
ESTADO ACTUAL DE NUESTROS CONOCIMIENTOS ACERCA DEL *Plasmodium gallinaceum* BRUMPT, 1935 *

ENRIQUE BELTRÁN**

*Publicado originalmente en: *Rev. Inst. Salub. Enfer. Trop. Tomo II (1): 95-113.1941.*

**Laboratorio de Protozoología, Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales.

RESUMEN

Se presenta una relación de los conocimientos existentes a la fecha con respecto al *Plasmodium gallinaceum* Brumpt, 1935, analizando los datos contenidos en la literatura y reportando las observaciones (parcialmente publicada) del autor. Los aspectos estudiados comprenden: 1). -Descubrimientos; 2). -Incidencia; 3). -Susceptibilidad de otras especies; 4). -Transmisión; 5). -Epidemiología; 6). -Infección experimental; 7). -Sintomatología y patología; 8). -Citología; 9). -Ciclo vital; 10). -Formas exoeritrocíticas; 11). -Cultivo; 12). -Serología e Inmunología; y 13). -Quimioterapia. Se sugieren también cuales son algunos de los principales problemas que requieren estudio.

SUMMARY

A detailed relation is made of what is known about *Plasmodium gallinaceum* Brumpt, 1935. The data contained on the literature are analyzed, as well as the writer's observations, only partly published. The subject is divided into: 1) Discovery; 2) Incidence; 3) Susceptibility of other species; 4) Transmission; 5) Epidemiology; 6) Experimental infection; 7) Sintomatology and pathology; 8) Citology; 9) Life cycle; 10) Exoerythrocytic forms; 11) Culture; 12) Serology and immunology; and 13) Chemotherapy. Some suggestions are offered regarding the principal points still unsolved in relation with this species.

1.- DESCUBRIMIENTO E IMPORTANCIA.- Como acertadamente hace notar Hewitt (1940) en su excelente monografía sobre la malaria aviar "Es afortunado que los plasmodios de las aves fuesen encontrados (Danilewsky, 1885) tan pronto, después de que Laveran (1880) describió los organismos causantes de la malaria humana, puesto que el desarrollo de las observaciones experimentales con ambos tipos de parásitos ha marchado lado a lado desde el tiempo de su descubrimiento. Sin los unos, el conocimiento de los otros probablemente no hubiera alcanzado nunca la importante posición que ambos tienen ahora en el campo de la zoología médica".

Los viejos trabajos de Mac-Callum (1897) y Ross (1898) en la fertilización de los gametos y la transmisión de la malaria por los mosquitos, o los modernos de Roehl (1926) y de Kikuth (1932) en relación con la plasmuquina y la atebriina, respectivamente, son tan clásicamente conocidos que no ameritan que nos detengamos en ellos, ya que su sola mención basta para ilustrar lo que el estudio de la malaria aviar ha significado para el mejor conocimiento de la malaria humana.

Desde 1899 en que Koch percibió las posibilidades que ofrecía el canario como un huésped experimental conveniente para el estudio de los problemas de malaria aviar, este animal se ha venido empleando con éxito en todo el mundo y, a la fecha, constituye aun el sujeto por excelencia para esta clase de trabajos.

Sin embargo, no deja de ofrecer también diversos inconvenientes, entre los que se cuenta su precio relativamente elevado, las dificultades y molestias relacionadas con su procreación y crianza y, sobre todo, su talla reducida. En consecuencia, el clamor en los laboratorios fue, por años enteros, en el sentido de que se encontrara un animal de talla mayor, en el que poder trabajar más cómodamente, cosa que se logró con el descubrimiento del *Plasmodium gallinaceum*.

En 1935 Brumpt publicó la descripción de esta nueva especie, cuya historia no deja de ser rara y digna de mencionarse. Parece haber sido visto en Deli, Sumatra, por Prowazek (1912) y por Crawford (1933) en Ceylán. En diciembre de 1910, el Dr. Brussais, encontró en la sangre de gallinas de Nhatrang

(Indochina) un plasmodio que logró transmitir a otros animales de la misma especie, habiendo obsequiado una lámina al Laboratorio de Parasitología de la Universidad de París, que sirvió al Prof. Brumpt para describir la especie como nueva, basándose en los caracteres de las formas del ciclo asexual, y el hecho bien conocido de que los intentos para inocular a la gallina con diversos plasmodios aviarios de distintas procedencias nunca han tenido éxito.

En el propio año de 1935 Brumpt hizo un viaje a Ceylán donde, con ayuda de los Dres. Crawford y Burt (Brumpt, 1936) pudo obtener algunas gallinas infectadas que llevó a su laboratorio de París, donde ha conservado la cepa, enviando generosamente animales infectados a otros laboratorios de diversas partes del mundo, entre los que tenemos la fortuna de que se cuente el nuestro.

2.- INCIDENCIA EN LA NATURALEZA.- Como ya antes se dijo Prowazek (1912) parece haber encontrado esta especie en Deli, Sutra, y Crawford (1933) en Ceylán. Muy recientemente Africa, Dy y Soriano (1940) reportan su hallazgo en las Islas Filipinas. En cambio Mathis y Léger en 1918 (cita de Brumpt, 1935) no la encontraron examinando 183 aves en Hanoi, ni R. Sauvel (cita de Brumpt, 1935) que en 1929 examinó 150 pollos en Nhatrang (mismo sitio donde lo encontró Brussaís) y en Pnom-Penh. Nosotros (Beltrán, 1939) tampoco lo encontramos en 127 gallinas de mercado examinadas en la Ciudad de México, ni en los exámenes rutinarios previos de más de 150 pollos y gallos empleados posteriormente para inoculaciones. A la vez, la falta de reportes de hallazgo de este parásito por parte de quienes con diversos fines han estudiado la sangre de gallinas, indica que su existencia debe ser rara. En Ceylán e Indochina la incidencia parece ser poco frecuente, en cambio en Filipinas, de 1,047 gallinas examinadas por Africa, Dy y Soriano, 125, o sea cerca del 12% estaban infectadas; estos autores, además indican haber encontrado otro plasmodio en la gallina, que parece pertenecer a diferente especie lo que, de confirmarse, resultaría muy interesante.

