Valle de Moka» para la vida del europeo y para la cría de ganado vacuno y caballar, á la cual dedica el señor Bengoa todos sus desvelos y su actividad. En Moka se llevaron á cabo interesantes observaciones hematológicas y parasitológicas sobre diferentes especies de aves y de animales domésticos; se recogieron y determinaron algunas especies de Culicidos de la localidad, y se vieron algunos indígenas, entre ellos el jefe bubi ó Botuko *Malabo*, enfermo de un flemón voluminoso por caries dentaria.

El día 7 de Julio, á las once de la mañana, nos separamos del Sr. Mazo, y por una senda apenas practicable nos diri-

gimos hacia Musola, en la vertiente oriental de la cadena central de la isla. Llegamos á las cinco y media de la tarde. En la Misión de Musola, durante la mañana del día 8, fueron observados y sometidos á examen de la sangre 11 enfermos. Aquella misma noche, con seis horas de marcha, llegamos á San Carlos.

Los días 9 y 10 de Julio fueron allí dedicados á reunir cuantos datos estaban á nuestro alcance acerca de la existencia de tripanosomiasis humana en aquella localidad. Tuve entonces las noticias que más adelante se refieren acerca de los casos de enfermedad del sueño observados por el encargado de la finca de D. B. Roig, Sr. D. Emilio Sirvén.

En el Hospital de San Carlos tuvimos ocasión de examinar en aquellos dos días 12 enfermos. Uno de éstos, *Cama-chindo*, según toda probabilidad tripanosomiásico antiguo, caquéctico, falleció pocos días después, el 15, y el médico de San Carlos Sr. Tort, con el practicante Sr. Quella, ejecutaron la autopsia del cadáver y nos remitieron á Santa Isabel las piezas anatomopatológicas de mayor interés, convenientemente acondicionadas.

El día 10 por la noche, á bordo del vapor *Corisco*, salió para Santa Isabel el Dr. Illera, pasando por Concepción con objeto de recoger en esta localidad algunos ejemplares de *Glossina*. A las cinco de la mañana del día siguiente, el que escribe, acompañado por el auxiliar de la Comisión Sr. Ramón y Cajal, y por el Agente de la Casa Moritz Sr. Bubeck, se dirigió en una ballenera á la pequeña isla de Loros, y después, en la lancha de vapor *Ena*, de la casa Wilson, á Santa Isabel.

Nuevamente permaneció la Comisión en la capital de la Colonia desde el día 12 hasta el 18 de Julio. En estos días fueron examinados otros 18 enfermos, entre ellos el soldado indígena (senegalés) *Domingo Deché*, perteneciente á la guardia colonial, tripanosomiásico (v. II, caso núm. VI), que fué sometido más tarde á tratamiento con Atoxil, y que, en

virtud de permiso concedido por el Sr. Gobernador, nos acompañó durante toda la expedición, y se halla actualmente en Madrid, en el Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII.

Preparado el material necesario, salió la Comisión de Santa Isabel el día 18 de Julio á bordo del vapor *Annobon* para el continente, dirigiéndose ante todo á la isla de Elobey, capital del distrito correspondiente.

Recibidos en Elobey con inmerecidos honores y con extremada amabilidad por el Subgobernador D. Manuel Arenzana, quedamos en la pequeña isla hasta el día 25 hospedados en la Casa de la Compañía Trasatlántica, y acompañados por el Sr. Bengoa, que ya no se separó de nosotros hasta el día 22 de Agosto, en Bata.

En Elobey fueron examinados en esos días siete enfermos, entre ellos dos importantes casos de elefantiasis, y uno, el soldado indígena N'Bá, procedente del Río Muni, atacado de enfermedad del sueño desde hace tiempo; afianzado el diagnóstico con el hallazgo de numerosos tripanosomas en repetidos exámenes de la sangre, se llevaron á cabo inoculaciones en conejos, conejos de Indias y un mono, que dió á los ocho días una reacción febril intensa (39°,9) y presentó luego tripanosomas en la sangre.

El día 25 de Julio, en la ballenera de la Trasatlántica, emprendimos el viaje por el Muni, dirigiéndonos ante todo á la factoría de Wermakogo, en el Río Utamboni. De allí, por M'Beto (puesto francés que obliga á pequeñas operaciones de aduana), subiendo el Río por Abenilang, llegamos el día 28 por la tarde al pueblo pamue de Mebonde. (Véase el mapa de la lámina II, adjunto á este informe.)

En Mebonde permanecemos seis días, saliendo el 4 de Agosto, á las doce y media, en viaje de regreso para Mbung, sitio en que está emplazada una de las factorías de la Casa Woermann. Durante nuestra estancia en Mebonde fueron hechas observaciones de gran interés; se llevó á cabo el

examen de la sangre de 17 indígenas; mayor número de enfermos fué observado y curado por llagas, úlceras, heridas ó lesiones, de tratamiento quirúrgico en general; se dió principio á una investigación metódica de los parásitos intestinales con el examen de las deposiciones.

Allí tuvimos una invasión de *Phlebotomus* (*Phl. pappatasi*), pequeñísimos dipteros hematófagos que se conocen generalmente, entre los colonos españoles, con el nombre de *gegen*. Durante todo el recorrido del Río Utamboni fueron capturadas en gran número, en la misma embarcación y en las orillas, las moscas del género *Glossina*.

De los remadores indígenas que prestaban servicio en la ballenera algunos cayeron enfermos de fiebres palúdicas, graves, durante el viaje. El mismo Sr. Bengoa, que no observaba con la absoluta severidad, por nosotros adoptada, las reglas profilácticas, fué atacado de fiebres tercianas.

Huevos y larvas de Anquilostomas, con gran número de otros parásitos intestinales, fueron encontrados en las deposiciones de algunos enfermos indígenas.

En la factoría de Mbung, en el punto en que se bifurca el Río Utamboni formando dos grandes brazos, pasamos la noche del 4 al 5 de Agosto, recibidos con exquisita cortesía por los agentes de la casa Woermann Sres. Schumäcker y Droëge, los dos víctimas antiguas de la infección palúdica. El Sr. Schumäcker había tenido pocos meses antes (en Febrero) una grave hemoglobinúrica (*Schwarzwasser-fieber*); el señor Droëge salía entonces de un ataque de paludismo que se le había presentado de repente, en la noche del 1 al 2, mientras estábamos en Mebonde. Los dos fueron sometidos á examen de la sangre. Igualmente fueron examinados, en la factoría, cinco trabajadores indígenas.

El día 5, en dos cayucos ó piraguas, por el brazo más pequeño del Río Utamboni, nos dirigimos al puesto de Asobla, en que residen de ordinario un teniente, un sargento y dos cabos europeos de la Guardia Colonial, con veinte ó treinta

soldados indígenas. Es, actualmente, el último puesto guardado en la región del Muni. En la casa-cuartel, que se halla inmediatamente sobre el río, en la misma orilla, fueron examinados cinco indígenas, entre ellos un disentérico que presentaba en gran número amibas, correspondientes á *Entamoeba histolítica* (SCHAUDINN), en las deposiciones.

Tuve, también, ocasión de llevar á cabo el examen hematológico de algunos ejemplares de aves (*Cypselus*, etc.) y de algunos perros. En éstos se hallaron (dos casos) embriones hemáticos de *Filaria immitis*; en aquéllos (100 por 100) *Haemoproteus* y formas de tripanosomas, probablemente ligadas con el ciclo evolutivo de este parásito; y en un caso una microfilaria.

El día 6 estábamos de vuelta en Wermakogo, después de haber visitado el puesto de Kangañe, en cuya casa-cuartel residen, generalmente, dos cabos de la Guardia Colonial (europeos) y un practicante (D. P. Mantecón) que enfermó gravemente poco tiempo después.

En la factoría que la Compañía Trasatlántica posee en Wermakogo, fué observado, con detenimiento, un caso típico de disenteria, enfermedad endémica en el territorio del estuario del Muni y de sus afluentes. Se hallaron en gran número las características amibas en el examen de las deyecciones. Fueron hechas, oportunamente, las siembras para aislar, á ser posible, las especies bactericas de la flora intestinal en busca del B. de Shiga. Fueron sometidos, además, al examen hematológico, dos indígenas y un empleado europeo de la factoría, el Sr. Costa.

Examinando la sangre de algunos pájaros, encontré nuevamente la misma microfilaria hallada en Asobla y pude estudiarla con mayor detenimiento. Fueron capturadas en Wermakogo numerosas Glossinas, y reunidos interesantes datos acerca de la enfermedad del sueño (que los indígenas de la localidad llaman *Uyó*) y de algunos casos procedentes del pueblo de Ibay, en el alto Río Utongo (véase el mapa).

Los pamues, de la cuenca del Muni, indican las moscas del género *Glossina* con el nombre de *bi-lú*, y las distinguen de los tábanos y de las *Stomoxys*, que llaman *mi-ló*.

El día 7 de Agosto salimos de Wermakogo, y, pasada la noche en la casa-cuartel de la Guardia colonial en la Isla N'Gande, llegamos de regreso á Elobey el día 8 por la noche. Los días del 8 al 13, en Elobey fueron ocupados en ordenar el material y los datos traídos de la excursión al Muni, en acondicionar el material bacteriológico haciendo los pases oportunos, y en llevar á cabo la autopsia del cadáver del tripanosomíasis N'Bà, fallecido el día 11 en el Hospital. Un nuevo caso de elefantiasis (enfermo N'beñe, del Río Utoche) fué examinado el día 12.

El 13, á bordo del vapor *Corisco*, que con gran amabilidad puso á nuestra disposición el señor gobernador general, fué la Comisión á Libreville, en el Congo francés, con objeto de visitar aquel Hospital. Me es grato recordar á este propósito las atenciones recibidas del señor gobernador de Libreville Mr. Rognon, del secretario general Mr. Le Merle de Beaufond y de los médicos del servicio colonial de Libreville.

De vuelta á Elobey el día 14 por la noche, salimos el 15 en la ballenera de la Compañía Transatlántica, acompañados por el Sr. Bengoa, con dirección á Punta Mosquitos y con el propósito de visitar los puntos más importantes de la costa hasta la capital del distrito de Bata.

Llámase comúnmente Punta Mosquitos el promontorio en que quiso emplazarse hace dos años, trasladándola de la isla de Elobey, la capital del distrito (ó subgobierno) que corresponde á la parte meridional de la Guinea continental española. El nombre es harto demostrativo. A pesar de ello, las noticias que nos proporcionó el sargento Rollón, jefe del puesto militar de Punta Mosquitos en aquella fecha, acerca de la salud de sus subordinados (europeos é indígenas), no fueron del todo malas. En Punta Mosquitos se recogieron

(como en todos los puntos por nosotros visitados) ejemplares de Culícidos (*Anophelinae* y *Culicinae*) y de otros Dípteros; pero no se examinaron enfermos.

A través de un bosque, rico en lianas del caucho, y con una marcha que duró desde las doce de la mañana hasta las diez de la noche, alcanzamos á esta hora del mismo día 15 la Misión del Cabo de San Juan. El camino por el bosque entre Punta Mosquitos y Cabo de San Juan, se aleja mucho de la playa y atraviesa el río Iñañe ó Ñañe, que hay que recorrer luego en cayuco hacia el mar. En este trayecto sobre el río fueron halladas en gran número las moscas del género *Glossina*.

La Misión del Cabo de San Juan—refugio natural del viajero—está emplazada en lo alto de un cerro—cerca de 200 metros sobre el nivel del mar. Un pequeño *Decauville* llega desde la playa hasta la Casa-Misión. Recibidos con gran cariño por los Padres Misioneros, permanecimos en este lugar todo el día 16 y parte del 17. Fueron sometidos allí á examen clínico y hematológico 41 individuos indígenas y dos europeos; de muchos entre ellos se llevó á cabo también el examen microscópico de las deyecciones.

El 18 de Agosto estábamos en la desembocadura del Río Aye, que yo remonté durante algunas horas en cayuco, encontrando numerosas *Glossinas*, que los indígenas, habitantes de los míseros pueblos de la orilla del río, indican con el nombre de «*nbole*», y acerca de las cuales, y de sus costumbres y de su frecuencia, pudimos recoger interesantes noticias de viva voz de algunos de ellos, inconscientes observadores, cuyas enseñanzas no hay que desperdiciar. Igualmente, el hijo del jefe Mangamayo, del pueblo de Acuznam Angamayo, nos proporcionó datos de importancia acerca de la enfermedad del sueño en la comarca y nos indicó el caso de un enfermo del pueblo de Aierheni, en Río Benito, de nombre Onjaga, atacado desde hace tiempo por la enfermedad.

En la factoría de Río Aye (18 Agosto) fueron observados

cinco enfermos, entre ellos uno — Biong, de treinta años, del pueblo de Igeni, bujeba — tripanosomiásico y con los síntomas clínicos típicos de la enfermedad del sueño.

Parte por mar, parte siguiendo por tierra la costa, y pasando por numerosos pueblos balangues y combes, llegamos por la noche á Río Benito. Era mi intención remontar el Río hasta las cataratas; y este propósito obedecía también al deseo de visitar algunos pueblos emplazados, al parecer, según todos los datos reunidos, en una zona muy intensamente invadida por la enfermedad del sueño. Sin embargo, no nos fué posible llevar á cabo esta parte del programa porque las tribus pamues del interior, á pocos kilómetros ya de la costa, se hallaban precisamente en aquel momento en ruda guerra, y las autoridades locales creyeron oportuno y prudente aconsejarnos con insistencia para que renunciáramos al proyecto.

En la Misión de Río Benito fueron examinados el 19 y el 20 de Agosto 32 indígenas y cuatro europeos; entre los primeros se presentaron dos muchachos gravemente enfermos, tripanosomiásicos, uno de los cuales, Manuel Marocue, nos acompañó luego para ser sometido á observación metódica y tratamiento en el Hospital de Bata.

Desde el día 21 hasta el 30 de Agosto permaneció la Comisión en Bata. Me es muy grato testimoniar aquí nuestro vivo agradecimiento hacia el dignísimo Subgobernador de Bata, D. Narciso Aleñá, que nos auxilió con todos los medios, y hacia nuestro distinguido compañero D. Cesáreo Barco, Médico de aquel Hospital, cuya cooperación recordamos con verdadera complacencia.

Gran parte del tiempo fué empleado, durante esta primera etapa en Bata, en ordenar y reorganizar el material y los datos recogidos en el viaje por la costa; luego en preparar la expedición al Norte, que exigía nuevos medios, gran número de cargadores y repuesto de víveres y de material. Fué hecho en aquellos días un examen metódico de la sangre,

con repetidos recuentos de glóbulos, de los enfermos (tripanosomiásicos) Domingo Deché y Manuel Marocue; datos de interés acerca de la enfermedad del sueño nos proporcionaron el médico Dr. Barco y muy particularmente el Padre Domingo Ferré, Superior de la Misión de Bata, quien, en veintitrés años de residencia en el país, cree haber visto, en el territorio comprendido entre el Río Benito, al Sur, y el Río Campo, al Norte, cerca de veinticinco casos de tripanosomiasis humana; en la misma Misión se llevó á cabo, el día 28, el examen microscópico de las deposiciones de buen número de niños indígenas, comprendidos entre los siete y los diez y seis años de edad; por fin, el que suscribe y el auxiliar Sr. Ramón hicieron una excursión al pueblo de Ekuku, sobre el Río del mismo nombre, y allí observaron dos nuevos casos de tripanosomiásicos, uno de los cuales, Ibendjele, de veintitrés años, fué tenido en observación, algunos días, en el Hospital de Bata.

En conjunto fueron examinados, durante estos días, treinta y tres enfermos indígenas.

El día 30 se puso en marcha, con dirección al Norte, la expedición preparada en aquellos días, y compuesta de ochenta cargadores indígenas con el material de laboratorio, víveres, objetos de cambio, etc., dos capataces y tres criados indígenas y los tres blancos que componíamos la Comisión.

La expedición pernoctó en Utonde el día 30 al 31 de Agosto, y recorriendo el litoral, llegó á Punta M'Bonda á las tres y media de la tarde del 31. En este punto fueron examinados, del 1 al 4 de Septiembre, veintiún indígenas. Ejemplares de *Glossina* (probablemente *Gl. palpatis*) fueron encontrados cerca de la playa, en sitio próximo á la desembocadura del Río Envía ó N'Bía.

El 4 de Septiembre, á las once de la mañana, acompañados por el hijo del jefe indígena de Punta M'Bonda, James Malonga, que nos sirvió de guía, emprendimos la marcha para el interior, dirigiéndonos por el bosque al Río Campo.

Esta excursión, la más importante de la campaña por las dificultades materiales del viaje, duró quince días. Pasando por los pueblos de *Mekala*, *Ndsueman*, *Ebuleman*, *N'koo*, *Malen*, *Belon*, *Nbema*, *Edundje* y *Fulatchit* (que no se hallan indicados en el mapa 1 : 1.000.000 adjunto á este Informe) llegamos por la noche al pueblo de *Tum*. Fueron aquí examinados siete enfermos.

El día 5, bordeando y vadeando muchas veces el Río Diole, con tiempo cubierto, y siempre á través del bosque, llegamos á *Losok* ó *Nösok* y más tarde á *Ebengon* (á cerca de 250 metros sobre el nivel del mar), donde pernoctamos con la molestia de una invasión de *Phlebotomus*.

Del 6 al 8 descansó la expedición en *Mayó*, y allí recibimos la visita del jefe de la tribu de Pamues Samangundes, Mangebekada, que habita el pueblo de *Ndelefut*, y que nos expuso largas quejas á propósito de las frecuentes incursiones que los agentes comerciales de algunas casas alemanas del territorio colindante del Kamerun hacen en la comarca ocupada por la tribu, en la orilla izquierda del Río Campo ó Río Itembo, en pleno territorio español.

Estas quejas y la exposición de recientes hazañas cometidas por algunos cazadores de elefantes, procedentes de la orilla derecha del Río Campo, en las proximidades de los pueblos por nosotros recorridos hasta Ngoambang, fueron confirmadas después por los jefes de los pueblos de Ayamekén, Mbise y otros.

Fueron examinados en *Mayó* siete enfermos. Se capturaron numerosas *Stegomyia*, y en el próximo Río Otomayan algunas *Glossinas*. Sin embargo, indígenas y jefes de *Mayó* negaron la existencia de la enfermedad del sueño en este territorio y no supieron darnos indicación alguna acerca de ella.

Por los pueblos de *Mbise* y de *Ayamekén* llegamos el día 8 por la noche al de *Ntohakok*. Aquí fueron vistos ocho enfermos. Vinieron á saludarnos los jefes de las tribus Sam-

bira, Nkó y Anvené. Una lluvia torrencial, indicio cierto del comienzo de la época de lluvias, nos sorprendió el día 9.

Los días 10 y 11 en *Matamalón* (ó *Matalamalón*) tuvimos ocasión de observar con detenimiento un caso de lepra maculosa y recoger datos interesantes acerca de la difusión de esta enfermedad en la comarca circunstante, confirmados en los días siguientes en Nguambang, pueblo inmediato á la frontera del Kamerun alemán.

Pasamos en Ngoambang los días 12 y 13; fueron examinados en estas fechas 17 indígenas; las investigaciones hechas para averiguar la existencia de la enfermedad del sueño en la cuenca del Río Campo resultaron completamente negativas; á pesar de ello, se encontraron cerca de Ngoambang, en la maleza á lo largo del Río Mokúa, algunas Glossinas; fueron observados dos ó tres casos de lepra.

El 14 de Septiembre, guiados por el indígena Mangomavono, jefe del pueblo de Ngoambang I^o, alcanzamos por una senda de elefantes el Río Campo ó Río Itembo á la altura de las segundas cataratas. Allí fueron capturadas también algunas Glossinas.

Durante el regreso, que emprendimos en la noche del mismo día 14, aguas torrenciales no dejaron un momento de caer, transformando en charcos y arroyos el terreno y los senderos del bosque. Desde *Matamalón* hasta punta M'Bonda, entre el 14 y el 18 de Septiembre, en los pueblos de *Matamalón* y *Mbise*, fueron examinados 12 nuevos enfermos, particularmente algunos leprosos, y dos casos de Framboesia trópica (ó «pian»). En el pueblo de Mbise nos encontramos con el cabo del puesto militar de Punta M'Bonda, D. J. Morales, que, con algunos guardias indígenas, había venido á nuestro encuentro.

