

tado especial al Primer Congreso Internacional de Poliomielititis. Posee Licencia (por examen) para practicar la medicina en el Estado de Nueva York; se le confirió la Medalla de Perón (Argentina) y ha sido declarado Huésped de Honor en ciudad de Méjico y Lima.

Sus trabajos incluyen "Effect of various temperatures on the viability of the Neolworm Egg" (Tesis de Doctorado en Salud Pública, Johns Hopkins). Epidemiología de la Fiebre Hemoglobinúrica en referencia a su incidencia en Panamá, (Asociación Médica Nacional), Epidemiología de la Peliagra, (The Isthmian Medical Society), Epidemiología de la Po-

liomielititis, (ante la Academia Panameña de Medicina y Cirugía), Fiebre Amarilla Selvática, (Asociación Médica Nacional), Eficacia de la Vacuna Antivaríolosa Secca, (Ante la Sociedad Médica Panamericana), La Incidencia del Cáncer del Muñón Cervical, (Asociación Médica Nacional), El Problema Venéreo en Panamá, (Ante la Duodécima Conferencia Sanitaria Panamericana, Caracas).

Actualmente, separado del Departamento de Salud Pública por los vaivenes de la política nativa, se dedica a la dirección de los servicios de Bacteriología y otros aspectos científicos de la industria ganadera en el vasto "Ingenio Ofelina", de propiedad de su familia.

"LA IDENTIFICACION Y EL USO DEL SAPO MACHO COMUN PANAMEÑO (BUFOS MARINUS LINNEUS) EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DEL EMBARAZO"

Por J. A. Lavergne, M. D., M. Sc. (Med.). Ginecólogo-Clinica Herrick y Hospital de Panamá.

H. Trapido, Ph. D. Biólogo-Laboratorio Conmemorativo Gorgas.

El diagnóstico precoz del embarazo se presenta a veces como un problema difícil de resolver desde el punto de vista clínico aún para los más expertos ginecólogos y tocólogos. Por muchos años el interés en este asunto se mantuvo latente, pero no fué sino hasta 1927 cuando la contribución de mayor importancia en este campo fué presentada por Ascheln y Zondek al demostrar la presencia de una substancia parecida a la del lóbulo anterior a la pituitaria en la orina de la mujer embarazada. De acuerdo con Olivella, de La Habana, Cuba, el precursor de este descubrimiento fué el español García Triviño quien en 1925 informó a la Academia Médico-Quirúrgica Española que la inyección del sue-

ro de la sangre de la mujer embarazada en las ranas jóvenes menores de seis semanas de edad producía alteraciones en los ovarios. En 1931 la prueba de la coneja introducida por Friedman se popularizó porque tenía un alto porcentaje de seguridad y era bastante práctica. Sin embargo, la prueba de Friedman no era una reacción para ejecutar a diario en cualquier laboratorio, pues las conejas debían permanecer aisladas; se debía practicar una operación abdominal y por último las observaciones macroscópicas de los ovarios siempre daban lugar a errores por apreciación. Así pues, los clínicos esperaban con paciencia el descubrimiento de otra prueba biológica que fuera más práctica en su

ejecución. En 1929 Houssay Guisti y Lascano González demostraron que el batracio hembra sur-americano *Bufo marinus* reaccionaba con la ovulación a la implantación de la hipófisis. En 1926 Shapiro informó que la rana de garras sur africana *Xenopus Laevis* era inducida al apareamiento con la inyección de Gonotropinas mamíferas. La expulsión de los huevos por la hembra *Xenopus* nos presentaba una prueba dramática y segura. Sin embargo, practicarla con frecuencia aquí en Panamá fué algo difícil debido a la escasez de ranas en este continente, al alto precio de los animales, y a la gran dificultad para mantenerlas vivas durante largo tiempo después de su importación. El Dr. Martínez Lamos ensayó sin éxito mantener en Cuba una cría de estos animales. Las ranas importadas por nosotros murieron progresivamente durante los meses de Enero y Febrero de 1949 pues les mantuvimos a la temperatura del laboratorio del Hospital Panamá. Sin embargo, en el laboratorio de Salubridad Pública en Ancón, Zona del Canal, se ha tenido mejor suerte, pues los animales se mantienen en un cuarto frío a la temperatura de 70 grados F.

En Mayo de 1947, Galli Mainini, informó en la Argentina que el batracio sur-americano *Bufo aerenaum hensel* se podía utilizar para una reacción biológica del embarazo pues expulsaba espermatozoides después de la inyección de orina con gonotropinas. En Marzo de 1948 Olivella, Benach y Martel anunciaron en la Sociedad Cubana de Obstetricia y Ginecología que la Rana calesbiana *shaw* también se podía usar. En 1948 Robins y Parker utilizaron la Rana norteamericana *Pipiens* y en Abril de 1949 Giménez y Mendoza leyeron un trabajo en la Sociedad Mexicana de Obstetricia y Ginecología sobre el uso de la Rana *monetezuma*. Cuando nuestro

trabajo estaba terminado obtuvimos de la Biblioteca médica del ejército de los Estados Unidos de Washington, D. C., unas micropelículas del trabajo de Rodríguez y Galli quienes en Octubre de 1947 habían anunciado en Brasil que nuestro animal, el *Bufo marinus*, había dado buenos resultados. Nuestro fracaso con las Ranas *Xenopus Laevis* importadas nos indujo a investigar el batracio común de estas regiones y obtuvimos los primeros animales de los alrededores del Río Chagres por cortesía del Sr. Pedro Ortiz Orsini. Después los trajimos de la Isla de Taboga y de los suburbios de esta ciudad (Parque Lefevre) pero al identificarlos todos resultaron ser *Bufo marinus linneus*.