3.- SUSCEPTIBILIDAD DE OTRAS ESPECIES.- Brumpt (1936, 1936a) realizó experimentos de transmisión a diversas aves domésticas y silvestres con los siguientes resultados: las gallinas de todas las razas estudiadas por él son susceptibles a la infección; por nuestra parte, hemos trabajado con pollos Leghorn y con pollos mestizos corrientes, de las más diversas cruces, notando que todos eran susceptibles a la infección, aunque los Leghorn parecían más sensibles a ella. El ganso y el faisán pueden presentar infecciones mortales, como las de la gallina; el guajolote, el pavo real y la perdiz sólo se infectan débilmente. En cambio, a pesar de numerosos ensayos, se mostraron refractarios en los experimentos de Brumpt, el pato, el canario, la pintada, la paloma, el pinzón, la tortola, la agachona, el gavián, el gorrión, la garza, el "calfat" y el "garde-boeufs du Maroc" (*Bubulcus ibis*).

4.- TRANSMISIÓN.- hasta la fecha muy pocos ensayos se han hecho para determinar la susceptibilidad de diversas especies de mosquitos como transmisores de *Plasmodium gallinaceum*. Se sabe que puede ser transmitido por *Aedes aegypti* (Brumpt, 1936), *A. albopictus* (Brumpt, 1936a) y *A. geniculatus* (Roubaud, Colas-Belcour y Mathis, 1939). Se han mostrado en cambio refractarios *Culex fatigans* (Brumpt, 1936), *C. pipiens* y *Culex* sp. (de Richelieu, Indre-et-Loire) (Brumpt, 1936a).

5.- EPIDEMIOLOGÍA.- En sus trabajos de 1936 y 1936a, Brumpt llama la atención sobre los problemas epidemiológicos que presenta la curiosa distribución de *Plasmodium gallinaceum*; y basándose en los resultados de sus experimentos de inoculación a aves salvajes, muchas de las cuales viven en las zonas donde se conoce la existencia de este parásito, mientras que su incidencia en la gallina parece ser rara (este trabajo de Brumpt es anterior al ya citado de Africa y colaboradores que reportan una mayor incidencia en Filipinas), supone que la gallina no sea sino huésped accidental de un plasmodio de ave salvaje de distribución limitada. A la vez Brumpt (1936) se pregunta por qué este parásito no se ha diseminado en todas partes donde existe el *Aedes aegypti*, llegando a la conclusión que tal cosa puede deberse, muy probablemente, a que las gallinas de los países donde ha sido señalado el *P. gallinaceum* son consumidas localmente, no dando de esta manera la oportunidad de que, exportándolas, puedan ir a infectar los mosquitos de otras regiones. A la vez, Roubaud, Colas-Belcour y Mathis (1939) comentando el hecho de haber encontrado que una forma paleártica como el *Aedes geniculatus*, es capaz de transmitir el *P. gallinaceum* expresan: "Esto muestra una vez más que la repartición geográfica de una afección parasitaria o microbiana transmitida por un insecto picador, no se encuentra regida fundamentalmente por la distribución geográfica de un huésped intermediario susceptible de transmitirla. Vectores perfectamente capaces de vehicular una infección, o de servir de huéspedes intermediarios a un hemoparásito cuando las circunstancias exteriores lo permiten, pueden existir en territorios muy alejados geográficamente de las zonas normales de endemidad".

6.- INFECCIÓN EXPERIMENTAL.- Desde los primeros trabajos de Brumpt (1936, 1936a) se ha reportado la infección experimental con *Plasmodium gallinaceum*, sea por inoculación de sangre parasitada, sea por el empleo de mosquitos previamente infectados.

En el caso de empleo de mosquitos para provocar infecciones se ha procedido en la forma habitual, bien conocida en la técnica malariológica. Por lo que respecta a la inoculación con sangre, se han empleado también las vías acostumbradas: peritoneal (Brumpt, 1936), intramuscular (diversos autores), intravenosa (diversos autores).

Recientemente Shortt y Menon (1940) reportaron haber logrado la infección de siete pollitos de un lote de 17 animales de 2 a 4 semanas, a los que proporcionaron sangre parasitada con *P. gallinaceum*, por vía oral. Repitiendo los experimentos de los autores ingleses, con una técnica rigurosa, hemos podido confirmar el trabajo de Shortt y Menon, esto es, la posibilidad de provocar la infección de pollos con *Plasmodium gallinaceum*, por vía oral, aunque en una proporción menor (Beltrán y Larenas, 1941). Actualmente se están desarrollando en nuestro laboratorio experimentos tendientes a explicar el mecanismo de este fenómeno.

7.- SINTOMATOLOGÍA Y PATOLOGÍA.- Después de la inoculación hay un periodo prepatente variable. En la literatura existen numerosas referencias a este periodo, pero, desgraciadamente, no hay uniformidad en las mismas, lo que impide hacer comparaciones fructuosas de los resultados alcanzados por los diversos autores, Brumpt (1936) reporta una incubación de 5-10 días con inoculación intraperitoneal; Brumpt (1936a) con *Aedes aegypti* y *A. albopictus* de 5 a 11 días; Henry (1936) de 5-6 días con mosquitos, y de 1-8 días con inoculación intravenosa; Jacobi (1939) de 5-9 días con inoculaciones intramusculares de sangre en pollos Leghorn de 2 a 6 meses; Dutrem y Esquivel Medina (1939) de 5 a 6 días con inoculación intravenosa y de 8 a 11 con inoculación intramuscular; Roubaud, Colas-Belcour y Mathis (1939), con *Aedes geniculatus*, 17 días, en un solo caso; Lumsden y Bertram (1940), reportan las siguientes medias: 6.41 ± 0.34 en inoculaciones intramusculares en pollos de 5 a 6 semanas, 2.75 ± 0.19 en inoculaciones intravenosas en pollos de las mismas condiciones, y 9.0 ± 0.15 días, en inoculaciones por *Aedes aegypti*, en pollos de 8 a 16 semanas (1); Ungo-Mugdan (1939), reporta una incubación de 4 a 7 días (media de 5) en inoculación con sangre, sin precisar vía, y de 8 a 19 días (media 10) para inoculaciones con *Aedes albopictus*; en nuestras propias observaciones (trabajos no publicados) hemos podido notar que el periodo prepatente varía grandemente con la raza del animal, edad, vía de inoculación y, probablemente, número de parásitos inoculados, habiendo obtenido incubaciones desde 1 hasta 10 días, lo que como se ve es muy variable.