A nuestra llegada en Punta M'Bonda —desastrosa por la lluvia insistente— tuvimos la suerte de encontrar allí reunidos al Subgobernador de Bata, Sr. Aleñá, y al Teniente Coronel, Jefe de la Guardia Colonial, D. Julio Pantoja, de paso

el uno para Itika, y el otro para la desembocadura del Río Campo.

Dejamos Punta M'Bonda el día 20, y habiendo pernoctado en Utonde, llegamos de regreso á Bata el 21 de Septiembre, y allí forzosamente tuvimos que permanecer hasta el día 6 del siguiente mes de Octubre. En esta fecha embarcamos á bordo del vapor *Corisco* con rumbo á Santa Isabel. Durante las dos semanas de permanencia en Bata se examinaron nuevamente los enfermos tripanosomiásicos procedentes de Ekuku; repetidamente se llevó á cabo el recuento de hematies y leucocitos en los mismos, y se hicieron cuatro nuevas observaciones, entre ellas una en un blanco; se renovaron los pases de las siembras de cultivos bactericos, y se reorganizó el material recogido durante la expedición, llevándose á cabo además el examen y estudio de un hemoparásito (*Haemogregarina* ?) de unas tortugas, de especie todavía indeterminada.

Desde Santa Isabel, á los pocos días, el Dr. Illera y el Sr. Ramón, con el Veterinario del servicio Colonial, D. Juan Bravo — cuya actividad merece sinceras alabanzas —, volvieron á la isla de Elobey con objeto de recoger algunos animales de experimentación inoculados con *Trypanosoma gambiense* durante nuestra estancia en la isla en el mes de Agosto.

En aquellos días, el que suscribe se ocupó en disponer y organizar el material del nuevo laboratorio, procedente de la Casa Lautenschlaeger, de Berlín, y adquirirlo por cuenta del Ministerio de Estado.

Algunos enfermos nuevos, en conjunto 15, y cinco blancos, fueron examinados en aquel último periodo de nuestra campaña; y el día 9 de Octubre hubo que llevar á cabo la autopsia de un nuevo caso, clínicamente diagnosticado de enfermedad del sueño, del soldado indígena Oke, de Lagos.

El día 25 de Octubre, cumplida nuestra misión, empen-

dimos el viaje de regreso á España á bordo del vapor *San Francisco*, que el 11 de Noviembre ancló en el puerto de Cádiz.

En resumen: han sido observadas clínicamente durante nuestra expedición **373** personas; de ellas, **339** indígenas y **34** blancos, en su mayoría españoles.

De estos **373** enfermos, **322** fueron sometidos al examen de la sangre, en muchos de ellos repetidos varias veces. Los **34** europeos van incluidos en este grupo.

De los **288** indígenas sometidos al examen hematológico, aproximadamente el 92 por 100 presentó Microfilarias (embriones de *Filaria perstans* y de *Filaria loa* en su mayoría) en la sangre periférica. Algunos presentaron formas de Microfilarias de diagnóstico muy incierto y que merecieron al que suscribe atento estudio.

De los europeos *dos* solamente dieron resultado positivo (con embriones de *Filaria loa* en la sangre periférica).

En gran número fueron observados los casos de infección palúdica con hallazgo de parásitos, casi siempre de formas tropicales (*Laverania*) en la sangre periférica.

II

«Trypanosoma gambiense» y enfermedad del sueño en la Colonia.

Las primeras noticias acerca del probable origen de algunos casos de «enfermedad del sueño» observados en la isla de Fernando Póo fueron recogidas, como se ha dicho, en Santa Isabel, y nos las proporcionaron por un lado nuestros compañeros del Hospital María Cristina; por otro los Padres Misioneros, conocedores *ab antiquo* de la isla; y algunos particulares.

En los estados demostrativos de la estadística sanitaria de los Hospitales de Santa Isabel y de San Carlos, que publica periódicamente el *Boletín oficial de los territorios españoles del Golfo de Guinea*, se encuentran apuntados durante estos últimos años no pocos casos de enfermedad del sueño, algunos como dudosos, otros con diagnóstico cierto. Limitándonos á las estadísticas publicadas en 1909, aparecen en el artículo 180 del *Nomenclator*, en el capítulo de las «Enfermedades mal definidas»:

En Enero: (Hospital María Cristina, en Santa Isabel) *un caso*, fallecido.

En Febrero: (Idem íd. íd.) *un caso*.

En Marzo: (Idem íd. íd.) el mismo caso, fallecido.

En Abril: (Idem íd. íd.) *un caso*, fallecido.

Otros casos fueron observados durante los años anteriores. El Dr. Rocafort recuerda el de un portugués, Garabito de apellido, de la provincia de Veira baixa, de veinticuatro años, el cual vino á Fernando Póo, procedente de la isla del Príncipe, en el mes de Junio de 1908, y permaneció en Santa Isabel dos meses, prestando servicio, cuando su salud se lo permitía, en la casa de Comercio de Monteiro y Compañía. Se marchó en Agosto del mismo año, nuevamente con dirección á la isla del Príncipe, y de allí fué á Lisboa. Falleció, á consecuencia de la infección tripanosomiásica, en el Hospital Colonial de aquella ciudad.

Los médicos del servicio Colonial no disponían, sin embargo, hasta ahora, del material y de los medios suficientes para llevar á cabo el examen microscópico de la sangre, única investigación que puede proporcionar la absoluta certidumbre del diagnóstico y la definitiva comprobación del examen clínico. De estos medios dispondrá en lo sucesivo, puesto que ha quedado instalado, en Santa Isabel, un Laboratorio con material *ad hoc* que, sin duda alguna, podrá prestar grandes servicios á la ciencia y al país.

Ya en 27 de Diciembre de 1908, el Excmo. Sr. Goberna-

dor general D. José Centaño había publicado una Orden circular (1), referente á la enfermedad del sueño, recordando *varios casos ocurridos de antiguo, aunque de tarde en tarde, en la Colonia, especialmente en la parte oriental de esta Isla* (de Fernando Póo).

En los días de nuestra llegada á Santa Isabel se hallaba en el Hospital María Cristina una niña, María, natural de Concepción y procedente de aquel punto, de cuya observación se da cuenta más adelante (caso núm. 1.º) y que sin duda alguna contrajo la enfermedad en Concepción.

Los Misioneros, que sienten directamente todo el daño y el perjuicio que les proporciona la grave endemia para el desarrollo de su casa y Colonia en dicha parte de la isla, afirmaban que numerosos casos en un todo parecidos á éste se habían presentado y desarrollado delante de sus ojos en Concepción.

Casos de tripanosomiasis humana se observaron también — algunos de ellos por el Dr. Virto en el Hospital de San Carlos — en *Boloco*, y precisamente en los trabajadores de la finca de la Viuda de Vivour, de cuya dirección está encargado actualmente el Sr. Doughan.

El Sr. D. Emilio Sirvén, de la casa B. Roig, en San Carlos, asegura haber visto desde 1902 *cinco* casos de enfermedad del sueño, y con mayor exactitud recuerda dos casos observados en el año 1908, uno de ellos en Batete. Los dos murieron con el síndrome típico de la enfermedad y con infartos glandulares cervicales muy considerables. Uno de ellos, de veintisiete años, era un «Krumán» de Monrovia (República de Liberia), al servicio de la casa Roig, de nombre *John Paca*, el cual estuvo en San Carlos cuatro años. La enfermedad tuvo, al parecer, un curso clínicamente apreciable de un año. Falleció en Abril de 1908.

(1) Publicada en el *Boletín Oficial* de la Colonia del 1.º de Enero de 1909.

La Guardia Colonial, constituida de individuos indígenas, procedentes en su mayoría de la Costa continental y de las colonias limítrofes, proporciona un contingente de consideración de enfermos de hipnosís. Mas con estos datos nos hallamos enfrente de una grave dificultad, y es la de deslindar clara y terminantemente aquéllos que deban considerarse como *casos importados*, de aquéllos otros que, sin duda alguna, hayan tenido su origen en la Colonia—y en la isla más especialmente—, que son los solos que nos interesan para establecer el verdadero alcance de la endemia en los territorios españoles del Golfo de Guinea.

Las circunstancias especialísimas en que vive la raza *bubi*, que constituye la población indígena de la isla de Fernando Póo, apartada en su inmensa mayoría de todo trato y comercio con los europeos, dificultan en modo extremo el estudio y la determinación exacta de las condiciones de la endemia de tripanosomiasis en la isla.

Por otra parte, la importación periódica, muy abundante, de braceros del continente, constituye un nuevo factor que altera y perturba el valor de los datos estadísticos. Proceden estos braceros en su mayoría de Monrovia (República de Liberia), de Lagos, de Accrá, algunos del Kamerun y del Gabón (Congo francés), localidades todas que, ya directamente por estar invadidas por la enfermedad, ya indirectamente por hallarse en relación de vecindad con regiones infectadas no ofrecen garantía ninguna, y constituyen, en cambio, un continuo peligro.

He aquí ahora los casos por nosotros personalmente observados en Fernando Póo:

Caso I.—Niña de diez años, de nombre *Maria*, *bubi*; nació en uno de los villorrios de la Bahía de Concepción; se educó desde los cuatro años en la Misión de Concepción, hasta que, ya enferma, fué llevada al Hospital de Santa Isabel, donde actualmente se encuentra. No ha salido nunca de la isla.

Observada por primera vez el 23 de Junio de 1909.

Examen hematológico, 23-VI-909.—*Negativo:* Eosinofilia muy acentuada; 13-VII-909-10 $1\frac{1}{2}$ m. Preparaciones fijadas, teñidas, met. ROSS-RUGE (observadas posteriormente). *Positivo:* Numerosos embriones de *Filaria zperstans?* y algunos individuos de *Trypanosoma gambiense*.

Caso II - *Dongo*, de quince años, natural de Bata (Guinea continental española), desde hace diez meses al servicio del mulato Nicolás Taborda, en la finca Boa Entrada en Basupú (Fernando Póo). Antes de entrar al servicio de Taborda permaneció siempre en Bata. Desde hace tres ó cuatro meses empezó á quejarse de dolores lumbares y debilidad general. El dueño notó entonces que se quedaba dormido con mucha frecuencia y con gran facilidad. Tuvo fiebres altas de corta duración en el primer período de la enfermedad, y una erupción papulo-pustulosa (¿de *Kraw-Kraw?*) en todo el cuerpo. Asegura su dueño que si no se le llama para comer no pide alimento alguno.

Observado por primera vez el 23 de Junio de 1909.

Examen hematológico, 28-VI-909-10 m. - *Positivo:* *Trypanosoma gambiense* (escasos).

Caso III.—*Felisardo Godiño*, europeo, de Soto la Casa (Beira Baja), Portugal, de veinticinco años, practicante de la finca (ó «Roça») *Sundy* en la isla del Príncipe.

Salió de Portugal en 1904, dirigiéndose á la isla de Santo Tomé; allí quedó durante dos años; sufrió disenteria y fué atacado al parecer de una fiebre biliosa hemoglobinúrica que duró diez días y que fué curada con inyecciones de quinina. Al terminar esos dos años se marchó de Santo Tomé á la isla do Príncipe y allí permaneció cerca de un año, adquiriendo una enfermedad que fué diagnosticada de «enfermedad del sueño» por el médico militar del servicio colonial portugués DR. DAMAS MORA (1). Tenía ya entonces infartos glandulares cervicales. Vivía el enfermo en la misma finca *Sundy*, infestada por las moscas del género «*Glossina*» y llena de tripanosomiásicos (2). Fué sometido á tratamiento con atoxil durante pocos días. En Agosto 1907 vino desde Príncipe á Fernando Póo, y aquí permaneció hasta Octubre 1908; en esta fecha se marchó al continente (Río Muni)

(1) El DR. DAMAS MORA hizo parte, con el Dr. Correa Mendes, de la Comisión nombrada en 1907 por el Ministerio de la Marina y de las colonias de Lisboa, para el estudio de la enfermedad del sueño en la isla del Príncipe. Véase el *Informe* de dicha Comisión en *Archivos de Higiene é Path. exot.* Lisboa, 30 Nov. 1909, II, 2

(2) Los médicos de la Comisión portuguesa refieren en su *Informe* ya citado que en esta sola finca *Sundy*, de la parte Norte de la isla, examinaron 148 individuos, y entre ellos encontraron 66 tripanosomiásicos, comprendidos en ellos tres europeos. (Véase pág. 277 del fasc. 2 °, vol. II, 30 Nov. 1909, ya citado, de *Arch. de Hig. é Path. exot.*)

para el comercio del caucho por cuenta de la casa WOERMANN, llegando hasta Asobla. Volvió á Fernando Póo en Abril 1909, y desde entonces vive aquí. Nota gran abatimiento, cansancio fácil, tendencia al sueño. Observado el 27 Junio 1909.

Examen clínico. — Demacración. Infartos gland. linf. muy acentuados en la región cervical, parotídea y mastoídea. Hígado ligeram. hipertrof. Bazo al parecer en condiciones normales. Varicocele. Temperatura normal, Pulso 86.

Examen hematológico, 27-VI-909 (3 tarde). — *Negativo, 27-VI-909 (9 n.).* — *Positivo (preparac. secas, método ROSS-RUGE): Trypanosoma gambiense.*

Caso IV. — *Lepa*, de diez y ocho años, de Moka (centro de la isla de Fernando Póo) — bubi — estuvo algún tiempo en la playa de Concepción; en la actualidad se encuentra en la Misión de los Padres, de Concepción. Empezó la enfermedad hace seis meses.

Observado el 1.º de Julio de 1909 en Concepción (Misión).

Examen hematológico, 1-VII-909. — *Positivo: Filaria (embriones) ¿perstans?* — algunos *Trypanosomas*.

Caso V. — *Camachindo* — indígena de Bangumá (Sierra Leona), de veinte años, bracero. — Lleva cuatro años y medio en Fernando Póo, en la finca Santa María. — Ingresó el 30 de Junio en el Hospital de San Carlos. Empezó la enfermedad hace cuatro años.

Observada el 8 de Julio de 1909 en San Carlos (Hospital).

Fallecido el 15 de Julio de 1909.

Autopsia en esa misma fecha (cuyos resultados histopatológicos no han sido todavía estudiados).

El *examen hematológico* fué negativo. — No se pudo llevar á cabo el examen del líquido cefalo-raquídeo.

Caso VI. — *Domingo Deché*, de veintinueve años — del Senegal — Guardia Colonial indígena. Ha estado algún tiempo en Concepción. Desde hace seis años en Fernando Póo. Desde hace dos años en Santa Isabel. Ha tenido largos periodos de fiebres intensas. Desde hace un mes acusa gran decaimiento, cansancio, tendencia irresistible al sueño.

Examen clínico. — Infartos glandulares múltiples, cervicales, inguinales, del triángulo de Scarpa. — Hernia inguinal derecha. — Observado el 13 de Julio de 1909.

Examen hematológico, 13-VII-909 á las 10 1/2 m. — *Positivo, gran número de Microfilarias (F. perstans ?) y Trypanosoma gambiense.*

El *examen hematológico* fué repetido muchas veces en este enfermo, que siguió nuestra expedición en todo su recorrido y que se sometió á tratamiento con inyecciones de Atoxil (Adrian) á partir del día 30 de Julio, en Mebonde.

El día 15 de Julio, en Santa Isabel, le fueron extraídos 10 cent. cub. de sangre de la vena cefálica del brazo derecho, y con ellos fueron inoculados dos conejos de Indias y una cabra.

Las cuentas de glóbulos (hechas por el Dr. Illera) dieron:

22-VII -909 (Elobey)=R. 3.480.000; B. 10.000 p. milim cub.
24-VII -909 (id.)=R. 2.808.000; B. 7.200 id. id.
3-VIII 909 (Melonde)=R. 2.648.000; B. 7.200 id. id.
23-VIII-909 (Bata)=R. 2.974.800; B. 12.160 id. id.
23-IX -909 (Bata)=R. 2.750.000; B. 9.520 id. id.

El enfermo, muy mejorado, se halla actualmente en Madrid.

Caso VII. - *Oké*, soldado indígena de la Guardia Colonial, de Lagos, desde hace tres años en Fernando Póo; vivió mucho tiempo en San Carlos, luego en Santa Isabel. Notó el principio de su enfermedad en San Carlos, hace seis ú ocho meses. Ingresó el 18 de Septiembre de 1909 en el Hospital de Santa Isabel, con el síndrome clínico típico de la enfermedad del sueño. Falleció el 8 de Octubre, y fué practicada la autopsia por el Sr. Pabalán y por nuestro auxiliar Sr. Ramón y Cajal, recogiénose el material anatómo-patológico, que está sometido á estudio.

(Continuará.)

XXVI. — Viaje de estudio á la Guinea española.

Observaciones acerca del «Trypanosoma gambiense» y algunos otros Protozoos parásitos del hombre y de los animales.

POR GUSTAVO PITTALUGA

(Continuación).

Estos siete casos bastan para dar idea de los caracteres epidemiológicos de la tripanosomiasis humana en la isla. Se reflejan en ellos claramente los factores que contribuyen á la probable difusión de la enfermedad. Al propio tiempo se ve que ésta ha tomado carta de naturaleza, quizás desde hace mucho tiempo, en Fernando Póo, y que debe considerársela como endémica en la isla.

El caso de la niña María, nacida y criada en Concepción, y que nunca abandonó el territorio de la isla, es demasiado elocuente. No lo es menos el del bubi *Lepa* (caso núm. IV), sin contar los muy numerosos que vinieron presentándonos en Santa Isabel, dueños de fincas, comerciantes é indígenas, y los que se refieren en los datos recogidos de personas fehacientes.

Todo el valle que se abre enfrente de la bahía de Concepción desde lo alto de la Misión hasta la costa, y quizás desde más arriba, debe considerarse como invadido por la enfermedad. Abundan en ese territorio las moscas del genero *Glossina*, las cuales, en cambio, no se encuentran ni se conocen por los indígenas en el centro de la isla, en la meseta de Moka (1.100 m. sobre el nivel del mar) y en la región comprendida entre los dos lagos de Moka (1.800 m.) y de Loreto (1.262 m.). En ese valle de Concepción, y en la costa

que constituye la bahía del mismo nombre, en los villorrios de chozas bubí que suben desde el mar hasta la Misión, se halla desde hace tiempo establecido el foco endémico de mayor intensidad de tripanosomiasis humana en la isla de Fernando Póo.

Un segundo foco, desde luego más reciente, se halla en los alrededores de San Carlos. La intensidad de la infección aparece aquí menor hasta ahora; pero las condiciones especialísimas en que se encuentra esta zona por la continua inmigración de braceros procedentes de países invadidos por la tripanosomiasis y por la presencia de Glossinas, hace temer que muy en breve el foco de San Carlos adquiera difusión mucho mayor que el de Concepción, si no se opone al desarrollo de la endemia un franco y enérgico valladar.

De la parte Sur de la isla, casi deshabitada, ó habitada por escasos restos de población bubí, nada sabemos. En cambio, por las referencias de los dueños de fincas, no cabe duda de que casos esporádicos de la enfermedad se han observado en factorías ó fincas emplazadas á lo largo de la costa Occidental comprendida entre San Carlos y Punta Fraile, ó de la Oriental, entre Concepción y Santa Isabel. ¿Estos casos eran autóctonos, originarios de la isla, ó importados?

No pudiendo contestar directamente á esta pregunta, nos limitaremos á poner de relieve un hecho incontestable, y es que entran en Santa Isabel, en San Carlos, en la isla, en fin, completamente inobservados, numerosos casos de tripanosomiasis humana, procedentes de lugares infectados de la costa Occidental de Africa ó de la isla del Príncipe.

El ejemplo del portugués Felisardo Godiño (caso III) es harto demostrativo. Lo es también el del otro portugués, observado por el Sr. Rocafort en 1908.

Quedan los casos II (*Dongo*, de Bata), VI (*Domingo De ché*, senegalés) y VII (*Oké*, Lagos), en los cuales puede caer la duda de si llegaron á Fernando Póo enfermos ó adquirieron en la isla la enfermedad.

En el caso del muchacho *Dongo*, que procedía directamente de Bata (Guinea continental española), y que sólo diez meses antes había llegado á Fernando Póo, puede suponerse que el germen patógeno hubiese sido contraído en el continente. (En los pueblos *Bujebas* ó *Combes* que rodean á Bata no es rara la tripanosomiasis.) En tal caso, se pone una vez más de manifiesto la gravedad del peligro que para la isla representa la importación continua de braceros, no sometida á vigilancia ni responsabilidad alguna desde el punto de vista sanitario.