Vista dorsal del Sapo común panameño
(*Bufo Marinius Linneus*)

LA DISTRIBUCION DEL BUFO MARINUS: El *Bufo marinus* es el batracio más común de las tierras bajas tropicales y en nuestro continente se encuen-

tra desde el sur de México hasta la región norte de la Argentina. Además, también existe en las Islas del Caribe como Jamaica, Santo Domingo, Haití, Puerto Rico, Santa Lucía, San Kitts, Maracaica, Nevis y Monserrat. No se conoce con certeza el lugar de su origen, pero se supone que es oriundo de la parte Norte de Suramérica. Este animal es uno de los primeros anfibios descritos en el sistema moderno de Nomenclatura (Sistema Natura) publicado por Carolus Linneus en 1758. Además de su distribución natural, se le ha introducido profusamente en otros lugares debido a sus hábitos insectívoros y actualmente se encuentra en islas oceánicas aisladas como Bermuda en el Océano Atlántico y las Salomón, Hawai, Fiji y Marianas en el Océano Pacífico. La distribución tan amplia de estos animales les presenta como una contribución valiosa en la serie de animales ya usados en el laboratorio de investigación. Los estudios verificados aquí en Panamá y en el Brasil para utilizarles en la prueba biológica para el diagnóstico precoz del embarazo son importantes sobre todo desde el punto de vista de su gran aplicación en muchas otras partes del mundo.

En los lugares donde estos batracios ocurren naturalmente o donde han sido introducidos son tan comunes que se les puede obtener en número casi ilimitado y a un precio tan bajo que nunca paso de algunos centavos. Es muy fácil encontrarles, pues durante el día, generalmente se esconden en sus madrigueras cerca de las quebradas y riachuelos o debajo de troncos, piedras, desperdicios o hojas secas, mientras que por la noche se les encuentra en campo libre buscando insectos para su alimentación. Cuando las cuadrillas de investigación del Instituto Gorgas de esta Ciudad visitan de noche la región del Río Chagres,

acostumbran prender una luz para atraer insectos y entonces una enorme cantidad de estos animales se agrupa y salta a su alrededor con el fin de cazar los insectos o de atrapar los que se caen al suelo. Las hembras depositan sobre el agua estancada hileras o cintas gelatinosas de huevos que se maduran en menos de una semana y permanecen como renacuajos por espacio de un mes más o menos. Luego se transforman en sapos pequeños de seis milímetros de largo que en condiciones favorables de alimentación van creciendo hasta alcanzar un tamaño de seis a ocho centímetros en un período de tres meses. A los seis meses ya miden diez centímetros; en un año aproximadamente, ya son adultos de doce a quince centímetros de largo y algunas veces son todavía mucho más grandes. El término de vida varía entre 10 a 15 años.



Callosidad negra en el aspecto interno del pulgar es evidencia del desarrollo sexual del animal macho.

Cuando se le va a utilizar para la prueba de embarazo, es esencial que el laboratorista pueda seleccionar animales machos sexualmente desarrollados. Afortunadamente esto es bastante fácil, pues estos batracios como la mayor parte de los anfibios cuadinos (caudate) desarrollan características sexuales secundarias cuando llegan a la madurez sexual, en este caso representada por adaptaciones morfológicas que se utilizan para el ayuntamiento durante la época del apareamiento. En el caso del *Bufo marinus* aparecen callosidades de color negro o carmelo en la parte interna del primer y segundo dedo de las patas anteriores, las cuales le sirven al macho para impedir que la hembra se suelte de su abrazo durante el ayuntamiento. La presencia de estas callosidades pueden tomarse como evidencia que se está utilizando para la prueba un animal sexualmente desarrollado. Los nativos aquí en Panamá reconocen los machos porque generalmente "cantan" cuando se les mantiene en la mano comprimiendo los costados de su cuerpo; pero la característica morfológica que se acaba de describir es, sin duda, mucho más segura. No hemos encontrado en la literatura médica ninguna descripción del ciclo espermatogénico de este batracio pero pareciera que en nuestro ambiente tropical los espermatozoides pueden aparecer en la orina como resultado al estímulo con la hormona gonadotrófica durante cualquier período del año. Sin embargo, el ciclo espermatogénico debe estudiarse para eliminar la posibilidad de pruebas negativas falsas en ciertas épocas del año. Además es conveniente utilizar animales sanos que no hayan estado en cautiverio por períodos largos de tiempo. Pues aunque es posible alimentarlos en cautiverios y por lo tanto mantener colonias de ellos en el laboratorio, también es cierto que pue-

den obtenerse tan fácilmente y a precio tan reducido que es mucho mejor reponerles con grupos frescos constantemente. En el laboratorio se les debe mantener en un jaula que les permita llegar fácilmente al agua y que también les facilite un espacio para descansar afuera del agua. Nosotros hemos construido a muy bajo precio y de manera rústica nuestra jaula detrás del laboratorio.