(1) Sin embargo, estas medidas tan exactamente calculadas, no parecen representar muy adecuadamente la realidad que se desprende de la lectura del trabajo ya que el número de casos observados es pequeño (29, 16 y 16 respectivamente) y los valores extremos muy separados entre sí.

Generalmente la infección, después del periodo prepatente, entra en una etapa en que los parásitos se multiplican rápidamente. Brumpt (1936) llama la atención al punto de que hasta el 90% (y aun el 95%, Brumpt, 1937) de las hematíes en la sangre circulante pueden estar parasitados. Esta fuerte infección parece haber sido notada por todos los autores subsecuentes, aunque no encontramos en la literatura referencias numéricas exactas sino en contadas ocasiones. Dutrem y Esquivel Medina (1939) dicen que "en tres o cuatro días puede ascender a 50% y llegar a 90%". En nuestros experimentos hemos observado porcentajes de glóbulos rojos parasitados semejantes a los citados por Brumpt o sea el 83% (no publicados); esta manera de estimar la infección no nos parece muy adecuada, puesto que en la mayoría de los casos, muchos eritrocitos están pluriparasitados, en consecuencia la hemos substituido por la estimación del número de parásitos por 10,000 eritrocitos, que parece más exacta, encontrando cifras tan elevadas como 20,500 parásitos por 10,000 eritrocitos (datos no publicados).

Por lo común, las infecciones elevadas matan a los animales (Brumpt, 1936, 1936a; Dutrem y Esquivel Medina, 1939; Beltrán, datos no publicados) pero en ocasiones se recuperan aun habiendo tenido una fuerte proporción de parásitos (61%, 63% y 70%, en tres casos nuestros no publicados) siendo entonces muy raras las recaídas (Brumpt, 1936, confirmado en nuestras observaciones), aunque pueden obtenerse experimentalmente con esplenectomía, pero no con el empleo de adrenalina, como sucede en otros casos (Brumpt, 1936). Cuando los animales se recuperan, los exámenes frecuentes de sangre se muestran negativos, y sólo ocasionalmente se descubre alguna forma parasitaria; sin embargo, en nuestras observaciones, hemos provocado fácilmente infecciones inoculando pequeñas cantidades (0.1 a 0.2 c.c.), de sangre de animales que habían sido inoculados más de un año antes, y que tenían muchos meses de recuperación, con la sangre periférica aparentemente negativa. Por analogía a lo que pasa en el canario con *Plasmodium cathemerium* y otros, es de pensarse que la infección dure tanto como la vida del ave.

Brumpt (1936) hace notar que la sintomatología de la infección es casi nula, salvo en los dos días anteriores a la muerte, cuando ésta sobreviene. Nosotros hemos notado siempre lo mismo, aunque en ocasiones el animal se muestre algo decaído; por lo común, en los días inmediatamente anteriores a la muerte, se ve al ave triste, pálida, somnoliente, con movimientos muy lentos y respuesta tardía a los

estímulos exteriores. Brumpt hace notar (1936, 1936a) que a pesar de la fuerte infección, no hay elevación de la temperatura, lo que parece tan importante que, en el segundo de sus trabajos dice: "La ausencia de fiebre en el paludismo aviar debe llevarnos a revisar las hipótesis patogénicas emitidas con respecto a las fiebres palustres humanas, y su periodicidad". La resistencia a la infección parece aumentar con la edad (Brumpt, 1936; Dutrem y Esquivel Medina, 1939; Beltrán, no publicado).

Por lo que hace a las alteraciones anatómo-patológicas que se presentan en el curso de esta infección (Brumpt, 1936a), hace notar que el bazo está generalmente hipertrofiado, rojo oscuro o negruzco, aunque no tan negro como en otras aves infectadas con otros plasmodios o hemoproteos, aunque en otro trabajo (Brumpt, 1937) menciona un grueso bazo negro, hígado en las mismas condiciones y profunda anemia.

Jacobi (1939) en un trabajo sobre la patología de la infección por *Plasmodium gallinaceum*, hace notar que, aunque no se controlaron adecuadamente los individuos en experimentación (51 pollos Leghorn blancos de 2 a 6 meses), los animales fuertes, mantenidos en ambiente adecuado, raramente morían de la infección, curando más pronto los más robustos; todos parecen ser muy sensibles al frío siendo de notar que la cifra de mortalidad más alta fue en otoño y no en primavera. En muchos casos la muerte debe atribuirse a la aparición de formas exoeritrocíticas. Durante el periodo de los accesos, los animales aparecen anémicos y débiles, se nutren escasamente y la cresta se nota pálida. En el pollo, al revés del canario, sólo se observan raramente eritrocitos jóvenes en la sangre. (Brumpt, 1936, dice: "cuando el acceso parasitario termina todos los antiguos eritrocitos son destruidos y reemplazados por nuevos que nacen rápidamente"). En lo que hace al número de glóbulos rojos su cantidad puede disminuir, en los ataques agudos, hasta la tercera parte de lo normal; el valor de la hemoglobina baja también, con mayor rapidez que el número de eritrocitos, puesto que los invadidos tienen menos hemoglobina que el resto. El animal pierde poco peso, y no se notan exteriormente los signos de la parálisis que James y Tate (1938) indican pueden producirse cuando se obstruyen los capilares cerebrales con formas exoeritrocíticas. Chortis (1938) hace notar que la muerte se debe a fuerte anemia, producida por la destrucción y precoz de los glóbulos rojos.

En nuestros experimentos (datos no publicados) además de comprobar los datos antes mencionados, hemos podido encontrar con gran constancia un derrame pericárdico de naturaleza serosa, que forma con el pericardio una gran bolsa que, en ocasiones, parece llenar toda la cavidad torácica del animal. Esta alteración patológica ya había sido citada por Brumpt (1937) y por James (1939).