En los casos VI y VII es de suponer que la enfermedad haya sido contraída en la isla, y precisamente en el primero en Concepción, en el segundo en San Carlos.

En resumen: la isla de Fernando Póo posee un foco endémico de tripanosomiasis humana, de relativa intensidad en la bahía de Concepción; otro, inicial ó incipiente, en las cercanías de San Carlos; en los dos se hallan en número considerable las moscas del género *Glossina*; la enfermedad no se ha extendido por toda la isla ni ha logrado alcanzar la difusión é intensidad que le es propia en otras regiones, porque las moscas del género *Glossina* han sido, según toda probabilidad, importadas del continente en época no lejana y no se han extendido todavía mucho, y porque la población indígena de la isla vive en pequeños grupos muy separados los unos de los otros, condición poco favorable para la transmisión del germen; por fin, la isla se halla amenazada de un grave peligro por la continua importación de braceros en gran parte procedentes de lugares infestados por la tripanosomiasis.

Tales son los hechos—no ya las apreciaciones—que se refieren á la existencia del *Trypanosoma gambiense* en la isla de Fernando Póo.

Veamos ahora los datos recogidos en la Guinea continental española, en los dos distritos de Elobey y de Bata.

En el Hospital de Elobey el practicante Sr. Díaz, que desde

hace tiempo conoce el país, nos comunicó haber visto cinco casos típicos de enfermedad del sueño en estos últimos cuatro años. Todos ellos procedían de la cuenca del Muni. En el territorio de los afluentes del Muni, Río Congüe, Río Utongo y Río Utoche, la enfermedad es conocida por los indígenas de las tribus pamues, y hace estragos entre ellos desde hace muchos años. Aquí se halla, sin duda alguna, el foco más importante de la tripanosomiasis humana de las posesiones españolas del Golfo de Guinea. De allí procedía —del puesto de Kogo, en el estuario del Muni, entre la desembocadura del Río Congüe y la pequeña isla de Ibelo— el enfermo N'Bá, que falleció en Elobey durante nuestra estancia (véase el caso VIII). Del pueblo de Ibay, en el alto del Río Utongo (véase el Mapa adjunto), procedían dos casos, de que conserva exacta memoria y datos el Sr. D. Pedro Bengoa; el uno, *Boy*, hijo de un tratante de la Compañía Trasatlántica, que se llamaba Raumba Anguile, trabajaba á su vez como tratante en la casa John Holt, adquirió la enfermedad del sueño en Ibay y murió en Gabón en 1905; el otro, que se llamaba *Bediquihangue*, y era natural de Elobey grande, vivió largo tiempo en Ibay y allí enfermó; falleció de enfermedad del sueño poco tiempo después. En el territorio del Río Utamboni, que va desde la desembocadura del río hasta Asobla y Mbung, tanto en la parte española como en la parte que se interna brevemente en terreno francés, también es endémica la enfermedad, aunque con caracteres de menor intensidad y difusión. En Wermakogo es conocida por los pamues con el nombre de «*Uyó*», y se han dado casos recientes. En Asobla también nos dieron noticia de un caso; el enfermo nunca había salido de allí. Más arriba, en el alto Utamboni, ya la enfermedad es desconocida. En Mebonde, ni el jefe Obama ni los demás indígenas supieron darnos indicación alguna acerca de ella.

Los datos y las noticias adquiridas acerca de la enfermedad del sueño durante nuestro viaje por la costa desde Punta

Mosquitos á Bata, en Cabo San Juan, en Río Aye, en Benito, han sido ya referidos en parte, como también los que nos proporcionó el Superior de la Misión de Bata, P. Ferré.

D. Aurelio Santiuste, comerciante, que desde el año de 1899 vive en Bata, nos comunicó haber visto personalmente algunos casos de enfermedad del sueño, y exactamente recuerda *dos* de ellos, indígenas de la tribu «Bujeba», uno de diez y seis años y el otro de veintidós años aproximadamente. Este último, en efecto, estuvo en el Hospital de Bata en 1906-1907 durante un período de cerca de dos semanas. Ignórase en qué fecha exacta falleció. Recuerda el Sr. Santiuste el aspecto característico de este enfermo, demacradísimo, incapaz de todo movimiento.

Uno de los Misioneros de Bata afirmaba haber visto recientemente en Itika, muy cerca ya del Río Campo, en la costa al Norte de Punta M'Bonda, tres casos típicos de la enfermedad.

He aquí ahora los casos observados:

Caso VIII.— *N'Bá*, de la tribu Pamue de Río Benito, de veinte años de edad, Guardia Colonial. Ha prestado servicio en Kangañe (Río Utamboni, cerca de Wermakogo) en un principio, y posteriormente en Kogo, donde estuvo diez meses. Ha tenido muchas fiebres.

Observado, por primera vez, el 22 de Julio de 1909, en Elobey.

Examen clínico.— Demacración intensa. — Aspecto caquéctico.— Infartos glandulares submaxilares, parotideos, cervicales, del triángulo de Scarpa, etc., muy considerables.— Hígado grande.— Bazo muy aumentado de volumen.— Pulso frecuente (96-100). Temper. 37°,1.— Erupción de kraw-kraw generalizada.

Examen hematológico, 22-VII-909. — Numerosos embriones de *Filaria*.— 23-VII-909.— Idem íd.—24-VII-909.— *Positivo*: numerosos *Trypanosoma gambiense*.

En esta fecha se le practica la punción lumbar y se le extraen dos cm. cub. de líquido céfalo raquídeo, inoculándose un conejo com.; más tarde se le extraen cinco c. c. de sangre de la vena cefálica del brazo izquierdo y se inocular un mono (*Cynocephalus*).

Falleció en Elobey (Hospital) el 11 de Agosto. Practicada la autopsia á la una de la tarde de este mismo día. El material anatómo-patológico se halla actualmente en estudio.

Caso IX.— *Biong*, de Igeni, pueblo «bujeba» cerca de Río Aye, treint-

ta años. No ha salido nunca de su pueblo, en el cual, según nos refiere D. Pedro Bengoa, murió de enfermedad del sueño hace un año y medio un muchacho, *Mablán*, de veintidós años, que había estado en Fernando Póo. *Biong* está enfermo desde hace tres años. Empezó entonces á tener fiebres largas, con sudor intenso, que todavía duran. Sobrevino luego invencible tendencia al sueño, cansancio, cefalea.

Observado el 18 de Agosto de 1909 en Rio Aye (Factoría).

Examen clínico.—Caquexia.—Infartos glandulares submaxilares y cervicales evidentes; inguinales muy considerables.

Examen hematológico, 18-VIII-909. — *Preparaciones secas*, met. ROSS, teñidas en fecha posterior con ROMANOWSKY: *Positivo: Trypanosoma gambiense*.

Caso X.—*N^o Chaga*, de catorce años, de Mipemba (Punta Indungo). Ha estado hace años en Rio Miyogo, cerca del Rio Utoche. Desde hace un año empezaron los síntomas de la enfermedad del sueño (fiebres, luego tendencia invencible al sueño, demacración, atonía y apatía profundas).

Observado en la Misión de Rio Benito el 19 de Agosto de 1909.

Examen clínico.—Caquexia profunda.—Demacración extremada.—El enfermo no puede andar ni tenerse de pie. Grandes infartos glandul. supraclaviculares, cervicales, occipitales, inguinales, suprapitocleares, etc.

Examen hematológico, 19-VIII-909. — *Positivo: Trypanosoma gambiense* muy numerosos. Además, numerosas formas endoglobulares jóvenes de parásitos del paludismo (infección tropical por *Laverania malariae*).

Caso XI.—*Manuel Marocue*, quince años, «balengue» del pueblo de Bolondo (Benito), ha vivido siempre en su pueblo. Hace seis meses empezaron los síntomas de la enfermedad.

Observado en Benito el 20 de Agosto de 1909.

Examen clínico.—Demacración.—Infartos glandulares múltiples.—Aspecto estuporoso; atonía y apatía general.

Examen hematológico, 20-VIII-909. — *Positivo: Trypanosoma gambiense*. En sucesivos exámenes, Microfilarias.

A partir del día 21-VIII-909 en el Hospital de Bata.

21-VIII-909.—Cuenta de glóbulos: R. 4.060.000.—B.

23-VIII-909.— ídem R. 3.124.000.—B. 6.716

23-VIII-909.—2.^a ídem R. 3.024.250.—

27-IX 909.— ídem R. 1.237.200.—B. 10.936

Caso XII.—*Ibendjele*, de veintitrés años, de Ekuku. Ha estado una vez en Santa Isabel de Fernando Póo. También ha estado en el Rio Muni.

Tuvo fiebres intensas y prolongadas hace ocho meses. Tendencia invencible al sueño. Cansancio.

Observado en Ekuku (Bata) el 26 Agosto 1909.

Examen clínico.—La demacración no es muy acentuada. Infartos grandul. múltiples, especialmente cervicales, submaxilares, parotídeos, inguinales. Pulso frecuente y pequeño.

Examen hematológico, 26-VIII-1909.—*Positivo: Trypanosoma gambiense* numerosos. *Filaria*.

El 27-VIII 1909 se le extraen 5 c. c. de sangre de la vena cefálica del brazo derecho para inocular un conejo com. y una rata (*Mus decumanus*).

28-VIII-1909.—*Positivo: (Trypanos. abundantes)*. Cuenta de glóbulos: R. 2.437.200. B. 6.640 p. mm³.

Caso XIII. — *Nay*, veintiséis años—de Ekuku—ha estado en Libreville (Congo francés) y algunas horas en el Río Muni Empezó la enfermedad hace cinco meses con fiebres persistentes, luego con gran cansancio, cefalea y tendencia invencible al sueño.

Examen clínico.—Demacración, caquexia, infartos gland. múltiples, temblor difuso.

Examen hematológico, 26-VIII-1909 (en Bata).—*Positivo: (Trypanos. gambiense)*.

Tampoco dejan lugar á dudas estas observaciones hechas en Elobey y en el continente. El enfermo N'Bá (caso VIII) que falleció en Elobey el 11 de Agosto, había nacido en Río Benito y no había salido nunca de la Colonia, habiendo permanecido durante algún tiempo—desde que entró al servicio como guardia colonial—en Kangañe (cerca de Wermakogo, en el Río Utamboni), y después, durante diez meses, en Kogo. La infección debió, pues, ser contraída en uno de los tres sitios. Lo más probable—teniendo en cuenta que el enfermo había salido de Río Benito dos ó tres años antes—es que haya contraído la enfermedad en el Utamboni ó en el Muni.

El caso IX está bien claro. El enfermo, indígena del Río Aye, no había salido nunca de su pueblo. Allí, pues, fué contraída la enfermedad.

El caso XI es igualmente típico. El territorio de Río Benito, en una extensión considerable desde la desembocadura del magnífico río hasta las cataratas, está invadido por la enfermedad. El enfermo Manuel Marocue no había salido nunca

de Bolondo, pueblo cerca del cual se halla emplazada la Misión protestante y en que se han observado varios casos de enfermedad del sueño en los años pasados.

El enfermo N'Chaga (caso X) puede haber contraído la enfermedad de Miyogo, cerca del Río Utoche, ó en su pueblo, en Punta Indongo, en la orilla izquierda del Río Benito. La misma duda existe para el caso XII (Ibendjele). Sin embargo, todo indica que estos dos enfermos habían contraído la tripanosomiasis en el mismo lugar en que vivían, en Indongo el primero, en Ekuku el segundo, puesto que hacía mucho tiempo ya que habían vuelto y los síntomas primeros no se habían manifestado antes del regreso, sino muchos meses después. Lo mismo dígase en lo que atañe al caso XIII; si bien en los alrededores de Libreville (Gabón, Congo francés) la tripanosomiasis humana existe con carácter ligeramente endémico, es probable que el enfermo la haya contraído en Ekuku.

Inútil es repetir á este propósito que en todos los territorios indicados, á lo largo del Río Muni, del Utamboni, del Congüe, del Utongo y del Utoche, del Río Ñañe, del Río Aye, del Río Benito, del Ekuku, del Envía, y en otros sitios que en el mapa se hallan indicados, se encuentran en gran número las moscas del género «*Glossina*».

En cuanto á los caracteres de la enfermedad, aunque no es este el momento de hablar de ellos, me parece de sumo interés el insistir sobre un dato objetivo que debe considerarse como muy importante: me refiero á los infartos glandulares, especialmente cervicales, parotideos, submaxilares. En mi entender, por lo que hemos observado en nuestra expedición —y me acompañan en esta opinión otros clínicos é investigadores— todo indígena que tenga infartos glandulares de algún relieve y desde algún tiempo, acompañados de fiebres ó de un síndrome de atonía, apatía y decaimiento general, debe considerarse como muy sospechoso y ser sometido á examen como probable tripanosomiásico.

He aquí un criterio que podría facilitar grandemente la selección de los braceros importados en la isla de Fernando Póo, si algún día, como es de esperar, se adoptan medidas para evitar la rápida difusión de la enfermedad.

De todo lo expuesto resulta que en la isla de Fernando Póo se halla ya con carácter endémico la tripanosomiasis humana, aunque la enfermedad no se ha extendido todavía en proporción alarmante, ni ha atacado á los blancos (la proporción puede calcularse aproximadamente en un 2 por 100 de atacados), y que en la Guinea continental española el foco principalísimo de la enfermedad se halla comprendido entre el Río Utamboni y los demás afluentes del Muni al Sur, y el Río Benito al Norte. A lo largo de la costa que va desde el Río Benito hasta Bata la intensidad de la endemia disminuye, aunque alrededor de Bata (Ekuku), y entre Bata y Río Campo (Itika), se encuentran todavía algunos casos. En cambio, desaparece por completo la enfermedad en el territorio comprendido entre Punta M'bonda y Nguambang y recorrido por nosotros para alcanzar el Río Campo (Río Itembo) en el interior.

En todo este territorio, desde N'tum ó Tum hasta la frontera del Kamerun alemán en Ngoambang, los pamues de las tribus Samangunde y Sambira desconocen por completo la enfermedad. A pesar de nuestra insistencia, y del excelente intérprete y guía que llevábamos (1), no nos fué posible averiguar la existencia de un solo caso ni tener noticia de la enfermedad.

El hecho depende, sin duda alguna, de las relaciones

(1) El indígena James Malonga, hijo del jefe de Punta M'Bonda, de la tribu Urumi, tratante de la casa Woermann, y conocedor como pocos de aquel territorio, amigo de muchos jefes de pueblos y del mismo Mangebekana, jefe de los Samangunde, fué nuestro guía durante la expedición en el bosque desde Punta M'bonda á Ngoambang.

étnicas y comerciales de las tribus que pueblan estos territorios, con las de la costa por un lado, y por otro lado con las del «hinterland» de la Colonia, que proceden del Sur y del centro de África. Mientras estas últimas tribus—que pueblan en gran parte la región del alto Río Utamboni y la cuenca del Muni y de sus afluentes—están en relación directa con las del Gabón francés y de todo el inmenso territorio, invadido por la tripanosomiasis, del Congo y de sus afluentes, especialmente del alto Sanga; y por otra parte, los «balengues», los «bapujos», los «combes» y los «bujebas» de la costa, que se extienden desde Punta Mosquitos hasta Bata, mantienen constantes cambios comerciales y personales con otras regiones infectadas, proporcionando braceros á Fernando Póo, al Kamerun mismo, á Libreville y á todo el Congo francés, y comunicando con la isla del Príncipe, gravemente invadida por la enfermedad; en cambio los pamues «Samangunde» y los «Sambira», habitantes de la cuenca del Río Itembo, comprendida en los términos por nosotros recorridos, enemigos de los «bujebas» y en hostilidad, oculta ó manifiesta, con todos los pueblos de la costa, alejados por el interior de los focos centrales de la enfermedad (que se hallan hacia el Sur), se mantienen por ahora libres de la grave epidemia. Yo ignoro si en las mismas orillas del Río Campo ó Río Itembo, y particularmente en su parte más próxima al mar, en el territorio alemán, se han observado casos de tripanosomiasis. Afirmo, sí, que desgraciadamente se hallan reunidas también en esta región las condiciones necesarias y suficientes para que la enfermedad se desarrolle; y desde luego no es difícil que desde la costa, subiendo por el río, en cuyas orillas abundan las moscas del género *Glossina*, llegue á invadir pronto aquel mismo territorio todavía indemne por nosotros recorrido desde Punta N'bonda hasta Ngoambang.

Una cosa es, sin embargo, oportuno poner de relieve: me refiero á la mayor probabilidad de procedencia del peligro

de la parte alemana que de la parte española. En efecto, el comercio alemán por el Rio Itembo es de mayor consideración, las embarcaciones que por cuenta de alemanes lo recorren más numerosas, las incursiones de agentes y caravanas alemanas más frecuentes que las españolas, procedentes de la costa (de Bata ó de la desembocadura del Rio Campo). Recordaré tan solo que desde hace dos años no había llegado ningún español de la costa á Ngoambang, y por tanto, ninguna caravana; mientras que agentes comerciales, alemanes, de la casa Kuderling y otras, visitan con frecuencia, acompañados por cargadores y guías indígenas, aquel territorio.

Séanos, pues, permitido insistir sobre este punto para que las medidas profilácticas internacionales que se acuerde adoptar en tal sentido sean equitativamente distribuidas, y las consecuencias de su descuido ó de su abandono imputadas en su día á quien justamente corresponda.

Otra cuestión mucho más importante cabe ahora vislumbrar en estos breves comentarios. Y se refiere á las relaciones entre la isla de Fernando Póo y: 1.º, las islas portuguesas del Príncipe y de Santo Tomé; 2.º, la costa continental de la Guinea española; 3.º, los pueblos de los demás puntos de la costa de la Guinea continental.

La isla del Príncipe, que dista de la costa del Gabón cerca de 100 kilómetros, y de Fernando Póo, aproximadamente, 150, está tan gravemente invadida por la tripanosomiasis, que la Comisión portuguesa recientemente regresada de su viaje de estudios fija en el 25,5 por 100 la proporción de individuos tripanosomiásicos, sobre 1.836 examinados en el curso de poco más de un año (Octubre, 1907. Noviembre, 1908). Como se ve, la endemia en la isla del Príncipe ha adquirido una intensidad desconocida todavía en la isla de Fernando Póo.

Mas — hecho singularísimo — la otra isla portuguesa de Santo Tomé, que se halla 90 millas más al Sur de la del

Príncipe, está hasta ahora completamente libre de tripanosomiasis. Mientras en la del Príncipe se encuentran en número extraordinario las Glossinas, en la de Santo Tomé estas moscas no existen.

Evidentemente no han sido importadas todavía ó no han encontrado condiciones adecuadas para su desarrollo.

El hecho cierto es que Santo Tomé, mucho más importante que la isla del Príncipe por su extensión (50 kilómetros por 30 kilómetros) y por su población y riqueza, se halla indemne de la endemia tripanosomiasica.

Este hecho podría influir muy favorablemente sobre la eficacia de las medidas profilácticas, que es indispensable y urgente adoptar á propósito de Fernando Póo. En efecto, para la isla de Fernando Póo representan un peligro continuo, inminente y grave los cambios comerciales, las relaciones constantes con la isla del Príncipe. Dos ó tres veces al mes hay correo entre las dos islas: braceros y gentes de la una viene ó va á la otra. El caso del portugués Felisardo Godiño (caso núm. III) es ejemplo suficiente. Adviértase que se trata de un blanco. ¡Imagínese, pues, cuántos indígenas en esas condiciones habrán hecho lo mismo! Afirmemos una vez más que en la grave endemia tripanosomiasica de la isla del Príncipe hay que ver un peligro de consideración para la isla de Fernando Póo.

Por otra parte, no puede negarse tampoco que las relaciones directas con Fernando Póo pueden constituir una amenaza y un peligro para la isla portuguesa de Santo Tomé. Aunque en grado mucho menor que en la del Príncipe, la enfermedad es ya endémica en algunos puntos de Fernando Póo. Y Fernando Póo mantiene relaciones periódicas también con Santo Tomé. Luego á las autoridades portuguesas les importará mucho que las medidas de defensa por ellas adoptadas, ó en camino de adoptarse, con objeto de evitar que del Príncipe la infección se extienda — con hombres ó con Glossinas — á Santo Tomé, puedan aplicarse también á

los procedentes de Fernando Póo. Y teniendo en cuenta este interés internacional podría concertarse la adopción de medidas comunes entre los gobiernos coloniales de España y de Portugal, que garantizaran recíprocamente á Fernando Póo de la invasión del germen procedente del Príncipe y á Santo Tomé de la invasión del que pueda proceder de Fernando Póo.