Ausencia de callosidad en el animal hembra.

TECNICA: Acostumbramos entregar al paciente una botella estéril de dos onzas de capacidad para recoger en la mañana una muestra de orina concentrada. Agarramos con la mano izquierda un animal que pese más de 100 gramos y recogemos con un gotero una muestra del contenido de la cloaca para verificar la ausencia de espermatozoides antes de ejecutar la prueba. Inme-

diatamente inyectamos 10 centímetros cúbicos de orina directamente en los tejidos subcutáneos del abdomen y colocamos al animal en un frasco. Nuevamente obtenemos orina de la cloaca a las 2, a las 4 y a las 6 horas después de la inyección y les observamos en el poder bajo del microscópico. Si la prueba es negativa, se observan únicamente algunas células epiteliales, desperdicios alimenticios y algunas veces parásitos intestinales; pero si la prueba es positiva, lo que atrae nuestra atención es la gran cantidad de espermatozoides móviles. Estas células miden varios micrones de longitud y se presentan individualmente o en grupos. El cuerpo de la célula es una estructura en forma de bastón que se adelgaza hacia la parte inferior. De su región próxima, que constituye la cabeza, sale un flagelo largo cuya longitud es casi dos veces el tamaño de su cuerpo. Cuando los espermatozoides están en movimiento, su dirección es siempre hacia adelante pero cuando no lo están mantienen el cuerpo en vibración, la cabeza fija y el flagelo se ondea como un fute. Si la prueba es positiva la observación de los espermatozoides es tan clara y definida que no deja duda alguna con respecto a su presencia.

Hasta la fecha hemos ejecutado 175 pruebas de las cuales 71 fueron positivas y 104 fueron negativas. Entre los casos positivos no hemos podido confirmar ningún caso positivo falso, pero sí tenemos seis casos negativos falsos.

La mayor parte de estas pruebas se ejecutaron en la 3a. y 4a. semana del embarazo; en otras palabras, una o dos semanas después de la primera falta menstrual.

Presentamos nuestra pequeña serie de casos porque consideramos esta reac-

ción como una prueba de embarazo segura, fácil y barata, la cual se puede ejecutar diariamente en cualquier oficina que tenga facilidades de laboratorio. Además es posible practicarla en toda el área del Caribe en donde el *Bufo marinus linneus* es el batracio más común.

Antes de terminar, deseamos mencionar que la primera prueba negativa falsa ocurrió cuando utilizamos un animal chico que pesaba sólo 87 gramos. Al día siguiente la misma orina inyectada a un animal más grande y más pesado dió un resultado positivo. La segunda prueba negativa falsa resultó al utilizar un animal en cautiverio con apariencia débil pero que al hacerle la autopsia resultó ser macho.

CONCLUSIONES:

- 1—Hemos presentado una prueba de embarazo utilizando el *Bufo marinus linneus* macho como el animal de reacción.
- 2—Los machos sexualmente desarrollados se reconocen por la presencia de callosidades carmelas o negras en la región interna del primer y segundo dedo de las patas anteriores.
- 3—Consideramos la prueba positiva cuando encontramos espermatozoides en la cloaca del animal después de dos, cuatro y seis horas de haberle inyectado orina.
- 4—Entre nuestros casos no hemos confirmado ninguna reacción positiva falsa.
- 5—En nuestra pequeña serie, numerosos casos de reacciones positivas ocurrieron durante la primera y segunda semana de amenorrea.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Gelli Moinat—Pregnancy test, using the male toad. The Journ. of Cl. Endocrinology, Vol. VII pg. 653-658—1947.
- 2—José Ramírez Olivella—Los batracios en el diagnóstico del embarazo—Ginecología y Obs. de México—Vol. IV No. 2-3, pg. 80-90, Marzo, Junio 1949.
- 3—S. L. Robbins, F. Parker Jr.—The use of the male North American frog (*Rana pipiens*) in the diagnosis of pregnancy. Endocrinology, Vol. 42 Pg. 237-243—April 1948.
- 4—J. Martín Giménez, O. Mendoza—El empleo de la rana *Monoczuma Baird* en el diagnóstico biológico del embarazo. Ginecología y Obs. de México, Vol. No. 20 Pg 281-286—Julio, Agosto 1949.
- 5—O. Rodríguez, O. Gelli—Diagn. biol. de gravidez utilizando o bufo *marinus macho*—Anais Brasileiros de Ginec. 245-251—Oct. 1947.