8.- CITOLOGÍA.- En su trabajo original de 1935, Brumpt acompaña su descripción de *Plasmodium gallinaceum* con una lámina con 18 figuras en negro que, posiblemente, como dice el autor, ofrecen una "idea precisa" de la morfología del parásito, aunque no dan ningún detalle citológico fino. Manwell (1938) en su clave para la identificación de los plasmodios aviarios, da una descripción sumaria de los caracteres de la especie, y llama la atención de que ha observado gametocitos alargados que llenan completamente el citoplasma, y no sólo de formas redondas o irregulares como los describe Brumpt. Giovanola (1938) hace el más cuidadoso estudio citológico de esta especie, que hasta la fecha se ha realizado y ofrece, además de una descripción amplia, una bella lámina a colores y varias fotografías que la ilustran. En su trabajo de 1939, el autor mencionado vuelve a repetir lo dicho en el acabado de citar, pero en las láminas a colores agrega una nueva figura de una forma en esporulación, distinta a las incluidas en el artículo de 1938; Corradetti (1938a) contribuye con algunas observaciones morfológicas; Raffaele (1938) describe en detalles e ilustra a colores, la formación y estructura de los gametos masculinos; Ungo-Mugdan (1938) aplica la reacción de Feulgen al estudio de esta especie y encuentra que todas las fases del ciclo esquizogónico son negativas con excepción de los "esquizontes adultos con merozoites en formación", que resultan débilmente positivos. En la actualidad, el Prof. Huff, de la Universidad de Chicago, está haciendo un amplio estudio de la citología de los plasmodios aviarios, en que incluirá lo relativo a *Plasmodium gallinaceum*, en material que para tal fin le fue remitido por nosotros, a solicitud suya. Al mencionar, en renglones anteriores, lo que hasta la fecha se conoce con respecto a la citología de *P. gallinaceum* en el huésped vertebrado, nos hemos referido exclusivamente a las formas endoeritrocíticas, ya que los diversos problemas que se relacionan con las formas exoeritrocíticas, serán tratados en lugar especial.

Por lo que hace a la fase sexuada, Brumpt (1936, 1936a) la ha estudiado con bastante detalle y con buenas figuras, que describen aceptablemente los grandes aspectos morfológicos, pero que todavía requieren ser completados con una cuidadosa investigación citológica. Este aspecto no ha vuelto a ser tratado, y esto en forma bastante superficial, sino por Lumsden y Bertram (1940).

9.- CICLO VITAL.- Por lo que hace al ciclo esquizogónico en el huésped vertebrado, el mismo fue estudiado por Giovanola (1938) observando su duración y características en pollos inoculados con sangre infectada, encontrando una duración de 36 horas, con una periodicidad igual, y una muy marcada sincronidad. Lumsden y Bertram (1940)

alcanzaron resultados confirmatorios de los de Giovanola. Beltrán y Larenas (1940), encontraron que la duración del desarrollo esquizogónico era predominantemente de 42 horas, con una periodicidad semejante, y una sincronidad muy alta, aunque sumamente variable de unos animales a otros. Soberón y Parra (comunicación personal) han notado, en confirmación con nuestros estudios, que a lo menos, la duración del ciclo esquizogónico es mayor a las 36 horas reportadas por Giovanola.

El ciclo sexuado en el mosquito fue estudiado detenidamente por Brumpt (1936a) quien describe y figura cuidadosamente las diversas fases encontradas, reportando que en una disección de *Aedes aegypti*, al octavo día después de picar, encontró más de 1,650 oocistos en el estómago, lo que, según él, sobrepasa a lo encontrado en cualquier otra especie de plasmodio aviar. Observó igualmente que, a partir del 12° día de la infección, a 22-27 grados C, los mosquitos pueden transmitir la enfermedad a pollos nuevos, lo que indica la terminación del ciclo sexuado en ese tiempo y la producción de esporozoitos maduros. Hace notar que frecuentemente se observan en los mosquitos las "esporas negras" de Ross, originadas en la degeneración de oocistos en 11 días, y esporozoites, las cuales describe con mayor detalle en 1938. Roubaud, Colas-Belcour y Mathis (1939) en experimentos llevados a cabo con *Aedes geniculatus*, mantenidos a 22-24 grados C, se encuentran oocistos en 11 días, y esporozoites en las glándulas salivales para el 15 día, fecha en la que ya es posible transmitir las infecciones a pollos limpios; Lumsden y Bertram (1940), reportan sus experimentos de infección de *Aedes aegypti*, haciendo notar que la sangre del pollo es infectiva para el mosquito, desde el momento en que comienzan a aparecer parásitos en la sangre, discutiendo las relaciones entre las generaciones de gametocitos y el porcentaje de oocistos encontrados en los mosquitos.

10.- FORMAS EXOERITROCÍTICAS.- James y Tate (1937) reportaron e ilustraron con las preparaciones respectivas (James y Tate, 1937a) el descubrimiento hecho por ellos de un nuevo ciclo de desarrollo esquizogónico, que ocurre en las células del retículo endotelial, de los que ya existían referencias con respecto a *Plasmodium elongatum* (Huff y Bloom, 1935) y a *P. relictum* (Raffaele, 1936). Los esquizontes "exoeritrocíticos" (nombre propuesto para ellos por James y Tate, 1938) se encuentran en diversas células del retículo endotelial y aun (según los autores citados) en los leucocitos circulantes, especialmente monocitos y se caracterizan por carecer de pigmento malárico, ya que no viven en células con hemoglobina, y formar numerosos merozoites (50 a 60 o más); el cerebro parece ser un foco especialmente importante de estas formas exoeritrocíticas, que se desarrollan en grandes cantidades en el endotelio de los capilares cerebrales, hasta llegar a bloquearlos produciendo síntomas de parálisis en los animales. En un trabajo posterior James (1939) discute la posible significación de las formas exoeritrocíticas, estudiando experimentalmente su producción en infecciones provocadas con esporozoites y con merozoites, llegando a la conclusión que "en las infecciones por esporozoites nacen en primer lugar de estos organismos en los primeros días de la infección, pero... en estados posteriores... pueden originarse de parásitos en los glóbulos rojos".

El descubrimiento de las formas exoeritrocíticas fue recibido con el mayor interés, y provocó una serie ininterrumpida de trabajos, tanto para determinar la verdadera significación y características del mismo, como para ver si daba luces que aclararan los puntos oscuros existentes en la historia de los plasmodios, por ejemplo, en lo que hace a sus primeras etapas en el huésped vertebrado, que son todavía un positivo misterio. Los trabajos a este respecto son numerosos y sumamente interesantes, pero su misma abundancia nos impide analizarlos en detalle, por lo que simplemente los citaremos en orden cronológico, con una ligera referencia al contenido de los mismos.