En cuanto á las relaciones entre Fernando Póo y la Guinea Continental española, es ya cuestión de régimen interno, que con un poco de buena voluntad se resolverá convenientemente. El Reglamento de contrato de braceros para Fernando Póo, que es modelo de disposición legislativa y humanitaria, y la excelente institución del Curador colonial, que reside en Santa Isabel, y que conoce las procedencias de los varios grupos de braceros enviados desde el continente á las diferentes casas ó fincas en Fernando Póo, pueden ser base de un servicio de vigilancia fácil, sin excesivas trabas, pero tal que garantice á la isla de la introducción continúa de nuevos casos de tripanosomiasis.

Los braceros procedentes de Monrovia (República de Liberia), de Lagos, de Accrá ó del Kemerun y del Gabón (estos últimos más escasos), deberían ser sometidos igualmente á examen médico, aunque somero; y no sería inoportuno—si bien de eficacia muy escasa—el que se exigiera en el certificado de origen la declaración de la zona—infectada ó indemne—de que procede el bracero.

Las medidas profilácticas locales y directas contra las moscas del género «*Glossina*», conocidas con el nombre de moscas *tsé-tsé*, merecen estudio aparte.

Llegado á este punto de mi exposición, me es forzoso declarar, á guisa de conclusión, que si no se toman enérgicas determinaciones y no se hacen serios esfuerzos para oponerse á la invasión de la enfermedad, la tripanosomiasis humana habrá alcanzado dentro de muy pocos años en la isla de Fernando Póo la misma proporción alarmante, el

mismo grado de intensa endemia que actualmente padece la isla del Príncipe; y en el territorio del Muni, del Río Benito y probablemente del Río Campo, llegará á producir daños incalculables, puesto que la pérdida de vidas humanas, aun prescindiendo de razones sentimentales y humanitarias, acarrea el perjuicio económico del encarecimiento de la mano de obra, por la escasez de braceros indígenas y por la progresiva despoblación que ya viene lamentándose como supremo azote en algunas regiones del Centro de Africa, en estos últimos años castigadas en alto grado por la enfermedad..

Madrid.—Laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII.

XXXIV.—Viaje de estudio á la Guinea española.

Observaciones acerca del «Trypanosoma gambiense» y algunos otros Protozoos parásitos del hombre y de los animales.

POR GUSTAVO PITTALUGA

(Continuación).

Las observaciones emprendidas acerca del *Trypanosoma gambiense* consistieron principalmente:

- a) En el estudio del parásito vivo y móvil en la sangre periférica de los enfermos, examinado con preparaciones directas en fresco.
- b) En el examen detenido de preparaciones teñidas.
- c) En inoculaciones experimentales llevadas á cabo en conejos, cobayas, un cabrito y dos monos.
- d) En el estudio histológico de las moscas del género *Glossina* recogidas en Fernando Póo y en el continente en las zonas más invadidas por la enfermedad.

Voy á dar cuenta de estas observaciones, exceptuadas las de la última serie, que se refieren al estudio histológico de las *Glossinas*, puesto que ha sido emprendido dicho estudio hace poco, y los resultados que se obtengan serán comunicados en colaboración con el ayudante del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII, D. Luis R. Illera.

Morfología del parásito en la sangre periférica de los enfermos.— Durante estos últimos años, á partir de 1903, las investigaciones, numerosísimas, llevadas á cabo en las colonias alemanas, francesas, inglesas, portuguesas de Africa han proporcionado material abundante y datos y nociones

definitivas acerca del *Trypanosoma gambiense*. Como es natural, yo me limitaré, pues, á comunicar ahora los resultados de nuestras personales observaciones que aporten algún hecho nuevo, ó que en algo merezcan ser conocidos.

Para los caracteres generales del Parásito, que se hallan descritos en mis precedentes Memorias: *Sobre los caracteres morfológicos y la clasificación de los tripanosomas y Estudios acerca de los dípteros y de los parásitos que transmiten*, etc., publicados en 1905 por la REVISTA DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS, el lector podrá consultar, además, las obras fundamentales de LAVERAN y MESNIL (1), de DOFLEIN, de PROWAZEK, de MINCHIN.

Técnica.— El examen hematológico, directo en fresco, recogiendo la sangre entre cubre-objeto y porta-objeto, permite, á veces, con los animales de experimentación, observar en un solo preparado numerosos parásitos; pero en los enfermos tripanosomiásicos el resultado es muchas veces negativo; el número de Tripanosomas casi siempre muy escaso. Para asegurarse de la existencia de los parásitos, en particular cuando se persigue con una investigación metódica definir los períodos de latencia de los Tripanosomas en la sangre periférica, es oportuno emplear el método de ROSS-RUGE para la recolección de la sangre, método que, como es sabido, consiste en extender sobre el porta cantidades bastante considerables de sangre, de suerte que se forme una espesa capa, que, sin fijación previa ninguna, apenas secada, se somete á lavado prolongado en agua destilada abundante, en un amplio cristizador, logrando de esta suerte disolver y eliminar del todo la hemoglobina. Quedan las sombras de los estromas globulares que, solas, constituyen el fondo de la preparación, la cual, sometida luego á coloración sencilla, con azul carbonatado, ó aun á la de LEISHMANN, permitirá apreciar sobre el fondo pálido, apenas teñido, de los hematies

(1) *Trypanosomes et Trypanosomiasés.*—Paris, Masson. ed. 1904.

privados de hemoglobina, los leucocitos y las eventuales formas parasitarias.

Apresurémonos á declarar que este método, eminentemente clínico, y desde luego sugerido por ROSS para la apreciación rápida y segura de la existencia de parásitos ya englobulares (*Plasmodium*, *Laverania*, *Babesia*) ya libres (*Trypanosoma*, *Spirochaete*, *Microfilarias*, etc.), carece de cualquier aplicación para un estudio citológico, para un detallado examen morfológico de estos parásitos. En nuestras manos ha dado excelentes resultados para reunir buen número de embriones de *Filaria* en un preparado, y aun en este caso permite realmente obtener buenos efectos de diferenciación tintorial y poner de relieve con determinados colorantes (de los cuales en su tiempo hablaremos) la estructura de dichos embriones. Pero, en cambio, se ha demostrado del todo inadecuado para el examen de los *Tripanosomas*, á pesar de la afirmación de ROSS, de que «*in this method the parasites... are just as visible as in the thin film owing to the fact that the haemoglobin, the opaque element of the blood, not being fixed, has been washed out during the process of staining with aqueous stains*» (1).

(1) Estas palabras son exactamente referidas de la Nota publicada por RONALD ROSS con el título *The thick-film process for the detection of organisms in the blood* en «The Thompson Yates and Johnston Laboratories Report», vol. V, part. I, 1903, pág. 117. Una Nota precedente había sido comunicada por el mismo ROSS acerca del método indicado, en *The Lancet*, Enero 10 de 1903; microfotografías de preparados hechos con el método indicado fueron publicadas en *The Journal of Tropical Medicine* del 2 de Febrero 1903. Una comprobación, con ligeras modificaciones del procedimiento, fué publicada por RUGE en Marzo del mismo año en el *Deutsche Medizin. Wochensh.*, página 205. Más tarde (Junio 20 de 1903), BELL y LAINZ (*Lancet*, fecha indicada), aplicaron el método á la investigación del B. pestoso en la sangre. Finalmente, nuevas modificaciones é indicaciones del método fueron comunicadas en una Nota de ROSS, SALVIN-MOORE y WALKER (*A new Microscopical Diagnostic Method and some simple methods of staining liquid blood*) en *The Lancet*, 27 Julio 1907, página 219).

En efecto, aun cuando la eliminación de la hemoglobina permite obtener, en una capa muy espesa de sangre, una coloración casi nula del fondo, sin embargo los parásitos—especialmente los tripanosomas—resultan encerrados entre los sobrepuestos restos de los estromas globulares, sombreados por sus bordes persistentes, y en estas condiciones la coloración de ROMANOWSKY se obtiene difícilmente en toda su eficacia y con todo su resalte (1). La modificación de RUGE, que fija la preparación con una solución de Formol 2 por 100, y 1 por 100 de ácido acético (que no impide la disolución de la hemoglobina) no tiene otra ventaja más que la de impedir el posible arrastre de la capa de sangre durante el lavado. En cambio, á veces altera en algo la forma, aspecto y disposición de los parásitos. Haciendo el lavado con paciencia y con ciertos cuidados, siempre hemos obtenido la disolución de la hemoglobina sin que la capa de sangre se perdiera.

Para el estudio citológico, para el detenido examen de las formas parasitarias, es menester recurrir á las preparaciones extendidas en capa delgada, con el método típico, de cobre á cobre. Sin duda alguna, cuando no se opera con sangre procedente de animales de experimentación abundantemente infectados, y especialmente cuando se trata de enfermos con *Trypanosoma gambiense*, suele acontecer que en toda una preparación no se encuentre más que uno ó dos ejemplares del parásito; á veces, en muchas preparaciones, ninguno.

El método sugerido por LE DANTEC y otros, de someter

(1) Las soluciones colorantes sugeridas por ROSS en el trabajo indicado, y que consisten en: A) solución de 10 gramos azul de Metil. medic.; 5 gramos carbonato sódico; 1.000 gramos agua. B) solución Eosina 1 gramo en 1.000 gramos agua; han sido empleadas por nosotros con éxito, siempre que la solución de azul se deje envejecer ó se someta á la acción del calor hasta producción del Azur, que se reconoce por el aspecto rojizo, violáceo, á veces purpurino de la solución.

la sangre—mezclada previamente con algunas gotas de una solución de citrato sódico—á la centrifugación, recogiendo luego y examinando el sedimento y haciendo con éste las preparaciones, es útil en muchos casos; pero sin duda alguna altera la forma de los Tripanosomas, los cuales aparecen apiñados con excesivo número de leucocitos, y generalmente con el flagelo replegado sobre el cuerpo protoplásmico, sin que se puedan apreciar debidamente los detalles de su estructura.

Las preparaciones secas fueron teñidas, según el objeto de la investigación, ya con el azul carbonatado según MANSOON, ya con el método de KOCH, ya en la mayoría de los casos, con los métodos típicos de LEISHMANN ó de GIEMSA para la coloración de ROMANOWSKY. Preparados de comprobación fueron hechos á veces con el método de MANNABERG, con HEMATOXILINA-EOSINA y con otros que se indicarán en su lugar.

La frecuencia del *Trypanosoma gambiense* en la sangre periférica de los enfermos es muy escasa.

Sin embargo, debo hacer aquí una primera observación. Se afirma, por lo general, que en el último período de la tripanosomiasis humana, cuando los síntomas á cargo del sistema nervioso central dominan el cuadro sindrómico, los parásitos desaparecen del todo de la sangre periférica, ó por lo menos no se logra demostrarlos con el examen hematológico microscópico. Hemos visto casos en que esto se ha confirmado (*Camachindo, Oké*); pero hemos visto también otros casos, como el del soldado indígena Nbá, característico (falleció el 11 de Agosto en Elobey y fué diagnosticado por nosotros el 24 de Julio), y el de Río Benito, en los cuales el examen directo de la sangre reveló la presencia del parásito, y se hallaron numerosos ejemplares del *Trypanosoma* en una sola preparación, en fresco.

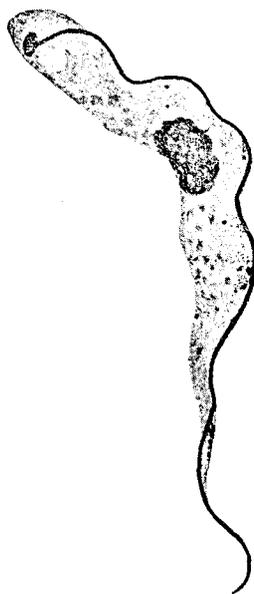
El *Trypanosoma* hallado por nosotros en los casos examinados y ya referidos presenta los caracteres siguientes:

Dimensiones comprendidas entre 18 y 29 μ de largo; 1 $\frac{1}{2}$

y $3 \frac{1}{2} \mu$ de ancho (con la membrana ondulante). Cuerpo refringente, con algunas finas granulaciones citoplásmicas. Flagelo relativamente corto, á veces acompañado casi totalmente, hasta el extremo límite de su longitud, por una delgada masa protoplásmica, de tal suerte que la parte libre desaparece. Núcleo esférico, ó ligeramente ovoideo, situado muy cerca de la mitad del cuerpo protoplásmico; centrosoma ó blefaroplasto ó kintonúcleo puntiforme, ligeramente ovoideo ó alargado, á dos μ de la extremidad anterior, generalmente redondeada.

La figura semi-esquemática que acompaña esta nota da idea clara del aspecto de este *Trypanosoma*.

Analicemos ahora con mayor detenimiento cada uno de estos caracteres, estableciendo las necesarias comparaciones, por un lado con los comunes *Trypanosomas* de los mamíferos y con el aspecto típico de *Trypanosoma gambiense* descrito por los precedentes autores, por otro lado con aquellas formas que en nuestras preparaciones, ya procedentes directamente de los negros tripanosomiásicos, ya de los animales de experimentación inoculados, presentan aspectos peculiares ó variaciones y divergencias del tipo morfológico dignas de atención.



Ante todo, es menester entenderse acerca de ciertos conceptos que recurren con frecuencia en el estudio de estas formas. LAVERAN y MESNIL (*), y con ellos los autores fran-

(*) *Trypanosomes et Trypanosomiasis*, Paris, Masson ed., 1904.

ceses en general, consideran como extremidad *anterior* de los Tripanosomas aquella que corresponde á la parte libre del flagelo, esto es, la extremidad opuesta á la del centrosoma ó blefaroplasto. Esta interpretación es, en nuestro entender, errónea. Ya no cabe duda acerca de las afinidades y de la filiación filogénica entre *Trypanosoma* y *Herpetomonas*; y en las formas del tipo *Herpetomonas*, ya pertenezcan á especies fijas, ya pertenezcan á períodos de desarrollo de Tripanosomas, como acontece en los cultivos, en las intensas multiplicaciones esquizogónicas por partición múltiple radiada (*Tr. lewisi*, etc.), el flagelo libre abandona el citoplasma por la misma extremidad en cuya proximidad se halla emplazado el centrosoma. Esta es la extremidad anterior.

¿Es posible cambiar el concepto de *anterior* ó *posterior*, fundándose tan sólo en las analogías funcionales, esto es, fijándose tan sólo en la dirección del movimiento de traslación? Nosotros creemos firmemente que no. En un tipo morfológico la extremidad anterior y la extremidad posterior se determinan por argumentos de *homología*, no sólo de analogía. Es verdad que, generalmente, los Tripanosomas observados en la sangre fresca del huésped vertebrado (mamíferos), entre ellos *Trypanosoma gambiense* del hombre, se mueven en la dirección marcada por el flagelo libre; pero ni este fenómeno es absolutamente constante, ni el concepto funcional bastaría para caracterizar la extremidad anterior del cuerpo. Tanto valdría en los Cefalópodos considerar como anterior la dirección del movimiento en las rápidas huídas determinadas por las contracciones del cuerpo y en el *Astacus fluviatilis* el movimiento retrógrado y en los Cangrejos el lateral. No. Los Trypanosomas se mueven en dirección posterior, y la extremidad anterior del cuerpo es la que encierra el centro cinético, el blefaroplasto. El movimiento ondulatorio de la membrana tiene su origen en una ondulación del flagelo libre, y por esto la impulsión es desde la extre-

midad del flagelo hacia el blefaroplasto; pero la dirección de la traslación del cuerpo no es argumento suficiente para alterar los conceptos de homología, tanto más cuando se trata al propio tiempo de cuerpos homodinámicos, comparando los *Trypanosomas* con las formas afines de flagelo anterior.

Llamaremos, pues, extremidad anterior la que encierra el corpúsculo basilar del flagelo (blefaroplasto) y extremidad posterior de los *Trypanosomas* la de que parte el flagelo libre.

En cuanto á la denominación del corpúsculo cromático basilar, parece conveniente avenirse á la indicada por WOODCOCK (1) y por MINCHIN (2), y adoptada por los alemanes, llamando *Kinetonúcleo* dicho cuerpo, y *Trofonúcleo* el núcleo propiamente dicho. Sin embargo, las dos expresiones no son enteramente correspondientes; esto es, el *Kinetonúcleo* de Minchim no corresponde exactamente, desde el punto de vista morfológico, al blefaroplasto ó centrosoma. El *Kinetonúcleo* es una formación especial que dirige en los períodos de actividad carioplástica la disposición y partición del flagelo (borde de la membrana), pero no se identifica del todo, no se confunde con el corpúsculo basilar que se halla á la extremidad anterior (en nuestro sentido) del flagelo mismo.

En nuestras preparaciones hállanse formas de división longitudinal de *Trypanosoma gambiense* (de algunas de ellas el Dr. Rodríguez Illera ha hecho buenas microfotografías). En ellas el *Kinetonúcleo* aparece, sí, claramente partido en dos masas cariosómicas, pero contrariamente á cuanto indican la mayor parte de los autores, entre ellos Laveran y Mesnil, etc., la separación de las dos masas cromáticas neoformadas es muy tardía en comparación con el proceso ya

(1) *The Haemoflagellates*.—A Review, etc.—*Quart. Journ. of Microsc. Sciences*, 1906, L. p. 151-231, por H. M. WOODCOCK.

(2) *Investigations on the Development of Trypanosomes in Tsetse Flies and others Diptera*. — *Quart. Journ of Micr. Sc.* LII, 1908, p. 159-260.

muy adelantado, de división de las membranas y del flagelo. Flagelos y bordes de la membrana ondulante aparecen en efecto ya totalmente partidos como si se tratara de dos tripanosomas completos, reunidos tan sólo por un estrecho, delgado resto de citoplasma común, en el cual se aprecian claramente dos trofonúcleos también separados.

En cambio, los dos bordes de la membrana ondulante se acercan, convergen hacia la extremidad anterior, y casi se reúnen confundándose en las dos masas cromáticas muy cercanas la una á la otra.

Durante el proceso de división esquizogónica de los Tripanosomas en la sangre periférica han sido observados por HARTMANN, PROWAZECK, MINCHIN y otros, fenómenos referibles á un verdadero proceso de autogamia. Acerca de estos fenómenos han escrito páginas luminosas, en estos últimos tiempos, en los «Archiv fur Protisten Kunde», HARTOG (1) y HARTMANN (2). Merece que nos detengamos en un breve examen de la cuestión, relacionándola con los hechos por nosotros observados.

(Continuará.)

(Laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII.)

(1) *Arch. F. Protistenk*, XVIII, 1.º, 1909.

(2) *Idem id.*, XVII, 2.

XL.—Viaje de estudio á la Guinea española.

Observaciones acerca del «Trypanosoma gambiense» y algunos otros Protozoos parásitos del hombre y de los animales.

POR GUSTAVO PITTALUGA

(Continuación.)

III

En los momentos que preceden ó acompañan la partición del cuerpo citoplásmico, en el proceso esquizogónico de los *Trypanosoma*, se aprecia claramente la independencia del corpúsculo basilar del flagelo y del aparato nuclear en su conjunto, esto es del trofo - y del kineto - nucleo. Entonces acontecen, en ciertas formas, los fenómenos de autogamia. La masa nuclear se desdobra, y el blefaroplasto aparece todavía casi totalmente único, ó se hace apenas visible su diferenciación en dos pequeñas masas cromáticas, una de las cuales poco después se acerca al centro, y por fin se funde con la masa nuclear anterior. La masa nuclear posterior, que resultaba del desdoblamiento de la primitiva, se resuelve entretanto en pequeños cuerpos cromáticos, constituye un residuo cromidial y se esparce en la totalidad del citoplasma, verificándose así una verdadera reducción nuclear, á consecuencia de la cual no sabemos si los materiales cromáticos expulsados serán destinados á sufrir una verdadera excreción ó bien si quedan almacenados en el citoplasma como acontece en los Amébidos.

A los hechos ahora apuntados se deben en parte aquellas formas que han sido descritas como «Trypanosomas sin

blefaroplasto» (*Blepharoplastlöse*) (*); se trata, pues, ciertamente, de formas que atraviesan ese período evolutivo, en que el Blefaroplasto ó Kinetonúcleo se ha fundido con la masa nuclear.

Las relaciones del flagelo con el blefaroplasto tienen gran importancia en la morfología de la célula. Con observaciones detenidas se logra, en efecto, convencerse de que á la terminación del borde de la membrana ondulante, en las proximidades inmediatas del blefaroplasto, existe una especie de pequeña bola, un cuerpo cromático independiente de todo punto del blefaroplasto mismo. Trátase, pues, de un aparato procedente de una diferenciación del protoplasma sin verdaderas relaciones de homología con los materiales cromáticos que constituyen la masa del blefaroplasto y que desde luego son de origen nuclear. Porqué este microscópico aparato locomotor ofrece la reacción colorante de la cromatina, es difícil averiguar en el actual estado de nuestros conocimientos acerca de la química celular. Pero cabe todavía preguntarse si efectivamente esta reacción á las substancias colorantes es idéntica á la de la cromatina del trofonúcleo y del kinetonúcleo, ó bien si se trata de un tono parecido debido en realidad á impregnación acidófila prevalente.

De estas cuestiones, que se relacionan con el aparato locomotor de los protozoos y de los protistas en general, se han ocupado recientemente varios autores, entre ellos YAMAMOTO (**), en el Instituto de Medicina tropical y naval de Hambourg, el cual ha comunicado un procedimiento nuevo de coloración que ha dado resultados interesantes, y que en comparación con los métodos de LOEFFLER para la coloración de los flagelos, de GOLGI, de VAN ERMENGHEM, de ZETTNOW,

(*) V. WERBITZKI-Centr. f. Bakt., 1910, Febrero, págs. 303, 315.

(**) Ueber den Lokomotionsapparat der Protistenzellen. Von DR. JUNIJ YAMAMOTO (de la Univers. de Kioto). Centr. f. Bakt., Bd, 53, H. I., 23 Diciembre 1909, pág. 38).

y con el clásico de la hematoxilina férrica de HEIDENHEIN, revela algunas particularidades de estructura dignas de nota.

El procedimiento de YAMAMOTO consiste:

1. En recoger con una asa de platino una pequeña cantidad de clara de huevo muy diluida, extenderla sobre un cubre-objetos y mezclarla con el material de estudio en una capa muy delgada. Los preparados así hechos se dejan secar al aire y se pasan luego rápidamente á la llama. Tratándose del estudio de los Trypanosomas hemáticos es indispensable recurrir á previa centrifugación del material recogido en soluciones de citrato sódico, para obtener cantidades suficientes de parásitos.

2. Se dejan estas preparaciones durante veinticuatro horas en una solución 5 por 100 de nitrato de plata en termotato (sumergidas en cápsulas de Petri).

3. Se pasan las preparaciones durante diez minutos en la siguiente solución reductora:

Acid. pyrogallici.....	2,00
Acid. tannici.....	1,00
Aqua destill..	100

Esta solución puede emplearse á las veinticuatro horas, mejor que si estuviera hecha en el momento.

Las preparaciones aparecen entonces con un precipitado negro, que desaparece lavándolas rápidamente en agua, ó que se quita pasando con suavidad sobre el preparado un papel de filtro impregnado de agua. Por fin, se secan y se montan en bálsamo.

YAMAMOTO ha estudiado con este método, que en nuestras manos ha sufrido algunas modificaciones, el *Vibron* del cólera, *Spirillum sputigenum*, *Spirochaete*, *Trypanosoma*, *Trichomastix*, *Trichomonas*, *Bodo lacertae*, *Mastigamaeba*, *Opalina ranarum*, *Colpidium*, Espermatozoos de varias especies.

La demostración de un corpúsculo basal ó granulación basilar («Basalkörner») en relación con los flagelos es definiti-

va con este método. El cual, al propio tiempo, permite determinar la existencia, de otro corpúsculo, en la extremidad terminal ó distal, libre, del flagelo, esto es, de una pequeña bolita ó expansión puntiforme, que efectivamente se aprecia también en muchas formas de *Trypanosoma*, y en nuestro caso en ejemplares numerosos de *Trypanosoma gambiense*, con suficiente claridad.

En cuanto se refiere á los tripanosomas, la observación minuciosa del borde filiforme de la membrana ondulante, elástico, bien definido, conduce YAMAMOTO á afirmar que el Blefaroplasto no tiene nada que ver con sus movimientos. La función del movimiento en los *Trypanosomas* es del todo independiente del entoplasma y del núcleo.

Según las conclusiones y la exacta frase de YAMAMOTO, la parte intermedia que une los dos corpúsculos basilar y distal, esto es, el filamento que en los *Trypanosomas* constituye el borde de la membrana ondulante y se continúa en el flagelo, no es más que la expresión de una persistente centrosmosis de los centriolos, un producto de la división de estos últimos, los cuales, se estiran alejándose el uno del otro y dan lugar al filamento alargado antedicho.

El desdoblamiento de este aparato en el proceso de división esquizogónica de los *Trypanosomas*, es autónomo, es independiente de los fenómenos de autogamia y de partición nuclear; es, en otras palabras, sencillamente la expresión del fenómeno de división citoplásmica en su parte ectoplásmica. Cuando esta división—manifiesta por la existencia de dos membranas ondulantes con sus bordes espesos—se halla ya adelantada, puede aparecer todavía único—como se ha visto—ó apenas partido el Blefaroplasto, que en estos casos procede de una anterior fusión autogámica de las masas cromáticas del trofo- y del kineto- núcleo de la célula madre.

MINCHIN, en una Memoria de suma importancia (*), publicada en los Proceedings de la «Zoological Society», de Londres, y acompañada por cinco excelentes láminas, pone de relieve el hecho que, dejando secar directamente la sangre extendida sobre los cubre-objetos sin una previa fijación rápida, algunas formas de hemo-parásitos se alteran considerablemente. MINCHIN habla, es verdad, en particular de los parásitos del género *Trypanoplasma*; es más, hace observar que los del género *Trypanosoma* se mantienen bien y se tiñen normalmente, aunque se sometan los cubre-objetos á una desecación inmediata; pero de todos modos, nosotros creemos, á consecuencia de nuestras observaciones, que en realidad sea muy preferible adoptar el procedimiento empleado por MINCHIN en el estudio de los Flagelados de los peces, y que consiste esencialmente en exponer durante 30-60 segundos á la acción de los vapores de una solución 4 por 100 de ácido ósmico los cubre objetos apenas extendidos, procurando que no se hayan secado todavía. Se colocan para ello pocas gotas de la solución 4 por 100 de ácido ósmico en el fondo de un pocillo, y encima, con la superficie que lleva la capa de sangre hacia abajo, se coloca el cubre-objetos. En seguida, en cuanto han pasado los 30-60 segundos, el cubre se traslada al alcohol absoluto. Las preparaciones así fijadas se tiñen bien con el Giemsa, con tal de dejarlas un tiempo mayor bajo la acción del colorante. Nosotros solemos dejarlas 24 horas. Es cuanto se requiere generalmente con todas las preparaciones sometidas á la acción del ácido ósmico.

MINCHIN sostiene que las apariencias del trofonúcleo y del kintonúcleo, particularmente de este último, en las preparaciones teñidas con Giemsa, no corresponden á la verdad en

(*) Observations on the Flagellates Parasitic in the Blood of Freshwater Fishes—by Prof. E. A. MINCHIN—(Proceedings of the General Meetings Zoological Society of London. 1909. Junio, pág. 230, con cinco láminas.)

cuanto se refiere á las dimensiones. Comparando esas preparaciones con las hechas con Hematoxilina férrica, la diferencia es evidente. En estas últimas siempre las dimensiones son menores. Esto acontece, según MINCHIN, porque la impregnación de la Cromatina en la reacción de Romanowski no se limita exactamente á la masa de los cuerpos cromáticos, sino que, en realidad, se extiende alrededor de su superficie, dando lugar á la formación de una verdadera capa periférica que aumenta las dimensiones exactas de los cuerpos.

De esto depende, con toda evidencia, que generalmente el Blefaroplasto, aparentemente aumentado de volumen, se confunda con la inmediata extremidad puntiforme del borde de la membrana, y aparezca como una sola cosa con ella.

*
* *

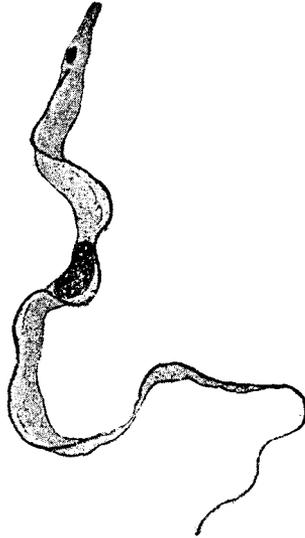
PLIMMER y BRADFORD (Centr. f. Bakt. Bd. 26, 1899, pág. 440 y Quart. Journal of microsc. Sciences, vol. 45, 1908) ya desde el año 1902 observaron y describieron en el Trypanosoma de la *Nagana* dos modos de multiplicación: uno directo ó agámico por división longitudinal (esquizogonia precedida á veces por autogamia), y otro precedido por un proceso de conjugación con desarrollo de cuerpos plasmódicos amiboides el cual se verifica en el bazo.

Desde entonces las observaciones acerca de la formación de gametos en los Trypanosoma han ido multiplicándose. Merecen ser recordados en particular los estudios de OTTO-LENGHI, que ha descrito macro- y micro-gametos, y ha sorprendido al parecer algunos momentos del proceso de conjugación de estas formas.

En muchas preparaciones de *Trypanosoma gambiense*, en particular en las de sangre de animales recientemente inoculados y de especie distinta de la originaria, hemos encontrado, efectivamente, formas tan alejadas del tipo normal, que

diffícilmente podrían interpretarse como pertenecientes á este *Trypanosoma*, si no tuviéramos la absoluta seguridad de su procedencia.

Entre estas formas abundan algunas sumamente alargadas y delgadas, de extraordinaria movilidad; ágiles y esbeltas en preparaciones directas en fresco, en preparaciones teñidas aparecen con kintonúcleo muy alejado de la extre-



midad anterior, y trofonúcleo ovoideo de dimensiones considerables; flagelo libre, largo y delgado. El aspecto característico de estas formas, en comparación con el del tipo morfológico ordinario del *Trypanosoma gambiense*, es el que se reproduce en la adjunta figura esquemática.

Al propio tiempo se encuentran en las mismas preparaciones formas gruesas y cortas, recias, de aspecto macizo, dotadas de escasa movilidad en las preparaciones directas en fresco, con kintonúcleo muy reducido, puntiforme y flagelo apenas esbozado, generalmente acompañado hasta el extremo límite por un borde de protoplasma espeso.

En nuestro entender, aquellas primeras deben realmente interpretarse como formas de gametos masculinos (microgametos); éstas últimas como formas de macrogametos.

Ahora bien; estas formas sexuadas, ¿son destinadas á desarrollarse tan sólo en un huésped definitivo, distinto del vertebrado; ó bien pueden dar lugar á un ciclo esporogónico en el mismo huésped, en el mismo torrente circulatorio, produciéndose quizás una invasión de los hematies y un ciclo endoglobular del parásito?

Tal es la cuestión importantísima que con distintos procedimientos se intenta resolver por diferentes investigadores. Cuestión que, por otra parte, no atañe solamente al *Trypanosoma gambiense*, sino que en general abarca la totalidad de estos flagelados parásitos.

Aun cuando no nos sea dable por ahora aportar datos definitivos, capaces de resolver el problema, no dejaremos, sin embargo, de consignar los resultados de los estudios de estos últimos años y de nuestras personales observaciones á este propósito.

BATTAGLIA ha publicado una serie de trabajos acerca de un *Trypanosoma* de los murciélagos (*Trypanosoma vespertilionis*) y del *Trypanosoma Lewisi* (Dr. MARIO BATTAGLIA—Alcune ricerche sopra due Tripanosomi: Tr. vespertilionis, é Tr. Lewisi—en «Annali di Medicina navale», Roma, Novembre 1904), y recientemente del *Trypanosoma* de la Nagana (Einige Untersuchungen über das Trypanosoma Nagana — en Centralblatt f. Bakter., Orig. LIII, 2, 7 Enero 1910, pág. 113), en los cuales describe un ciclo endoglobular del parásito. (Véase también «Annali di Medicina navale e coloniale», 1908, número 6; y Centr. f. Bakg. Bd. 47-49, 1908)

Formas parecidas á las que BATTAGLIA describe, especialmente en esta última Memoria, y á las que MOORE vió durante sus investigaciones en la Trypanosomiasis del ganado vacuno en la Nigeria, hemos encontrado nosotros en los animales infectados con el *Trypanosoma gambiense*.

Se trata de pequeños cuerpos esféricos y ovoideos, á veces en forma de «comas» con gruesos gránulos refringentes, que en preparaciones teñidas adquieren coloración de la cromatina.

Antes de pasar á describir detalladamente las formas por nosotros halladas y dar la interpretación correspondiente, veamos cómo interpreta BATTAGLIA el ciclo esporogónico que dice haber determinado en el mismo huésped vertebrado (*).

BATTAGLIA estudia detenidamente el proceso de la enfermedad en los animales de experimentación, describiendo con interesantes detalles los síntomas y las lesiones anatómopatológicas, resumidas en XL estados en su última Memoria. Esta parte del trabajo de BATTAGLIA presenta sin duda un gran interés científico. Pero en lo que se refiere á la descripción é interpretación del ciclo de desarrollo del parásito en el huésped vertebrado, las afirmaciones de BATTAGLIA, y sobre todo las figuras que acompañan á su trabajo, no son del todo convincentes.

A los cinco días de haber hallado en la sangre de los animales infectados con *Trypanosoma Brucei*, las formas amiboideas intraglobulares, obsérvanse, según BATTAGLIA, en el torrente circulatorio formas amiboideas extraglobulares, libres en el plasma, esféricas ó fusiformes, y algunas con flagelo, todas ellas movibles, y—en los preparados teñidos—ricas en Cromatina (**).

(*) V. Centralbl. f. Bakt., 7 Enero 1909, pág. 117: «..... die Sporogonie war nur im Zwischenwirt (SCHAUDINN und KOCH) bekannt; ich habe sie in demselben Tier für das *Trypanosoma vespertilionis* und das *Tr. Lewisi* und vor kurzem, bei meinem letzten Untersuchungen; auch für das *Trypanosoma Brucei* nachgewiesen».

(**) *Loc. cit.*; «Innerhalb 5 Tagen beobachtete man im zirkulierenden Blute des experimentell mit *Trypanosoma Brucei* infizierten Tieres sowohl in Frischpreparaten wie in gefarbten, die rundliche und die spindelförmige amöbische extraglobuläre, und die rundliche Form mit und ohne Geißel. Diese Formen waren in den Frischpreparaten sehr beweglich und erschienen in den gefarbten preparaten reich an Chromatin.» (Pág. 160.)

A los ocho días se encuentran, según BATTAGLIA, en la sangre formas diferentes que detalladamente describe (página 160), y que se parecen ó corresponden á las observadas por SCHAUDINN y R. KOCH en los huéspedes invertebrados de los Trypanosomas por ellos respectivamente estudiados (*).

Tomando como punto de partida estas formas, BATTAGLIA describe un verdadero proceso de esporogonia en la sangre del vertebrado, lo mismo como se observa, según el mismo autor, en el caso del Tripan. Lewisi y en el Tr. vespetilionis, con formación de Macrosporas y Microsporos, de Microsporidios y Macrosporidios en la sangre circulante.

Para ello se apoya en tres criterios: 1.º, el criterio morfológico (existencia de formas parecidas á Macrosporos y Microsporos, etc.); 2.º, el criterio biológico, ciertamente muy importante (y que consiste esencialmente en la consideración de la posibilidad de conservar durante largo tiempo el Trypanosoma Brucei— como cualquier otro Trypanosoma— virulento con sencillos pases de uno á otro animal de experimentación aun de la misma especie; esta persistencia de la vitalidad no se comprende, sin un período de reproducción esporogónica (**); 3.º, el criterio experimental (puesto que la enfermedad se transmite, el parásito se inocula y se reproduce con toda su virulencia cuando no se hallan en la sangre otras formas más que las correspondientes á este supuesto ciclo esporogónico).

(*) «Alle diese Formen ahneln denjenigen, welche SCHAUDINN und R. KOCH in den Zwischenwirten der von ihnen untersuchten Trypanosomen beschreiben haben.» (Págs. 160, 161.)

(**) «Es ist dies eine in fast allen bakteriologischen Laboratorien bekannte Tatsache, wo man Trypanosomen besitzt und dieselben im lebenden Tier, durch lange und wiederholte Uebergänge seit Jahren konserviert. Das Nagana-Trypanosoma, mit welchem ich Versuche ausgeführt habe, kann man durch Verimpfung von Tier auf Tier ungefähr 2 Jahre verwahren» (pág. 163).

Un interesante estudio del *Trypanosoma vespertilionis* (Battaglia), ha sido hecho por GONDER, en el Instituto para las enfermedades tropicales de Hamburg (*). En esta Monografía Gonder describe detalladamente las formas de desarrollo del *Trypanosoma vespertilionis* encontradas en un acaro ectoparásito de los murciélagos en general, hallado en las especies — por él estudiadas — *Vesperugo kuhlii*, *V. pipistrellus*, *V. serotinus*, *V. noctula*, *Rhinolophus euryale*.

Se trata del *Leiognathus arcuatus*, en cuyo tubo intestinal ha encontrado las formas en cuestión, que deben considerarse desde luego como fases de desarrollo del *Trypanosoma*, en un ciclo esporogónico previa copulación.

Muy demostrativas son las figuras de las dos láminas de Gonder.

En la primera se hallan reproducidas las formas de la sangre del huésped vertebrado. En la segunda las del intestino del *Leiognathus*. Entre las primeras merecen fijar la atención una forma de división con blefaroplasto bipartido y núcleo con 8 cromosomas; las figuras de reducción del blefaroplasto, y, por fin, las de las formas femeninas y masculinas, las cuales desde luego corresponden grandemente á las halladas por nosotros en el *Tr. gambiense*. Entre las segundas son muy numerosas las formas de *Crithidia*, y dignas de atención las de los *Ookinets*. Pero en cambio, no se hallan en el trabajo de GONDER pruebas de la existencia de un ciclo endoglobular, ni de que la cópula pueda acontecer, entre micro- y macro- gametos, en la misma sangre del vertebrado.

Interesante para el estudio de las formas evolutivas de los *Trypanosomas* en los huéspedes intermediarios es la Memoria de E. RODENWALDT. — *Trypanosoma lewisi* in *Haematopinus Spinulosus* (Centralb. f. Bakter., Orig., Bd. 52, H. I.,

(*) *Trypanosoma vespertilionis* Battaglia — von Dr. Richard Gonder. Assistente. am Instit. — (Centralb. f. Bakter., Bd. 53, H. 3, 2 de Febrero 1910, pág. 293, con 2 láminas y una fig. en el texto.)

18 Octubre 1909, pág. 30), memoria acompañada por tres láminas.

Como dice muy acertadamente RODENWALDT, la dificultad para resolver el problema de la existencia de un ciclo de desarrollo de los Trypanosomas parecido al de los Hemosporidios en los huéspedes invertebrados, aumenta extraordinariamente por la presencia de las formas de parásitos naturales, propios de los insectos, y en particular de los Dipteros, como las del género *Crithidia* y las del género *Herpetomonas*, que son sumamente parecidas á ciertas fases de desarrollo de los mismos Trypanosoma (*).

Sin embargo se ha abusado mucho, según RODENWALDT, de este argumento. En el caso de Trypanosoma Lewisi, cuya transmisión por el *Hematopinus spinulosus* ha sido estudiada por V. PROWAZECK, NUTTALL, PATTON, STRICKLAND, ha sido descrita con el nombre de *Crithidia haematopini* n. sp. (*Patton*), una forma que en realidad no se encuentra en los piojos (*Haematopinus*) de las ratas no infectadas de Trypanosoma.

Las investigaciones llevadas á cabo por RODENWALDT le permiten, desde luego, formular esa conclusión. Por tanto, la especie *Crithidia haematopini Patton* probablemente no existe (**).