Brumpt (1937) fue el primero en confirmar el hallazgo de James y Tate, pronunciándose en contra de la opinión expresada por algunos, de que pudiera tratarse de formas de desarrollo de algún otro parásito (especialmente *Toxoplasma*) y comentando hallazgos semejantes en otras aves. Kikuth (1937) estudio y confirmó la existencia del ciclo exoeritrocítico en *P. gallinaceum* y, posteriormente (Kikuth y Mudrow, 1940) discute las evidencias presentadas acerca del significado de este ciclo, y concluye que su existencia está definitivamente demostrada, pero aun es discutible si todas las formas exoeritrocíticas (aun después de inoculación con sangre) derivan de los esporozoites, y si los parásitos de los glóbulos rojos pueden transformarse en las fases endoteliales. Missiroli (1937) refiere los hechos ya conocidos acerca del desarrollo del *P. elongatum* fuera de los glóbulos rojos, y agregando el reciente hallazgo de James y Tate en *P. gallinaceum*, sugiere que estas dos especies sean separadas del género *Plasmodium*; creando con ellas un nuevo género, para el que propone el nombre de *Istiocytozoon*, con lo que James y Tate (1938) no se muestran de acuerdo, pensando que nuevos estudios puedan demostrar fases semejantes en otros plasmodios; Raffaele (1937) apoyándose en lo observado en *P. gallinaceum*, y en vista de la imposibilidad que ha existido para comprobar la afirmación de Schaudinn de que el esporozoite penetra directamente en el glóbulo rojo, concluye que los parásitos deben tener un ciclo previo de desarrollo en las células del retículo endotelial, suponiendo que lo mismo ha de suceder en el hombre; en un trabajo posterior (Raffaele, 1938) analiza el problema planteado con la descripción de las formas exoeritrocíticas, llegando a la conclusión de que éstas son específicas en el ciclo esquizogónico de los plasmodios, y haciendo notar que la confusión se ha

originado por los diversos cuerpos y organismos que se han descrito en los órganos de los vertebrados, y que corresponden a cosas muy distintas; Raffaella (1938a) estudia también lo que se sabe de la fase primaria de diversos plasmodios en el huésped vertebrado y llega a la conclusión, en *P. gallinaceum*, que los esporozoitos dan lugar a una primera generación de formas histotrópicas, que van a las células de retículo, dando origen a nuevas generaciones de merozoites, tanto histotrópicos como hemotrópicos; estos últimos, según él, no podrían dar nuevamente origen a formas apigmentadas las cuales, cuando se presentan después de una inoculación con sangre, se deberían a la presencia en la misma de elementos de esa naturaleza. Corradetti (1938, 1938a) estudia el paralelismo que se observa en la esquizogonia ordinaria en los glóbulos rojos, comparada con la esquizogonia exoeritrocítica, concluyendo que las diferencias entre las mismas se deben a las condiciones tan diversas de las células huéspedes; supone que los dos ciclos esquizogónicos (intra y extraesquizogónico) pueden derivar de merozoites de la misma naturaleza y hace notar la falta de gametocitos entre ellos, bien porque el merozoite al penetrar en la célula endotelial no estuviere aun diferenciado, y necesita la presencia de la hemoglobina para ello, o bien porque los que irán a ser gametocitos tengan un histotropismo negativo no penetrando en las células del retículo.

En otro trabajo del mismo autor (Corradetti, 1938b) se estudia los que se conoce con respecto a las formas exoeritrocíticas, y se llega a concluir: a) que la llamada "hipótesis de James", debe llamarse más bien de Grassi y Golgi, por encontrarse los gérmenes de esa idea en los trabajos de dichos sabios italianos; b) que la existencia de formas exoeritrocíticas es independiente de la introducción de esporozoites; y c) que en vista del descubrimiento de esa fase endotelial en el ciclo esquizogónico de varios plasmodios, resulta artificial la distinción entre las familias *Plasmodiidae* y *Haemoproteidae*, las que deben fusionarse en una sola, cuyo nombre correcto sería *Plasmodiidae*, Mesnil, 1903; este punto de la necesidad de revisar el estado taxonómico de estas dos familias, ante los descubrimientos recientes, había sido expresado ya por James y Tate (1938) independientemente. Chortis (1938, 1938a, 1938b) supone que el desarrollo de los esquizontes en las células del retículo endotelial es una ocurrencia accidental, debida a reducción en la función fagocítica de las mismas. Ungo-Mugdan (1938) estudia el comportamiento de las formas exoeritrocíticas con la reacción de Feulgen, y encuentra que son positivas, concluyendo que esa diferencia microquímica, revelada por el Feulgen, puede explicar la diversa susceptibilidad a los medicamentos en las formas intra y extra-eritrocíticas.

En otro trabajo (Ungo-Mugdan, 1939) discute la aparición de las formas exoeritrocíticas después de inoculación con esporozoites, en cuyo caso se les encuentra en el 50% y en el 71% respectivamente de los animales sacrificados el primero y el segundo días después de la aparición de parásitos en la sangre; mientras que no se han encontrado en esos periodos tempranos cuando la inoculación es con merozoites. Decourt y Schneider (1938, 1938a) describiendo los experimentos de inoculación de muy pequeñas cantidades de tejido linfóide y de timo de pollos infectados, que dieron resultados positivos, mientras que la inoculación con cantidades cientos de veces mayores de otros órganos no las producían; hacen notar que nunca han encontrado en las células linfoides las conocidas formas exoeritrocíticas pero si, en cambio, pequeños granos, semejantes a gránulos de cromatina, de 1 a 1.5 micras de diámetro, comparables con los que han hallado en la sangre circulante en el protoplasma de los grandes linfocitos, al final del periodo prepatente, relacionando las observaciones anteriores con el hecho de que, en sangre infectada, conservada en solución citratada, han visto también la producción de gránulos semejantes. Chortis (1938) estudia el comportamiento del sistema retículo endotelial y llega a la conclusión de que, el ciclo exoeritrocítico es "un retorno ancestral, consecuencia de la función reducida de las células endoteliales... fenómeno accidental que no constituye un ciclo necesario en la vida del parásito". Henry (1939) ha tratado de investigar el poder infectante de la sangre en el periodo de incubación, encontrando que solamente lo es después del 5° día; también trató de probar si la enfermedad podría transmitirse inyectando sólo leucocitos con suero (separados de los hematíes), y aunque los resultados fueron positivos, la falta de seguridad en lo que respecta a la eliminación total de los eritrocitos, hace imposible pronunciarse definitivamente al respecto. Dutrem y Esquivel Medina (1939) encuentran sólo formas exoeritrocíticas en pollos no mayores de seis semanas, lo cual no coincide con nuestras observaciones y las de otros investigadores. Short, Menon y Seetharama Iyer (1940) reportan haber encontrado formas exoeritrocíticas 6 días después de la inyección de esporozoites, y antes de la aparición de forma alguna en los glóbulos rojos.

11.- CULTIVO.- Hasta la fecha este plasmodio, como los demás miembros del género, no ha podido ser cultivado. Gavrilov, Bobkoff y Laurencin (1938), empleando un método usado anteriormente por ellos (Gavrilov y Laurencin, 1938) para el estudio de las leishmanias, trataron de cultivar *P. gallinaceum*, sin resultado, en complejos de células y tejidos de bazo embrionario o adulto, y en fragmentos de tejido embrionario; en cambio pudieron hacer sobrevivir al parásito 10 días, a 37-38° C en complejo de médula adulta y embrionaria, lo que los autores se preguntan si puede considerarse como un comienzo de cultivo. En sus investigaciones pudieron notar también otros puntos de interés, como son, que el embrión de pollo de 8 días es refractario a la infección y que, en sangre heparinada o desfibrinada, conservada a 37-38° C, el *P. gallinaceum* sólo sobrevive 5 días, mientras que si se

mantiene entre 0° y 5° C, puede sobrevivir y conservar su virulencia hasta por 21 días.

12.- SEROLOGÍA E INMUNOLOGÍA.- Brumpt (1936a) hace notar, como dijimos en otro lugar, que los pollos infectados (con sangre o con esporozoites), contraen siempre la enfermedad, lo que, confirmado por nosotros en más de 150 inoculaciones (datos no publicados) parece indicar que no hay inmunidad natural contra este parásito (en las condiciones experimentales), aunque la variación en los periodos de incubación, diversos grados de infección y diferente evolución de la enfermedad, demostrarían grandes diferencias en la intensidad de los mecanismos defensivos del pollo. También se sabe que la premunición adquirida por un animal previamente inoculado y aparentemente curado, es muy fuerte, lo que quizá se debe a que la parasitación se mantiene latente. Chorine (1938, 1938a) estudiando la reacción de Henry en los pollos, ha podido notar que es positiva en los sanos, disminuye a veces de intensidad 1 o 2 meses después del principio de la infección y aumenta enseguida, sin llegar nunca al nivel de las gallinas sanas. Para explicar este comportamiento estudia las modificaciones cuantitativas en el suero de las gallinas, encontrando en el curso de la infección con *P. gallinaceum*, aumentó en protéidos totales, que luego desciende; albúmina aumentada en los casos agudos y normal en los crónicos; globulinas totales aumentadas; concentración molecular muy poco variable; hace notar igualmente que "Las modificaciones séricas que se encuentran en el hombre palúdico y que condicionan la reacción de Henry son completamente diferentes de las que se ven en el curso del paludismo de las gallinas". Recientemente Mulligan y Russell (1940) publicaron una nota preliminar acerca de la aglutinación de esporozoites de *P. gallinaceum* con sueros de gallinas con casos crónicos de paludismo, en dilución de 1/8.000, ofreciendo mayores datos para algún trabajo posterior. Soberón y Parra (1941), en una nota preliminar reporta que la inyección intradérmica de glóbulos rojos de gallina con *P. gallinaceum* provoca en las personas sanas una ligera reacción local, que no se presenta en individuos con paludismo en su periodo agudo (con parásitos en la sangre), lo que cree puede ser de importancia para el diagnóstico, si estudios posteriores comprueban la constancia y especificidad de la reacción en caso del paludismo.

13.- QUIMIOTERAPIA.- Brumpt, Bovet y Brumpt (1937) ensayaron la acción de la quinina, plasmocina, atebriina y ridoquina en infecciones con *Plasmodium gallinaceum*, encontrando todas estas drogas muy efectivas como agentes curativos, pero ineficaces como preventivos. Dutrem y Esquivel Medina (1939) ensayaron la acción terapéutica de algunas plantas mexicanas, tenidas en Yucatán como antipalúdicas: *Aristolochia foetida*, *Cassia occidentalis*, *Morinda yucatanensis* y "paltosán", con resultados negativos en todas ellas. Lumsdan y Bertram (1940) estudiaron la acción de la plasmocina y la prequina en su aspecto gametocida, ensayando las dosis capaces de evitar la infección de mosquitos que se alimentan de sujetos tratados, encontrando que en 15 mgr. de plasmocina por kgm de animal, administrada oralmente, es imposible infectar mosquitos (*A. aegypti*) que se alimenten en ellos de 46 horas a 6 días después de administrada la dosis. A dosis menores la infectividad aumenta para los mosquitos, hasta que con 0.14 mgr por kgm de peso, no es posible evitar la infección.

14.- PROBLEMAS POR INVESTIGAR.- La consideración de los datos mencionados en párrafos anteriores nos muestra que, si bien es cierto que a la fecha tenemos un aceptable conocimiento general de esta especie, en cambio no existe ningún aspecto de la misma que no reclame urgentemente nuevas investigaciones. Entre los puntos más importantes que creemos deban orientar los futuros trabajos se cuentan: búsqueda de su incidencia en la naturaleza en zonas no investigadas; posibilidad de que existan otros plasmodios en la gallina; susceptibilidad diferencial de las diversas razas de gallinas domésticas; comportamiento de posibles huéspedes no investigados hasta la fecha; ensayo de nuevas especies de mosquitos como posibles vectores; características de las infecciones experimentales en relación con las condiciones variables del huésped, el inóculo y el medio ambiente; sintomatología y patología de la infección, tan mal conocidas aun; mecanismo de la recientemente descubierta inoculación por vía oral; citología detallada de la especie en sus diversas fases; factores capaces de modificar el ciclo vital sexuado y asexuado; significación real de las formas exoeritrocíticas y posible pleomorfismo de la especie; métodos de cultivo; inmunología del padecimiento, casi totalmente ignorada; ensayo de nuevas drogas, naturales y sintéticas, etc., etc.