En cambio, siguiendo día tras día los cambios y las trans-

(*) «Das problem, ob es bei den Trypanosomen und ihren nächsten Verwandten einen Entwicklungskreis gibt derselben Ast wie bei den Hämosporeidien ist, ungelöst, weder im positiven Sinne seines Vorhandenseins noch im negativen seiner Nichtexistenz. «Es ist im wesentlichen ein einziges, immer wiederkehrendes Argument mit welchem den aus den Insektenmagen beschriebenen sogenannten Entwicklungsformen der Trypanosomen begegnet wird, das Argument es handle sich bei diesen Formen um eigene Parasiten (natural parasiten) der betreffenden Insekten aus der Gattung *Crithidia* und *Herpetomonas*.

(**) «..... die sogenannte *Crithidia haematopini Patton* existiert also nicht.» (Loc. cit., pág. 32.)

formaciones sucesivas que sufren en el tubo digestivo del *Haematopinus* las formas de *Trypanosoma* procedentes de la sangre de las ratas infectadas, se logra poner de relieve tanto en preparaciones frescas, como en preparaciones teñidas, la estructura de las nuevas formas pertenecientes al ciclo de desarrollo del *Trypanosoma* y sumamente parecidas sin embargo á las descritas como *Crithidia* y como *Leptomonas*.

RODENWALDT describe también una forma sin flagelo, que interpreta, aunque en modo dudoso, como probable *Ookineto*. Las figuras de su lámina no son en este sentido muy demostrativas.

Entre las más interesantes investigaciones de estos últimos tiempos deben citarse las de KLEINE «Sobre la etiología de la enfermedad del sueño», publicadas en *Deutsche Medizin. Wochenschr.*, 22 Julio de 1909.

KLEINE ha logrado presenciar la transformación del estado de ninfa al de insecto perfecto en 540 ejemplares de *Glossina palpalis*, y en éstas ha obtenido repetidas veces el desarrollo del *Trypanosoma gambiense*. Más exactamente, entre 410 moscas que habían chupado sangre de animales infectados, 22 (esto es, aproximadamente el 5 por 100) quedaron á su vez infectadas. Adviértase, sin embargo, que la mortalidad entre las moscas del género *Glossina*, en estado de captividad, es muy grande, alcanzando hasta el 50 por 100. Y esto vale tanto para las que no hayan sido infectadas como para las infectadas. Entre las que murieron, es de suponer que la proporción de infectadas habrá sido la misma como entre las supervivientes que han podido examinarse. Por lo tanto, la proporción total aumenta, y puede fijarse en un 10 por 100.

Los experimentos de KLEINE han sido hechos por medio de Monos inoculados anteriormente con sangre de enfermos de la enfermedad del sueño. Con gran cuidado, las moscas que habían chupado durante un día, eran aisladas para evi-

tar que volvieran á chupar, con objeto de fijar con probabilidades de acierto la proporción de las que presentaran formas evolutivas del Trypanosoma en el tubo digestivo. Las moscas eran sacrificadas en días sucesivos y examinadas en todos sus órganos separadamente: intestino posterior, medio y anterior, proventículo, glándulas salivares, trompa.

De todos estos órganos, el más importante es, sin duda alguna, el intestino. En el jugo intestinal obtenido y examinado, ya sea aislando antes el intestino con el procedimiento acostumbrado, ya sea sencillamente exprimiéndole del cuerpo del díptero cortado en correspondencia de la mitad del abdomen, ha encontrado KLEINE siempre — en los casos positivos — formas típicas de Trypanosoma gambiense. En los demás órganos se encuentran, en cambio, formas muy distintas de las que corresponden al tipo morfológico: grandes Trypanosomas con largo núcleo estratificado y ovillos inextricables de Trypanosomas filiformes, con gruesas agrupaciones de gránulos de cromatina. En las glándulas salivares ha encontrado á veces parásitos, pero no en modo constante, aun cuando se hallaban éstos en abundancia en el contenido intestinal. Piensa por esto KLEINE que la infección de las glándulas salivares no sea necesaria para la transmisión del parásito.

El ciclo de desarrollo del Trypanosoma en las Glossinas, continúa durante mucho tiempo, y desde luego, el periodo durante el cual las moscas infectadas pueden transmitir la enfermedad, dura algunas semanas. El hecho ahora apuntado, cuya importancia no necesita encarecerse, está en completo acuerdo con lo que otros autores, BRUMPT, MINCHIN, particularmente TAUTE, han observado en la transmisión del Trypanosoma de la Nagana. TAUTE tuvo una Glossina que á los ochenta y tres días de haber sido infectada transmitía todavía el parásito.

(Continuará.)

XXVIII.—Viaje de estudio á la Guinea española.

Observaciones acerca del «*Trypanosoma gambiense*» y algunos otros Protozoos parásitos del hombre y de los animales.

(Continuación.)

POR GUSTAVO PITTALUGA.

III

Ninguno de los trabajos hasta ahora citados resuelve de una manera definitiva y certera el problema de la supuesta evolución sexuada del parásito (*Trypanosoma gambiense*), en el huésped invertebrado.

Por otra parte, el estudio de las formas de *Trypanosomas* halladas en las moscas del género *Glossina*, llevado á cabo con serias observaciones por FREDERIK NOVY (1), ha conducido á sentar conclusiones muy alejadas de las que hubieran podido esperarse. Las formas descritas por NOVY no parecen tener nada de común con el *Trypanosoma gambiense*, y sí constituir una especie nueva: *Trypanosoma grayi*, huésped frecuente, y al parecer inofensivo, del tubo intestinal de las *Glossinas*, en particular de la *Glossina palpalis*; del mismo modo que los flagelados del género *Herpetomonas*, se encuentran en el tubo intestinal de otros muscudos; del mismo modo, también, como la *Crithidia melophagi* se hospeda en gran número en la cavidad intestinal del *Melophagus ovinus*, y otros parásitos del mismo género (*Crithidia*), en otros dípteros y en los mismos mosquitos.

Las razones que aduce NOVY son de gran peso. Ante todo,

(1) The Trypanosomes of tsé-tsé Flies.—(*The Journal of Infectious Diseases*, Mayo, 1906, pág. 394-411.)

con las formas encontradas en las *Glossinas* examinadas en condiciones naturales, no se ha logrado transmitir la infección á los animales de experimentación. En segundo lugar, no se ha logrado tampoco determinar con claridad un proceso de reproducción—ya sexual, ya agámica—de los *Trypanosomas* patógenos ó no, en las moscas del género *Glossina*, alimentadas con sangre de animales infectados. Por fin, el tamaño, el aspecto, las analogías de las formas de *Trypanosomas* observados en las *Glossinas* por GRAY y NOVY, demuestran que éstas no tienen nada de común con el *Trypanosoma gambiense*.

Claro es que semejantes conclusiones se hallan profundamente quebrantadas por el hecho indudable, averiguado en fecha más reciente (KLEINE, BRUCE, etc.), de la transmisión efectiva del *Trypanosoma* por medio de las *Glossinas*, desde un animal enfermo á un animal sano, y de la existencia de un largo período de virulencia de dichos insectos.

Sin embargo, hoy por hoy desconocemos los pormenores morfológicos del proceso evolutivo del parásito, su localización en el huésped invertebrado, y los caracteres y las condiciones en que se desarrolla.

Las cuestiones formuladas en los comienzos de este estudio merecen, por lo tanto, toda nuestra atención. ¿Existe acaso una reproducción sexuada de los *Trypanosomas* en el mismo medio hemático, en el huésped vertebrado? ¿Se forman en la sangre del vertebrado los gametos destinados luego á la producción de un cigote en el huésped invertebrado? ¿En cuáles circunstancias, en qué momento esto acontece?

En los animales de experimentación—monos, perros, conejos, cobayas—varía extraordinariamente el modo de presentarse del *Trypanosoma gambiense* en la sangre periférica: varía en la cantidad, esto es, en el número, y en la cualidad, esto es, en la forma; y varía entre límites extremos, en realidad sorprendentes.

Las láminas I y II, que acompañan al presente fascículo de la REVISTA, revelan bien á las claras las diferencias del tamaño y del aspecto de los Tripanosomas observados en nuestras preparaciones, todas ellas procedentes de sangre de animales inoculados con *Trypanosoma gambiense*.

Quizás sea el perro — contrariamente á lo que han dicho algunos autores— el animal en que puede estudiarse con mayor oportunidad la marcha de la enfermedad experimental y al propio tiempo la variación en el aspecto y en el número de los parásitos en la sangre periférica.

A los ocho ó diez días de haber practicado la inoculación por vía subcutánea con 1 c. c. del virus (*Trypanosoma gambiense*) procedente del hombre ó de otro animal (mono) hemos observado constantemente la presencia, en la sangre periférica del perro, de las formas comunes de *Trypanosoma gambiense*, correspondientes al tipo representado en la figura dada en la pag. 559 (tomo VIII) de esta REVISTA. Sólo más tarde el aspecto de las formas hemáticas del parásito se modifica. A las tres ó cuatro semanas, por lo general, después de la inoculación, empiezan á aparecer las dos formas que el lector hallará representadas, respectivamente, en las figuras 5-8-19 de la lámina II, y 6-16-20 de la misma lámina. Y no se crea que las figuras citadas reproduzcan tan sólo los tipos extremos, y por tanto excepcionales, de estas dos formas, de tan distinto aspecto, del parásito: al contrario, en nuestras preparaciones abundan las del uno y las del otro tipo, correspondiendo en todo (dimensiones, estructura), á las reproducciones gráficas que acompañan al presente trabajo.

Coinciden á veces en los mismos campos, á la observación microscópica, una forma larga, de 30 á 40 μ , delgada, de 2 μ , 2 $\frac{1}{2}$ μ de ancho, con trofonúcleo alargado, ovoideo, intensamente teñido, con blefaroplasto más ó menos alejado de la extremidad anterior (posterior, según LAVERAN y MESNIL), con largo flagelo libre (fig. 10, 12 de la lámina I;

figura 6, 16, 20 de la lám. II); y una forma gruesa, corta (de 12 á 20 μ), sin flagelo libre, con blefaroplasto situado muy cerca de la extremidad, y núcleo esférico, menos intensamente teñido, de tal suerte, que permite á veces discernir el número de cromosomas y los detalles de la estructura nuclear (fig. 8 de la lám. I, fig. 5, 7, 8, 9, 19, de la lám. II.)

Si se observan con detenimiento estas formas en preparaciones directas, en fresco, se aprecian nuevos caracteres diferenciales que merecen ponerse de relieve. Ante todo, las formas delgadas con flagelo libre, aparecen dotadas de extraordinaria movilidad y agilidad. Las ondulaciones de la membrana y las vibraciones del flagelo son vivas, rápidas, frecuentes: deslízanse estas formas en el campo, con gran vivacidad. En cambio, los movimientos de las formas del tipo corto y grueso son más lentos, más torpes: la membrana ondulante no ofrece los múltiples repliegues que se aprecian en las formas delgadas. Si persistimos más tiempo en la observación, ó volvemos á observar unas horas más tarde la misma preparación directa, quedaremos sorprendidos por el hecho siguiente: las formas delgadas, ágiles, movilísimas antes, habrán perdido en gran parte su vivacidad; en cambio, las formas gruesas y cortas, conservarán casi del todo sus caracteres, y así por más largo tiempo. En otras palabras: las formas del tipo delgado y móvil sufren precozmente la influencia del cambio de ambiente (¿temperatura?), y pierden ciertos caracteres biológicos que les son propios: las formas gruesas y cortas varían menos, mantienen con mayor uniformidad y persistencia su aspecto y sus propiedades biológicas.

Al propio tiempo que se presentan en la sangre de los animales inoculados estas formas diferenciadas del parásito, persisten las formas comunes y corrientes, y que, de acuerdo con DOFLEIN, con MINCHIN, con PROWAZECK, con CASTELLANI, prodriamos llamar «indiferentes», del *Trypanosoma gambiense*.

Por un criterio de analogía, por un argumento de semejanza morfológica y biológica con lo que ocurre en otros parásitos, los observadores que han determinado la presencia de estas dos formas tan distintas de la misma especie en el huésped vertebrado — sobre todos BREINL — han pensado hace tiempo, que pudiera tratarse de formas sexualmente diferenciadas: esto es, de «formas masculinas» y de «formas femeninas».

En otros Tripanosomas de los mamíferos — *Tr. Lewisi*, por ejemplo —, han sido descritas, como ya se ha dicho, las fases de un verdadero proceso de conjugación en el huésped invertebrado (*Haematopinus*); y en la unión de las dos células parece corresponder, en estos casos, á la forma delgada y ágil el papel de agente fecundador, de «Kineto-gameto» ó gameto masculino; y al otro el de «trofo-gameto» ó gameto femenino. Teóricamente, esta opinión puede aceptarse. DOFLEIN en su reciente Tratado (*Lehrbuch der Protozoenkunde*), acepta también para el *Trypanosoma gambiense* la nomenclatura y la doctrina de PROWAZECK, adoptada por este investigador á propósito del *Tr. lewisi*. Sin embargo, el proceso de reproducción esporogónica ó sexual no ha sido sorprendido hasta ahora en ninguno de sus momentos.

OTTOLENGHI ha descrito en los *Archiv. für Protistenkunde* una conjugación de formas masculinas y femeninas de *Tr. gambiense* y de *Tr. brucei* en el huésped vertebrado (mamífero).

Yo también he observado, en algunas preparaciones, figuras de tripanosomas al parecer acoplados, unidos por las extremidades anteriores, con aparente fusión de su citoplasma y del blefaroplasto. Y, sin embargo, no creo de ningún modo que sea lícito sentar conclusiones de tal interés biológico con el solo dato de la morfología. Bien analizadas, esas figuras pueden corresponder á los momentos finales del proceso de división directa.

KOCH, en su *Informe* sobre el viaje al Victoria Nyianza (1), sostiene que, entre los Tripanosomas hallados en las Glosinas de la especie *palpalis*—la mayor parte de los cuales corresponde exactamente á las formas descritas por Novy (1906) (*Trypanosoma Grayi*) (2)—, una forma, que indica con el nombre de Tipo IV, parece tener intimas relaciones morfológicas con el *Trypanosoma gambiense*. De este tipo IV, describe KOCH las formas femeninas («Weibliche Formen») y las masculinas («mannliche Formen»). Estas últimas no corresponden en nada á las que en nuestro entender deben considerarse como formas masculinas y que yo indico con el nombre de *Kineto-gametos* (3), tales cuales se hallan en la sangre de los animales inoculados, en las circunstancias indicadas. La forma masculina de KOCH es de dimensiones reducidas, algo más corta que la supuesta forma femenina, con citoplasma pálido, núcleo esférico, blefaroplasto puntiforme situado muy cerca de la extremidad anterior, membrana ondulante poco manifiesta.

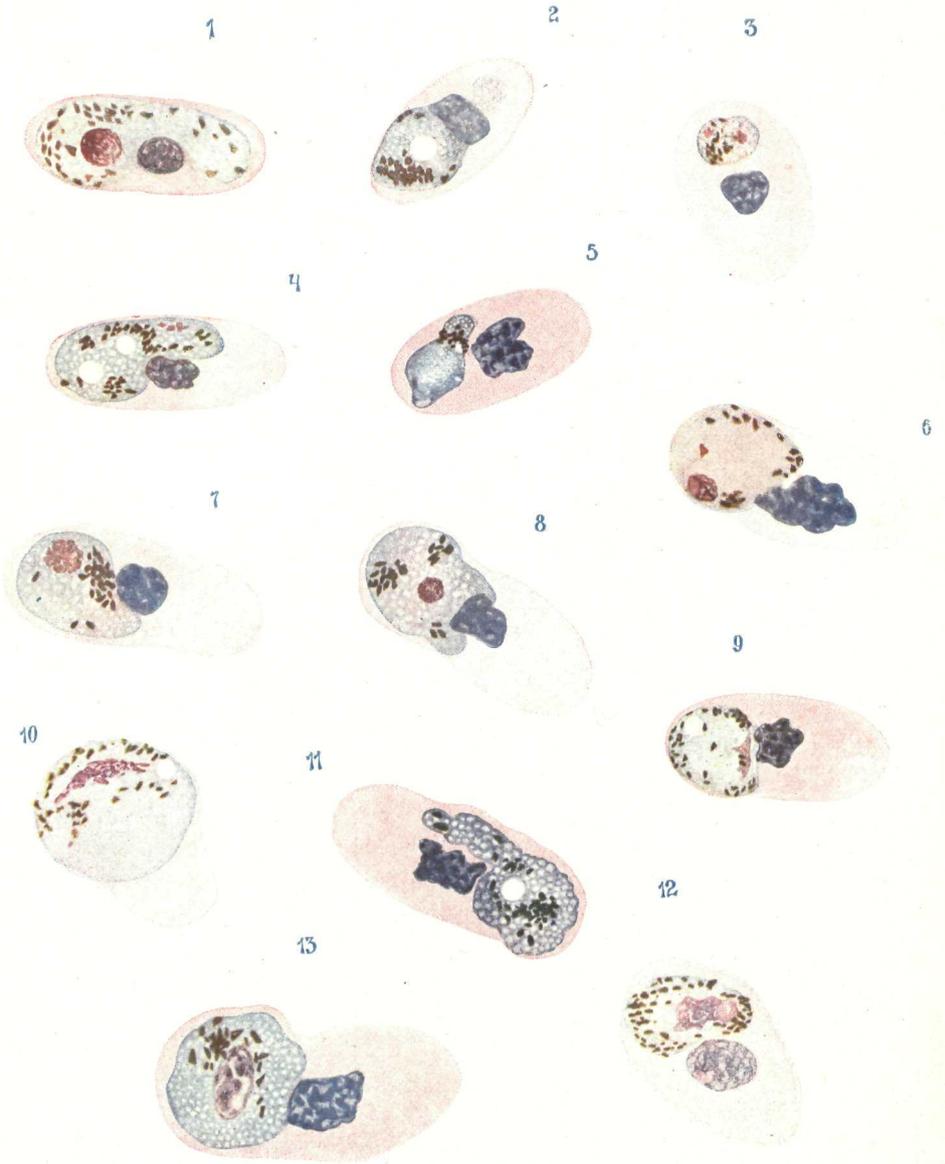
En suma, la forma descrita por KOCH corresponde casi exactamente á la de nuestra figura 5 de la lámina II.

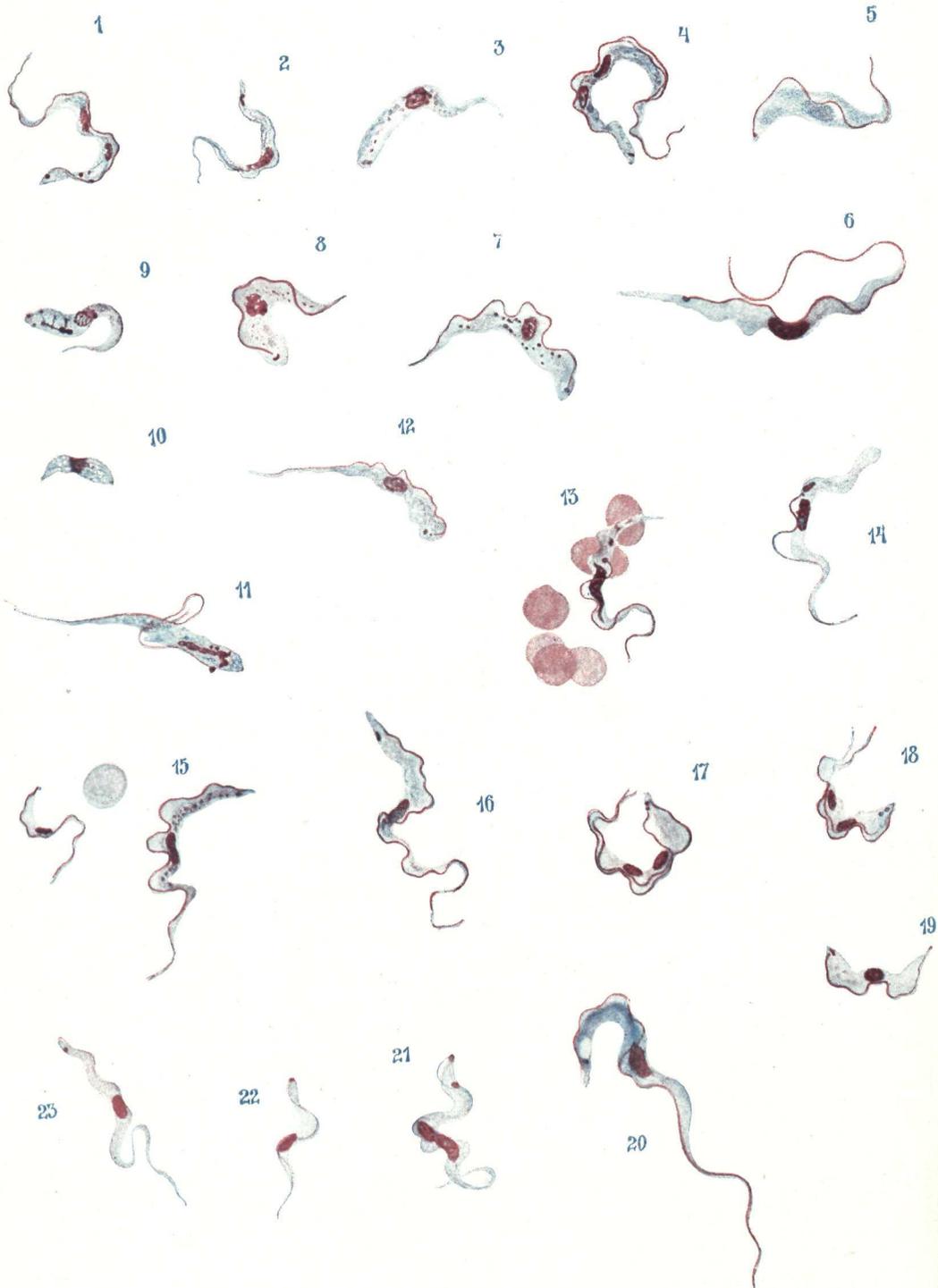
Cuáles hayan sido las razones que hayan movido á KOCH para interpretar á estas formas como masculinas, no se en-

(1) Bericht über Tätigkeit d. f. Erforsch. d. Schlafkrank. etcétera; Berlin, Julius Springer, 1909. (Véase pág. 25).