REFERENCIAS

- AFRICA, C.M., F.J. D.Y and L.J. SORIANO, 1940. "A study on the identity of a *Plasmodium* in the Philippines domestic fowl (*Gallus gallus*)". *Nat. and App. Sc. Bull. Univ. Phil.*, 7: 279-289.
- BELTRÁN, E., 1939. "Investigación protozoológica de la sangre de 276 aves de mercado en la Ciudad de México". *Rev. Inst. Salub. y Enf. Trop., México*, 1: 67-72.
- BELTRÁN, E. y R. LARENAS, 1940. "El ciclo esquizogónico en *Plasmodium gallinaceum* Brumpt" *Rev. Inst. Salub. Enferm. Tropicales*, 1: 291-309.

- BELTRÁN, E. y R. LARENAS, 1940. "Producción de malaria aviar con *Plasmodium gallinaceum* por vía oral" *Rev. Inst. Salub. Enferm. Tropicales*, 2: 87-94.
- BRUMPT, E., 1935. "Paludisme aviaire: *Plasmodium gallinaceum* n.s.p. de la poule domestique". *C.R. de la Ac. de Sciences, paris*, 200: 783-785.
- BRUMPT, E., 1936. "Receptivité de divers oiseaux domestiques et sauvages au parasité (*Plasmodium gallinaceum*), du paludisme de la poule domestique. Transmisión de cet hematozoaire par le moustique *Stegomya fasciata*". *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris*, 203: 750-752.
- BRUMPT, E., 1936a. "Etude expérimentale du *Plasmodium gallinaceum*, parasite de la poule domestique. Transmission de ce germe par *Stegomya fasciata* et *Stegomya albopicta*". *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, 14: 597-620.
- BRUMPT, E., 1937. "Schizogonie parfois intense du *Plasmodium gallinaceum* dans les cellules endotheliales des poules". *Compt. Rend. Soc. Biol., Paris*, 125: 810-813.
- BRUMPT, E., 1938. "Fréquence et origen des "black spores" de Ross au cours de l'infection des Stegomyes par le *Plasmodium gallinaceum*". *Ann. paras. Hum. et Comp.*, 16: 220-241.
- BRUMPT, E., D. BOVET et L. BRUMPT, 1937. "Action des medicaments antipaludiques sur l'infection de la poule par le *Plasmodium gallinaceum*". *Scnderab. a.d. fschr. Nocht. Inst. f. Schiffs. u. TROPENkrank, Hamburg*, 61 -66.
- CORRADETTI, A., 1938. "Alcune osservazioni sul ciclo schizogonico del *Plasmodium gallinaceum* e del *P. cathemerium*". *Riv. di Malariol.*, 17:15-19.
- CORRADETTI, A., 1938a. "Su alcune fasi del ciclo schizogonico del *Plasmodium gallinaceum* e *P. cathemerium*". *Rend. R. Acc. Naz. Lincei, Classe Sc. F.M.N.*, 27: 121-122.
- CORRADETTI, A., 1938b. "Osservazioni sul ciclo schizogonico dei plamsodi nelle cellule dei tessuti e proposta di una nuova classificazione degli Haemosporidiidae". *Riv. di Parasit.*, 2: 23-37.
- CRAWFORD, M., 1933. "Administration Report of the Government Veterinary Surgeon for 1933". Colombo, 21 p. (Veter., Bull. IV, 1934, p. 592).
- CHORINE, V., 1938. "Modifications quantitatives des protéides sériques au cours de l'infection due au *Plasmodium gallinaceum* chez les poules". *Compt. Rend. Soc. Biol., Paris*, 127: 391-393.
- CHORINE, V., 1938a. "Modifications sériques chez les poules au cours de l'infection due au *Plasmodium gallinaceum*". *Compt. Rend. Soc. Biol., Paris*, 127: 1189-1191.
- CHORTIS, P., 1938. "Su alcuni stadi di sviluppo del *Plasmodium gallinaceum* Brumpt". Nota I. *Ridiconti Istituto di Sanità Pubblica, Roma*, 1: 532-539. (no se logró consultar en el original).
- CHORTIS, P., 1938a. "Su alcuni stadi di sviluppo del *Plasmodium gallinaceum* Brumpt". *Riv. di Parasit.*, 2: 121-128.
- CHORTIS, P., 1938b. "Sulle alterazioni del sistema reticolo endoteliale nelle infezioni da *Plasmodium gallinaceum*". *Riv. di Parasit.*, 2: 315-322.
- DANIELWSKY, B., 1885. "Zur Parasitologie des Bluttes". *Biol. Centralb.*, 5: 529-537.
- DECOURT, PH. et J. SCHNEIDER, 1938. "Les alcunes des nos connoissances sur le cycle plasmodial chez l'hote vertebéré". *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31: 603-609.
- DECOURT, PH. et J. SCHNEIDER, 1938a. "Note preliminaire sur la recherche de la localization et de la morphologic des plasmodes pendant les périodes d'infestation latente". *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31: 609-614.
- DUTREN, W. y E. ESQUIVEL MEDINA, 1939. "Ensayo de la actividad de algunas plantas medicinales mexicanas en el paludismo de las aves". *An. Esc. N. de Cienc. Biol., México*, 1: 263-276.
- GAVRILOV, W. et S. LAURENCIN, 1938. "Aplication d'une méthode de culture de tissue a l'étude des protozoaires".