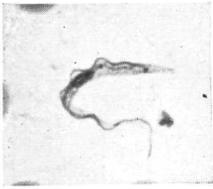
(2) Tipos I, II y III de KOCH. (Véanse las figuras dadas por KOCH en las láminas III y IV de su Memoria.)

(3) No podemos adoptar en este caso la denominación de *Microgametos*, puesto que las formas masculinas de *Tr. gambiense* no son pequeñas en comparación con las femeninas (*Macrogametos* en el caso de los Esporozoos, etc.) Por otra parte, tampoco sabemos con exactitud si se trata de formas homólogas á los microgametos propiamente dichos, ó bien á los *Microgametocitos*, de los cuales proceden los verdaderos elementos destinados á la cópula. En esta incertidumbre, parécenos lógico y conveniente adoptar la denominación de *Kineto-gametos* para estas formas, y de *Trofogametos* para los diferenciados en sentido contrario.

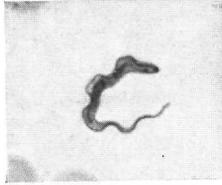




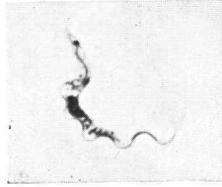
G. PITTALUGA *ad naturam delineavit.*



1



2



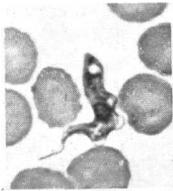
3



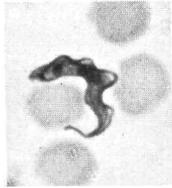
4



5



6



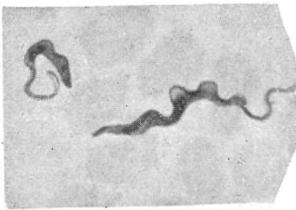
7



8



9



10



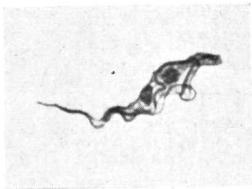
11



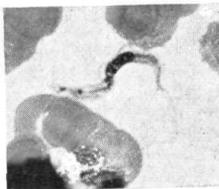
12



13



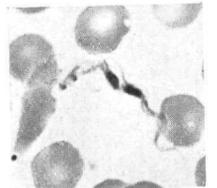
14



15



16



17

tiende claramente; tanto menos, si se considera que las formas masculinas del *Trypanosoma brucei* (representadas en la propia lámina III del «Bericht» de KOCH (fig. 2), corresponden exactamente á las descritas por nosotros como formas masculinas (*Kineto-gametos*) del *Trypanosoma gambiense* en la sangre del huésped vertebrado (mamífero).

(Se continuará.)

(Laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII, en Madrid.)

EXPLICACIÓN DE LAS LÁMINAS

Lámina I.

Todas las figuras proceden de Microfotografías hechas en el Laboratorio de Histología y Anatomía patológica de la Facultad de Medicina de Madrid, con microscopio Zeiss, sistema óptico ob. inm. hom. 2 mm., ap. núm. 1'30, ocul. 4, Preparaciones de sangre de perro, mono y cobaya, teñidas con Giemsa ó Leishmann.

Fig. 1-5. Relaciones entre el núcleo (trofo-núcleo) y el blefaroplasto (Kineto-núcleo), por medio de filamentos y granulaciones cromáticas especiales.

Fig. 6. Forma corta, relativamente ancha, de *Trypanosoma gambiense*, con vacuola considerable, inmediatamente posterior al blefaroplasto.

Fig. 7. Forma con corto flagelo libre; visibles estrias longitudinales del periplasto en la parte posterior.

Fig. 8. Forma sin flagelo libre, corta, chata, con grueso núcleo esférico, en que se aprecian los cromosomas distintamente.

Fig. 9. Comienzos de la división del blefaroplasto.

Fig. 10. Aspecto y dimensiones de dos diferentes formas en un mismo campo. A la derecha, una de las grandes formas alargadas, relativamente delgadas, dotadas de extremada movilidad, con blefaroplasto bastante alejado de la extremidad anterior.

Fig. 11. Forma de *Trypanosoma gambiense* con aspecto de *Spirochaete*.

Fig. 12. Aspecto típico de las formas alargadas, móviles, delgadas.

Fig. 13. Comienzos de la partición; desdoblamiento de la membrana.

Fig. 14. Proceso de partición: se aprecian los dos núcleos, y las relaciones de los blefaroplastos con los bordes de las dos membranas ondulantes de los blefaroplastos.

Fig. 15-17 Fases y aspectos diferentes del proceso de división de *Trypanosoma gambiense*.

Lámina II.

Todas las figuras son reproducciones directas de formas observadas en preparaciones teñidas con Leishmann ó Giemsa, con el sistema óptico que á continuación se indica:

Fig. 1-2. (Objet. inm. hom. $\frac{1}{12}$ Zeiss., oc. comp. 12, aum. 1.560 diam.)—Preparaciones de sangre del perro, del día 4 de Marzo.

Fig. 3. (Id. id. id.)—Leishmann.—Mono núm. I (inoculado en Elobey, Agosto, 1909). No existe vestigio de la membrana ondulante. Entre el núcleo y el blefaroplasto se aprecia una serie de pequeñas granulaciones cromáticas.

Fig. 4. (Objet. aprocom. inm. hom. 1,5; ocul. comp. 12; aum. 2.000 diam.)—Leishmann—Perro núm. II.—Proceso de división de *Trypanosoma gambiense*. La separación nuclear es completa; en cambio, el blefaroplasto es único, y el borde de la membrana ondulante en parte indiviso.

Fig. 5. (Obj. 1, 5 apocrom., oc. comp. 12; aum. 2000 diam.)—Leishmann.—Perro núm. I, 29 Abril 1910. Forma corta y ancha, con pequeño blefaroplasto en directa conexión al parecer con el borde de la membrana ondulante.

Fig. 6. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Forma larga y delgada, con núcleo alargado, blefaroplasto alejado de la extremidad anterior (Kinetogameto).

Fig. 7. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Citoplasma con numerosas granulaciones cromáticas. Núcleo casi esférico; vacuola.

Fig. 8. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Citoplasma granuloso; núcleo esférico con cromosomas separados, visibles; blefaroplasto dispuesto transversalmente, aislado, sin conexión directa con el borde de la membrana.

Fig. 9. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Forma singular; no se aprecia la membrana ondulante; el núcleo, constituido por cariosomas distintos y nucleolo, es esférico. Entre el núcleo y el blefaroplasto se aprecia una serie de granulaciones reunidas por filamentos.

Fig. 10. (Obj. 1, 5 apocrom., oc. comp. 12; aum. 2000 diam.)—Procede de la misma preparación. Forma singular; pequeña, corta, sin flagelo libre, con blefaroplasto muy pequeño, puntiforme. Se aprecian á lo largo del citoplasma cuatro estrias ó filamentos longitudinales. No se aprecia membrana ondulante.

Fig. 11. (Id. id. id. id.)—Perro 10 Mayo 1910.—La masa nuclear (trofonúcleo) se halla situada muy anteriormente, en las inmediaciones del blefaroplasto, que aparece como un grueso corpúsculo cromático en continuación con el borde revuelto de la membrana ondulante.

Fig. 12. (Id. id. id. id.)—Perro 29 Abril 1910.—En esta forma se aprecia claramente, entre el límite del filamento que constituye el borde de la membrana ondulante y el blefaroplasto, un corpúsculo cromático basilar independiente al parecer del blefaroplasto.

Fig. 13 (Obj. semi-apoc. Koristka, $\frac{1}{15}$ oc. comp. 12, aum. 1.800 diam.)—Perro 4 Marzo 1910. El blefaroplasto aparece muy acercado al trofonúcleo, y en continuación directa con el borde de la membrana. El trofonúcleo es alargado, de dimensiones muy considerables.

Fig. 14. (Obj. apocrom. Zeiss, 2 mm., ocul. com. 12; aum. 1.500 diam.)—Giemsa—Preparac. de cobaya inoc. el 23 Febrero 1910.—El blefaroplasto aparece igualmente muy acercado al trofonúcleo; pero no en continuación inmediata con el borde de la membrana ondulante. Existe un corpúsculo cromático basilar en el límite del borde de la membrana, en el espacio que le separa del blefaroplasto.

Fig. 15. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Dos formas muy diferentes por su tamaño, aspecto y estructura, en el mismo campo.

Fig. 16. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Forma grande, muy larga, relativamente delgada; el borde de la membrana no parece tener relaciones con el blefaroplasto.

Fig. 17-18 (Id. id. id. id.)—Proceden de la misma preparación.—Relaciones diferentes entre los bordes de las membranas y los blefaroplastos, durante el proceso de división de *Trypanosoma gambiense*.

Fig. 19. (Id. id. id. id.)—Procede de la misma preparación.—Forma corta, ancha, sin flagelo libre, con pequeña bola terminal en la extremidad posterior (anterior de LAVERAN y MESNIL; blefaroplasto grande, aislado, sin conexión directa con el borde de la membrana.

Fig. 20. (Objet. apocrom. Zeiss 1,5; oc. com. 12; aum. 2.000 diam.)—Cobaya inocul. 9 Febrero; preparación del 12 Julio 1910.—Giemsa.

Fig. 21. (Objet. apoc. Zeiss 2 mm.; oc. comp. 8; aum. 1.000 diam.)—Perro, 4 Mayo; Giemsa. Proceso de división; biefaroplastos separados: núcleos en vía de partición; membrana ondulante todavía única, con borde escasamente teñido.

Fig. 22-23. (Objet. apoc. Zeiss 2 mm.; oc. comp. 8; aum. 1.000 diam.) — Proceden de la misma preparación. — En la fig. 23 no se aprecia membrana ondulante.

Lámina III.

Todas las figuras son reproducción directa de imágenes microscópicas observadas en preparaciones de sangre de tortugas del género *Clemmys* (*Clemmys africana*). Fig. 1-5: objet. apocr. Zeiss inm. hom. 2 mm., oc. comp. 12, aumento 1.500 diámetros — Fig. 6-13: Objet. apocr. Zeiss inm. hom. 1,5 mm. oc. comp. 12, aumento. 2.000 diam. — Coloración con los met. de Giemsa y de Leishmann.

Formas de evolución endo-globular de un parásito (*Plasmodium*) de los hematies de *Clemmys africana*.

XXXIV.— Viaje de estudio á la Guinea española.

Observaciones acerca del «*Trypanosoma gambiense*» y algunos otros Protozoos parásitos del hombre y de los animales.

POR GUSTAVO PITTALÙGA.

(Continuación.)

III

Algunos detalles de estructura que se aprecian en las formas del parásito halladas en nuestras preparaciones, merecen más detenida descripción.

Ya se ha dicho (pág. 673 de esta REVISTA) que las formas descritas por algunos autores, y particularmente estudiadas por WERBITZKI (*Centralblatt für Bakteriologie*, Febrero 1910), como «*Tripanosomas sin blefaroplasto*» (*Blepharoplastlöse*), deben interpretarse probablemente como formas que atraviesan un período evolutivo, durante el cual el *kinetonucleo* se funde con el *trofonucleo*, verificándose un proceso de autogamia, ó, por lo menos, fenómenos que corresponden á los que constituyen el proceso de autogamia en otros protozoos, particularmente en los Amébidos.

Ahora bien; las fases intermedias de este proceso, sobre todo la aproximación del blefaroplasto al núcleo y los momentos que preceden á la fusión de las dos masas cromáticas, requieren, para ser sorprendidas y estudiadas, un examen detenido de numerosísimas preparaciones.

Nosotros hemos llegado á convencernos de que tales fenómenos nucleares no acontecen necesariamente en todas las particiones esquizogónicas de los tripanosomas hemáticos, sino que, de cuando en cuando, entre generaciones que

proceden de divisiones directas, se intercalan generaciones en que la esquizogonia en el huésped vertebrado se acompaña de tales fenómenos de autogamia.

Para obtener buenas preparaciones de tales aspectos de división de los tripanosomas, es preferible emplear el procedimiento de fijación con los vapores de ácido ósmico. Las figuras 11, 13 y 14 de la lámina 2.^a, representan distintas fases del proceso indicado. La fig. 11 ofrece singular interés por la particularidad de presentar la masa del trofonúcleo, de forma y disposición atípicas, enteramente desplazada hacia la extremidad anterior (posterior de LAVERAN y MESNIL) del tripanosoma y el blefaroplasto ectópico en el borde inferior del cuerpo citoplásmico. Entre el trofonúcleo alargado y el borde superior del citoplasma existen dos pequeños corpúsculos cromáticos, de igual tamaño y simétricamente dispuestos. Si se examina con detenimiento el resto del citoplasma de esta forma de tripanosoma, y se compara, además, con las formas corrientes, representadas, por ejemplo, en las figuras 7 y 15, se advierte claramente el fenómeno de la «concentración de la cromatina» en un punto solo del cuerpo del protozoo. Todas las masas y los corpúsculos cromáticos se reúnen, se acercan, se concentran, y en este caso se polarizan hacia uno de los extremos del cuerpo del protozoo.

La fig. 13 reproduce un aspecto distinto. La forma parasitaria, representada en la fig. 13, ofrece en gran parte los caracteres de una forma diferenciada, de las que nosotros hemos indicado con el nombre de *kinetogametos*.

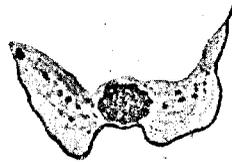
En tal caso deberíamos preguntarnos si acontece acaso una partenogénesis—interpretando como tal la división esquizogónica de los gametos—en estas formas parasitarias; y en este caso especial propiamente una partenogamia, en el sentido que HARTMANN ha dado á esta palabra. Así en la figura 13 como en la figura 14 el trofonúcleo permanece en su situación normal en el citoplasma; en cambio, el

kinetonúcleo aparece desplazado considerablemente hacia el centro, en las inmediaciones del trofonúcleo. Toda la porción anterior (posterior, según LAVERAN y MESNIL), esto es casi la mitad del cuerpo del protozoo, carece, por tanto, de membrana ondulante. Pero se aprecia con claridad una diferencia digna de relieve entre la figura 13 y la representada en la figura 14; esta diferencia consiste en que el borde de la membrana ondulante en el primero de estos tripanosomas acaba directamente, sin interrupción, en el blefaroplasto, mientras en el segundo existe un corpúsculo basilar, muy reducido, pero evidente, en el punto terminal del borde de la membrana ondulante, y entre esta terminación el blefaroplasto propiamente dicho. La forma del blefaroplasto es además totalmente distinta; en el primero es esférico, como una pequeña bola; en el segundo, en cambio, es alargado en sentido longitudinal, como un bastoncillo bastante recio dispuesto en la misma dirección del eje del cuerpo del protozoo.

Semejantes particularidades acerca de la forma y disposición del kinetonúcleo no dejan de tener interés desde el punto de vista citológico.

Podemos reducir á tres tipos fundamentales los diferentes aspectos de los blefaroplastos observados en múltiples formas del *Trypanosoma gambiense*: a) tipo esférico; b) tipo alargado longitudinalmente; c) tipo transversal, esto es alargado y colocado transversalmente, ó con el eje perpendicular al eje del cuerpo del tripanosoma. En las formas comunes del tripanosoma, del tipo intermedio ó indiferenciado, el blefaroplasto es generalmente esférico. En estos casos también aparece más frecuente y más clara la continuación, sin interrupciones, del blefaroplasto en el borde mismo de la membrana ondulante. A veces un blefaroplasto alargado, bastonciforme, aparece claramente en las grandes formas de parásitos largos, móviles correspondientes, por ejemplo, á la representada en la figura 16 de la lámina II. Sin embargo, en estas formas es también de hallazgo corriente el blefaroplasto esférico,

tal como se aprecia en las figuras 1 y 3 de la lámina I y en las figuras 6 y 20, por ejemplo, de la lámina 11. En nuestro entender, el aspecto alargado, baciliforme del blefaroplasto y su disposición longitudinal coinciden con las fases que preceden á la fusión de las dos masas del trofo y del kinetonúcleo, ó sencillamente indican la próxima división ó participación de la membrana ondulante en el proceso de esquizogonía. Hemos observado, en efecto, en las numerosas preparaciones examinadas y reiteradamente recorridas con el auxilio y la cooperación de nuestro ayudante y querido amigo el Dr. Rodríguez Illera, todas las fases intermedias entre el blefaroplasto alargado longitudinalmente y colocado en proximidad de la extremidad anterior (posterior de LAVERAN y MESNIL) del tripanosoma, y los dos corpúsculos neoformados por división del blefaroplasto mismo. Con toda evidencia se aprecia el aspecto de que hacemos mención en la figura 9 de la lámina I, y más acentuado en las figuras 17 y 18 de lámina II. Por último, la disposición transversal del blefaroplasto, con una superficie anterior convexa y la posterior plana ó ligeramente cóncava, por lo general totalmente separado del borde de la membrana ondulante, suele en contrarse con frecuencia en las formas gordas y cortas del tripanosomas, que hemos indicado en otro lugar con el nombre de *trofogametos*, y de los cuales son claro ejemplo las figuras 8 y 19 de la lámina II.



Tipo de trofogameto.

Entre el trofonúcleo y el blefaroplasto (kinetonúcleo) se perciben con gran frecuencia una serie de corpúsculos cromáticos, á veces dispuestos en cadena ó formando singulares agrupaciones que han llamado nuestra atención. El tripanosoma representado en la fig. 1.^a de la lámina 1.^a, por ejemplo, presenta un filamento que, tomando punto de partida un corpúsculo cromático, situado en las inmediaciones del nú-

cleo, anteriormente á este último, llega hacia la extremidad del cuerpo del parásito á confundirse con el borde de la membrana ondulante y con el blefaroplasto. Este filamento no adquiere exactamente la coloración de la cromatina, pero se impregna intesamente con tonos rojizos; en nuestro entender, debe tratarse de una formación homóloga al rhizoplasto de otros flagelados. En la fig. 2 de la misma lámina 1.^a, la disposición de este filamento en sus relaciones con el kinetonúcleo es distinta. Aquí el filamento termina con un recio corpúsculo cromático antes de llegar á fundirse con el blefaroplasto, y permanece, por tanto, separado de este último; en cambio, aparece como en comunicación directa con la masa nuclear (esto es, con el trofonúcleo). En la fig. 3 de la lámina 1.^a se aprecia con toda evidencia la existencia de un grueso gránulo cromático intermedio entre el trofonúcleo y el kinetonúcleo. En el tripanosoma fotografiado en la fig. 5.^a existen dos verdaderas masas nucleares, ó por lo menos, entre el trofonúcleo propiamente dicho y el kinetonúcleo se aprecia con evidencia una masa cromática suplementaria, la cual parece, además, en relación con el kinetonúcleo por un tenue y delgado filamento apenas perceptible. El kinetonúcleo alargado quizás indique un comienzo de proceso esquizogónico, por el cual se explicará además la reunión ó concentración de las masas cromáticas. En la fig. 9.^a de la lámina 2.^a se halla reproducida una forma de tripanosoma sumamente interesante por apreciarse en ella todo un sistema de gránulos y filamentos cromáticos, verdadera trabazón de de formaciones cromidiales que ocupa el protoplasma en la parte anterior al núcleo, el cual á su vez se presenta con una corona evidente de cromosomas diferenciados. De los corpúsculos cromáticos que se hallan distribuídos en la porción anterior del cuerpo del tripanosoma, en el caso que estamos examinando, dos aparecen como derivados de un desdoblamiento del blefaroplasto, reunidos todavía por un imperceptible filamento. Esta forma carece de membrana ondulante,

fenómeno que acontece con alguna frecuencia, sobre todo en los tripanosoma del tipo de los que hemos indicado como *trofogametos*. Así, por ejemplo, en la forma representada en la fig. 3 de la lámina 2.^a De gran interés es igualmente la forma representada en la figura núm. 10 de la misma lámina; tratase de una forma enana, que no alcanza los 10 micron de largo, y en la cual no existe ni membrana ondulante ni flagelo; el blefaroplasto puntiforme se halla colocado en el extremo límite del cuerpo citoplásmico, y es apenas perceptible; el tronofúcleo, grande, ocupa el centro del cuerpo, y el periplasto constituye una serie de fibrillas longitudinales claramente apreciables, en número de tres á cuatro, á lo largo de toda la masa citoplásmica. Recias fibras del pleriplasto se aprecian también en otras formas, así del tipo intermedio ó indiferente como del tipo corto y gordo (trofogametos), ó del alargado y delgado (kinetogametos). La fig. 7.^a de la lámina 1.^a reproduce, por ejemplo, el aspecto de un tripanosoma en que se notan con claridad suficiente las fibras longitudinales en la porción posterior del cuerpo, entre el núcleo y el flagelo libre.

Con el método al nitrato de plata estas disposiciones del periplasto se ponen de relieve quizás con mayor evidencia. Muy raras veces exceden del número de cuatro las fibras longitudinales. Por lo general se limitan á tres. El método al nitrato de plata revela también algunas otras particularidades de estructura. Ya en otra ocasión hemos hablado de los resultados que se obtienen con este procedimiento en lo tocante á la terminación del borde de la membrana ondulante en el corpúsculo basilar y sus relaciones con el blefaroplasto. Recordaremos aquí solamente que con el procedimiento al nitrato de plata se advierte en casi todas las formas de tripanosomas, especialmente en aquellas que corresponden al tipo del *kinetogameto*, una terminación característica del flagelo, ya en bola, ya en estrella, de dimensiones reducidas, pero claramente apreciable. No es posible, por ahora, resol-

ver la cuestión de si estos aspectos responden efectivamente á una disposición normal de los materiales protoplásmicos del flagelo libre; si se trata de fenómenos pre-agónicos de los tripanosomas, ó si, finalmente, se trata tan sólo de un aspecto artificial debido á impregnación argéntica.

IV

La observación de algunos casos de disentería amibiana en los pueblos indígenas de las riberas del río Utamboni (Guinea continental española), nos proporcionó la ocasión de estudiar la morfología de la *Entamaeba histolytica*, SCHAUDINN, encontrada en gran número en las deposiciones de los enfermos.

Cuatro son las especies de Rizópodos Amebinos hasta ahora descritas como parásitos del intestino del hombre, esto es: *Entamaeba coli* (Loesch), *Entamaeba histolytica* (Schaudinn), *Ent. tetragena* (Viereck y Hartmann; —sinónimo—, *Ent. africana*) y *Ent. minuta*, recientemente estudiada por ELMASSIAN (1).

Aparte la especie clásica *Entamaeba coli*, con la cual la forma hallada por nosotros en las deposiciones de los en-

(1) Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme, *Entamaeba minuta* n. sp. Morphologie-Evolution-Pathogenie, par M. ELMASSIAN.—(*Contratbl. f. Bakter.* Bd. 52, H. 3, 19 Nov. 1909, pág. 335, con dos láminas.)

Véanse también los trabajos fundamentales de:

SCHAUDINN — *Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden*, &. (*Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheits.* Bd. 19, H. 3)

HARTMANN.—*Eine neue Dysenterieamöbe.* (*Arch. f. Schiffs- und Tropen-Hyg.* Bd. 12, 1908.)

NAGLER.—*Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben.* (*Arch. f. Protistenk.* Bd. 14, 1909.)

VIERECK.—*Studien über die in den Tropen erworbene Dysenterie.* (*Arch. f. Schiffs- und Tropen-Hygiene*, 1907, núm. 1.)

fermos de Wermakogo y Asobla presenta evidentes diferencias, las otras tres especies merecen más detenido estudio.

En 1907, VIERECK, en dos casos de disentería tropical, observados juntos con otros numerosos debidos á *Entamaeba histolytica*, SCHAUDINN, describió una forma que en un principio identificó con la A. Coli, pero que luego le pareció muy acertadamente ofrecer caracteres diferenciales suficientes para crear la nueva especie *Ent. tetragena*, sobre todo por la presencia constante, así en las formas enquistadas como en las formas esquizogónicas libres, de cuatro núcleos.

En 1908, HARTMANN, estudiando algunos enfermos procedentes de las posesiones alemanas del Africa occidental, descubrió igualmente numerosas formas de una Ameba que en un principio llamó *Ent. africana*, pero posteriormente identificó en absoluto con la forma precedentemente descrita por VIERECK.

Trátase de una Ameba de 20-30 micras de diámetro, esférica, sin ectoplasma muy claramente diferenciado en estado de reposo, con pseudópodos ectoplásmicos escasos, protoplasma alveolar, núcleo visible en fresco (como acontece con *Ent. coli*, y al contrario de lo que es característico de *Ent. histolytica*, en la que el núcleo no se aprecia en fresco). HARTMANN, en posteriores descripciones, pone de relieve la existencia de un ectoplasma, también en reposo, bien diferenciado, homogéneo, refringente, y que destaca con claridad alrededor del entoplasma granuloso y alveolar. Pero los caracteres del núcleo, claramente visible en preparaciones directas en fresco, rodeado de espesa membrana nuclear, cuádruple en todas las formas enquistadas, son suficientes para el diagnóstico de la especie.

La especie descrita por ELMASSIAN es pequeña. Sus dimensiones varían entre 12 y 14 micrón; raramente alcanzan los 16-18 micrón. Por eso fué designada con el nombre de *Entamaeba minuta*. El protoplasma es netamente alveolar y con alveolos de grandes dimensiones ($1\frac{1}{2}$ -2 m.), con pare-

des espesas; no se logra diferenciar el ectoplasma. El núcleo es absolutamente invisible en fresco, lo cual constituye un carácter de importancia para diferenciar esta forma de la *Entamaeba tetragena*. Y en preparaciones teñidas, la estructura del núcleo la hace aparecer como tipo intermedio entre el de *Ent. histolytica* y el de *Ent. coli*, puesto que, como el primero presenta la cromatina acumulada en la periferia, aunque con gránulos menos gruesos y evidentes y en menor cantidad que en *Ent. histolytica*, tal como aparece en las clásicas descripciones y reproducciones de SCHAUDINN, y en la reciente y definitiva monografía de HARTMAN (*Untersuchungen über parasitische Amöben—I. Ent. histolytica—* en *Archiv für Protistenkunde*, 1909, XVIII, B., 2H., pág. 207, con lámina); y como el segundo (*Ent. coli*) posee una espesa y sólida membrana, si bien ésta aparece como sencilla, constituida por un solo borde, mientras en *Ent. coli* y en *Entamaeba tetragena* se aprecia como doble, constituida de dos capas concéntricas. En *Ent. histolytica* no existe traza alguna de membrana nuclear (1).

(1) ELMASSIAN escribe á este propósito (pág. 340, loc. cit.): «Pour mettre celle-ci—(la membrana nuclear)—en évidence il suffit pousser fortement la différenciation pendant une coloration à l'hématoxyline ferrique, et on la trouve alors à peine teintée en gris. En outre de gros grains de chromatine formant un élégant chapelet circulaire tranchent sur elle par leur couleur noir. Ce contraste rend la membrane plus manifeste. La méthode de Giemsa donne des indications très utiles sur la nature des membranes nucléaires chez les Amibes. Elle colore en rouge vif celle du noyau de l'*Ent. coli*, avec deux lignes limitants en violet, l'intérieur étant plus foncée; elle teinte au contraire en violet uniforme celle du noyau de notre espèce qui est plus épaisse.»

Y HARTMANN, en la Monografía ya recordada (pág. 213, loc. cit., *Arch. f. Protist.*, 1909): «Ausserst charakteristisch ist der Kern der vegetativen *Ent. histolytica*, wie schon SCHAUDINN hervorgehoben hat. Im Gegensatz zu *Ent. coli* (SCHAUDINN, 1904) und *Ent. tetragena* (HARTMANN, 1908) besitzt der Kern keine doppelt konturierte achromatische Membran, die bei den beiden anderen Arten ziemlich derb ist.»

ELMASSIAN ha podido sorprender en las numerosas preparaciones observadas las fases sucesivas de la evolución del parásito, y describe detenidamente los fenómenos de autogamia, con formación de las enormes masas cromáticas, que se aprecian claramente en algunas de las formas por nosotros encontradas y dibujadas en las preparaciones procedentes del enfermo de Wermakogo.

Los fenómenos de Autogamia se verifican probablemente en todas las especies de Amebas intestinales según un mismo plán, que se reduce en suma al observado y descrito magistralmente por SCHAUDINN.

ELMASSIÁN ha observado fenómenos parecidos en *Ent. minuta*, como antes HARTMANN en *Ent. tetragena*.

En la especie hallada por nosotros en los enfermos de Wermakogo y de Asobla, particularmente en el primero, se aprecian claramente algunas formas con grueso núcleo y con masas cromidiales considerables, extranucleares, excéntricas, características al parecer de las fases que preceden el enquistamiento.

Sin embargo, la formación de una red cromidial propiamente dicha, antes del desdoblamiento del núcleo para dar lugar á los nuevos núcleos destinados á la cópula cariogámica previa reducción, no es un fenómeno constante; ni la separación de las masas cromidiales que se encuentran siempre—más ó menos desarrolladas—en los quistes, acontece en el mismo momento en todas las formas.

En la *Ent. coli* estos fenómenos, especialmente la formación de las masas cromidiales, son menos intensos. Muy raramente se encuentran en los ejemplares de la *Ent. coli* las enormes masas cromidiales presentes en los quistes de *Ent. tetragena* y de *Ent. minuta*, como también en los de *Ent. histolytica*.

Estas masas de cromatina proceden desde luego del núcleo primitivo. A medida que va formándose la cromatina en el núcleo engrosado y por decirlo así hiperplástico en los

períodos que preceden los fenómenos de autogamia, se acumula en gruesas y recias granulaciones, luego en verdaderos bloques en la periferia del núcleo mismo, y por fin le abandona, emigrando en el citoplasma y fundiéndose, reunida en masas compactas que alcanzan á veces las dimensiones mismas del núcleo y aún las superan, hallándose á la vez dos, tres y más de estos grupos de cromatina en el protoplasma. Su papel es, probablemente, el de proporcionar nuevamente substancia cromática á los núcleos neoformados. Constituyen por consiguiente especies de reservas de cromatina, que en efecto desaparecen poco á poco en los últimos períodos de la evolución del proceso de autogamia intraquística.

Es difícil inducir por estos datos si el proceso de kariokinesis que da lugar á los nuevos núcleos, se cumple por tanto exclusivamente á cargo de las substancias acromáticas de la masa nuclear primitiva, como han afirmado algunos de los más recientes observadores, ó bien si durante la formación de los husos de división una cantidad residual de cromatina suficiente participa de los fenómenos de la anafase y de la telefase. Nosotros hemos visto algunas formas con enormes masas cromidiales en el citoplasma, dispuestas á la periferia del cuerpo del protozoo, y sin embargo, el núcleo conservaba, con una clara diferenciación de cromosomas si bien reducidos y pequeños, las afinidades tintóreas y la reacción característica de la cromatina nuclear.

Nuestros conocimientos acerca de las fases sucesivas de desarrollo de las *Amaebas* han dado un paso muy importante después de la publicación de los estudios de KURT NAGLER, particularmente de su memoria fundamental «Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben» (1), que ha visto la luz el año pasado en los *Archiv f. Protistenkunde*, y que comprende una serie de observaciones morfológicas y

(1) V. *Archiv für Protistenkunde*, XV Bd. 1-2, págs. 1-53, con VI láminas.

biológicas, llevadas á cabo y expuestas con gran método, acerca de las especies: *Amaeba froschi*, *A. spinífera*, *A. la-certae*, *A. lacustris*, *A. hortícola*, *A. albida*, *A. diploidea*.

Sigue á la exposición de los datos de observación una interesante discusión teórica acerca de la cuestión del Centrosoma y de la duplicidad del núcleo. Tales detalles citológicos no interesan sólo desde un punto de vista estrictamente científico, sino también desde un punto de vista práctico y por dos razones: en primer lugar, por la posibilidad de alcanzar un medio seguro de diagnóstico diferencial microscópico entre las diferentes especies de Amebas intestinales, que poseen muy distinta acción patógena; en segundo lugar, por la conveniencia de averiguar la formación y persistencia de las formas resistentes ó enquistadas de estos parásitos, formas difíciles de atacar con los medicamentos y que en realidad constituyen los elementos difusivos de la enfermedad.

Por los caracteres que las amebas halladas en el Muni en los enfermos de disentería presentaban, creemos que debe identificarse del todo la especie encontrada con la *Eutamaeba histolytica* SCHAUDINN.

V

En algunos ejemplares de tortugas del género *Clemmys* (*Clemmys africana*), capturadas en el interior del bosque en la cuenca del río Campo, en el mes de Septiembre de 1909, encontramos un parásito de los hematíes que llamó nuestra atención y que en sus diferentes aspectos se halla reproducido en nuestra lámina III.

Tratáse de un parásito productor de pigmento. La presencia de la *melanina* ó *hemozoina* (Sambon, 1907), no es frecuente en los hemoparásito de los reptiles en general y de los quelonios en particular. En estos vertebrados se han

descrito, en efecto, en estos últimos años, un gran número de hemogregarinas (telosporidios caracterizados por la ausencia de pigmento en los esquizontes endocelulares), pero en cambio, muy raras é inciertas especies de parásitos pigmentíferos.

DOFLEIN en su clásico y reciente *Lehrbuch der Protozoenkunde* (edición de Jena, 1909), no recuerda ninguna de estas formas ni en el género *Plasmodium* ni en el género *Haemoproteus* como descritas en la sangre de reptiles. En cambio, cita el género *Haemocystidium* CASTELLANI y WILLEY, descrito en los hematies de una tortuga de India (*Chitra indica*) con caracteres que, aceptando la clasificación reciente de SAMBÓN y HARTMANN, adoptada universalmente para la distribución de los parásitos hemáticos de la clase *Protozoa*, coinciden en realidad con los del género *Plasmodium*. Así lo entiende en efecto el mismo CASTELLANI, quien en su Tratado de Medicina tropical, publicado en colaboración con CHALMERS á fines del pasado año de 1910, (pág. 299) reúne la especie por él descrita *Haemocystidium simondi* en el género *Plasmodium* haciéndola sinónimo de *Plasmodium simondi*. Por fin, SIMOND describió con el nombre de *Haema-maeba metschnikovi* un hemoparásito de las tortugas del género *Trionyx* (*Trionyx indicus*), que por sus caracteres morfológicos debe hacer parte del género *Haemopróteus*, y considerarse por tanto como sinónimo de la especie actual *Haemopróteus metchnikovi*.

El parásito de los hematies de las tortugas del género *Clemmys* por nosotros encontrados en la Guinea española y por primera vez descrito, pertenece en nuestro entender por los caracteres morfológicos de los esquizontes y de los esporontes presentes en la sangre periférica del huésped vertebrado al género *Haemopróteus*, según el alcance y la significación dados á este género en la clasificación de SAMBÓN y HARTMANN; pero la especie es totalmente nueva, y nosotros nos permitimos llamarla con el nombre específico de

Haemoproteus cajali, dedicándola al ilustre investigador español.

Los comunes esquizontes del *Haemopróteus cajali* presentan el aspecto típico que se aprecia en la fig. 1 de la lám. III. El cuerpo protoplasmático del parásito, ocupa una gran parte del estroma del glóbulo rojo, rodeando al núcleo, disponiéndose en la forma característica de los *Haemoproteus* en general, y en el se aprecia una masa nuclear bastante considerable. Los gránulos de hemozoina se hallan esparcidos á la periferia del citoplasma del parásito.

El citoplasma aparece como finamente granuloso ó alveolar; en muchas formas de esquizontes maduros la estructura alveolar se hace manifiesta, se aprecia con absoluta claridad, tal como la representan las figuras 4, 8, 11, 13 de la lámina III. Observando con algún detenimiento buen número de preparaciones, se sorprenden fácilmente las fases de desarrollo de los esquizontes en el interior de los hematíes. Formas pequeñas, apenas apreciables en fresco, dotadas de escasa afinidad basiófila y apenas teñidas en preparaciones hechas con los comunes métodos de coloración, se encuentran en gran número de glóbulos rojos. Estas formas aumentan de volumen y adquieren el aspecto representado en la fig. 3 de la lámina III. Constituyen, pues, cuerpos citoplásmicos casi redondeados, generalmente dispuestos en uno de los polos del hematíe, en el interior de los cuales se aprecia una ó dos pequeñas masas cromáticas, y algunos pequeños gránulos de pigmento melánico. Las dimensiones de estos esquizontes van aumentando, y poco á poco el aspecto redondeado se convierte en el de huso alargado, tal como se aprecia en la fig. 5 y en la fig. 2 de la misma lámina. Una especie de pseudópodo del parásito bordeando el núcleo se extiende entre éste y el margen del citoplasma ó estroma del hematíe, constituyéndose así la forma típica del esquizonte maduro ya descrito y representado en las figuras 4, 11 y 1 y de la antedicha lámina. Al propio tiempo

se aprecian en algunos hematíes formas distintas de las descritas, y que debemos interpretar por sus caracteres estructurales como esporontes ó generadores de gametos. Pertenecen á este grupo las representadas en las figuras 6, 9, 10, 12 y 13. Particularmente la disposición y el aspecto de las masas cromáticas nucleares varían en estas formas, entre las cuales sería arriesgado determinar por ahora, con los solos indicios morfológicos que poseemos, los caracteres de una evidente diferenciación sexual, aun siendo muy suficientes semejantes datos para afirmar que nos encontramos en presencias de esporontes. En algunas de estas formas se aprecian distintamente en el interior de la masa nuclear los distintos cromosomas.

La proporción de hematíes parasitíferos en las tortugas examinadas era muy considerable. Por ahora, desconocemos del todo el modo de transmisión y el huesped invertebrado de este parásito. Nunca hemos sorprendido, en el examen de preparaciones directas en fresco, la formación de flagelos (microgametos) en la sangre periférica. En alguna de las formas parasitarias observadas la movilidad era grande, y los gránulos del pigmento aparecían arrastradas en vorticoso movimiento en el citoplasma del parásito. En la sangre de las tortugas parasitíferas no se apreció nunca ninguna forma parasitaria libre en el plasma. Creemos, por tanto, que sólo en ciertos periodos los esquizontes y los esporontes de esta especie atraviesan un período de vida libre, y esto quizás en el plasma de órganos internos. Si realmente esta especie no atravesara jamás un período evolutivo extraglobular, deberíamos incluirla en el género *plasmodium*. Pero el aspecto reniforme de los esquizontes y el dimorfismo evidente entre los esquizontes (alargados, rodeando al núcleo del hematíe) y los esporontes (esféricos), me inducen á creer que se trata efectivamente de un *Haemopróteus*.