- Ann. Soc. Belge. Med. Trop.*, 18: 41-56.
- GAVRILOV, W., G. BOBKOFF et S. LAURENCIN, 1938. "Essai de culture en tissue de *Plasmodium gallinaceum*". *Ann. Soc. Belge. Med. Trop.*, 18: 429-434.
- GIOVANNOLA, A., 1938. "Il *Plasmodium gallinaceum* Brumpt, 1935, i cosi detti corpi Toxoplasma-simili ed alcune inclusioni di probabile nature parassitaria nei globuli bianchi del *Gallus gallus*". *Riv. di Parasit.*, 2: 129-142.
- GIOVANNOLA, A., 1938. "I plasmodi aviari". *Riv. di Parasit.*, 3. 1-46
- HENRY, CH., 1939. "Pouvoir infestant du sang au cours de l'incubation du paludisme de la poule (*P. gallinaceum*), inoculé par moustiques". *Bull. Soc. Path. Exot.*, 32; 30-34.
- HEWITT, R., 1940. "Bird Malaria", Baltimore, 1940.
- JACOBI, L., 1939. "Beitrag zur Pathologie der Infektion des Huhnes mit *Plasmodium gallinaceum* (Brumpt)". *Arch. Exp. Path. u. Pharmacol.*, 191: 482-491.
- JAMES, S.P., 1939. "The incidence of exo-erythrocytic schizogony in *Plasmodium gallinaceum* in relation to the mode of infection". *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 32: 763-769.
- JAMES, S.P. and P. TATE, 1937. "New knowledge of the life cycle of malaria parasites". *Nature, London*, 139: 545.
- JAMES, S. and P. TATE, 1937a. "Preparations illustrating the recently discovered cycle of avian malaria parasites in reticulo-endothelial cells". *Trans. Roy. Soc. Trop. Med Hyg.*, 31: 4-5.
- JAMES, S. and P. TATE, 1938. "Exo-erythrocytic schizogony in *Plasmodium gallinaceum* Brumpt, 1935". *Parasitology*, 30: 128-139.
- KIKUTH, W., 1932. "Zur Weiterentwicklung synthetisch dargestellter Malariamittel. Ueber die chemotherapeutische Wirkung des Atebrin". *Deutsch. Med. Wschr.*, 58: 530-531.
- KIKUTH, W., 1937. "Endotheliale Schizogone der Hünermalaria (*P. gallinaceum* E. Brumpt, 1935)". *Centralb. f. Bakt.*, 140: 227-230.
- KIKUTH, W. und L. MUDROW, 1940. "Die Umwandlung des Sporozoiten in die endotheliale Phase der Malariaparasiten". *Riv. di Malariol.*, 19:1-15.
- KOCH, R., 1899. "Ueber die Entwicklung der Malariaparasiten". *Zschr. f. Hyg u. Infekt.*, 32:1-24.
- LAVERAN, A., 1880. "Note sur un nouveau parasite trouvé dans le sang des malades atteints de fièvre palustre". *Bull. Acad. Med.*, 9: 1235, 1268, 1346.
- LUMSDEN, W.H.R. and D.S. BERTRAM, 1940. "Observations on the biology of *Plasmodium gallinaceum* Brumpt, 1935, in the domestic fowls, with special reference to the production of gametocytes and their development in *Aedes aegypti* (L)". *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, 34:135-160.
- LUMSDEN, W.H.R. and D.S. BERTRAM, 1940. "The effect of plasmoquine and praequine on the subsequent development of gametocytes *Plasmodium gallinaceum* Brumpt, 1935, in *Aedes aegypti* (L)". *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, 34:161-172.
- MAC-CALLUM, W., 1897. "On the flagellated form of the malarial parasite". *Lancet*, 11:1240-1241.
- MANWELL, K.D., 1938. "The identification of the avian malarias". *Amer. Jour. Trop. Med.*, 18: 565-575.
- MISSIROLI, A., 1937. "Sullo sviluppo dei parassiti malarici". III. *Riv. di Malariol.*, 19: 99-107.
- MULLIGAN, H.W. and P.F. RUSSEL, 1940. "Agglutination of sporozoites of *P. gallinaceum*, Preliminary Note". *Journ. Malaria Inst. of India, Calcutta*, 3:199.
- PROWAZEK, S. VON., 1912. "Beitrag zur Kenntnis der Protozoen und verwandter Organismen von Sumatra (Deli)". *Arch. f. Protist.*, 26: 258-274.

- RAFFAELLE, G., 1937. "Sullo sviluppo iniziale dei parassiti malarici nell'ospite vertebrato". *Riv. di Malariol.*, 16: 185-198.
- RAFFAELLE, G., 1938. "Evoluzione di *Plasmodium*, *Toxoplasma* ed altri microrganismi negli organi interni dei vertebrati". *Riv. di malariol.*, 16: 85-100.
- RAFFAELLE, G., 1938a. "La fase primaria dell'evoluzione monogonica dei parassiti malarici". *Riv. di malariol.*, 17: 331-342.
- RAFFAELLE, G., 1939. "Sulla struttura dei gameti maschili dei plasmodidi". *Riv. di Malariol.*, 18: 141-152.
- ROEHL, W., 1936. "Die Wirkung des Plasmodiums auf die Vogel malaria". *Arch. f. Schiffs. u. Tropenhyg.*, 30: 311-318.
- ROSS, R., 1898. "Report on the cultivation of *Proteosoma* Labbé in grey mosquitoes". *Indian Med. Gaz.*, 33: 401-448.
- ROUBAUD, E., J. COLAS-BELCOUR et M. MATHIS, 1939. "Transmission de *Plasmodium gallinaceum* par *Aedes geniculatus*". *Bull. Soc. Path. Exot.*, 32: 28-30.
- SHORTT, H.E. and K.P. MENON, 1940. "Experimental production of monkey and avian malaria by unusual route of infection". *Journ. malaria Inst. India, Calcutta*, 3: 195-198.
- SHORTT, H.E., K.P. MENON and P.V. SEETHERAMA IYER, 1940. "The form of *Plasmodium gallinaceum* present in the incubation period of the infection". *Indian Journ. Med. Res.*, 28: 273-276.
- SOBERON y G. PARRA, 1941. "Notas que pueden ser de importancia para la patología tropical". *Gac. Med. de México*, 1, 71: 388-392.
- UNGO-MUGDAN, A., 1938. "La reazione nucleare di Feulgen negli stadi exoeritrocitici del *P. gallinaceum* Brumpt". *Riv. di Parasit.*, 2: 323-326.
- UNGO-MUGDAN, A., 1939. "Sull comportamento degli stadi exoeritrocitici del *Plasmodium gallinaceum* nelle infezioni con sporoziti e con sangue". *Riv. di parasit.*, 3: 1-5.