

Presencia de quistes en *Tritrichomonas muris*

M. Chinchilla, E. Portilla, O. M. Guerrero y R. Marín
Centro de Investigación y Diagnóstico en Parasitología (CIDPA), Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

(Recibido el 18 de junio de 1985)

Abstract: Cysts of *Tritrichomonas muris* are reported. The morphology of this evolutive stage is described under light and electron microscopy. The biologic and epidemiologic importance of this finding is discussed.

La transmisión de los protozoarios intestinales, tanto sarcodinos como mastigóforos, se lleva a cabo por medio de quistes que se eliminan en las heces del hombre o de los animales. Sin embargo en las especies de la familia Trichomonadidae, que parasitan el intestino, no es muy claro el sistema de transmisión.

En el caso de la *Trichomonas tenax* en la boca y de *T. vaginalis* en el tracto genital, el sistema de transmisión se lleva a cabo por contacto directo. No puede ocurrir de igual manera en los tricomonadideos que parasitan el intestino de los animales, los cuales deben transmitirse de igual manera que los otros mastigóforos intestinales.

Los estudios de Mattern y Daniel (1980) en *Tritrichomonas muris* informan de la presencia de ciertas estructuras diferentes a trofozoitos y que denominan pseudoquistes. Partiendo de estas observaciones nosotros hemos realizado algunos estudios que comprueban la existencia de verdaderos quistes en estos parásitos de roedores. Los resultados de tales investigaciones se presentan en este trabajo.

MATERIAL Y METODOS

Animales: En estos experimentos se usaron ratones (*Mus musculus*) (hembras y machos) de la cepa Wistar y hamsters (*Mesocricetus auratus*) infectados con *T. muris*.

Obtención de las formas de resistencia del parásito: Las heces frescas fueron obtenidas directamente de cada ratón infectado y colocadas en solución salina al 0,85% y fueron homogenizadas y filtradas a través de algodón para eliminar las partículas más grandes. Para concentrar los estados evolutivos de *T. muris* se procedió a centrifugar este filtrado durante 10 minutos a 2000 r.p.m. El sedimento fue dividido en porciones para estudiarlo al microscopio de luz, probar su resistencia a factores físicos y químicos y para fijar con el objeto de hacer estudios al microscopio electrónico.

Observación directa y tinciones: El estudio directo se hizo en solución salina y en solución yodada (lugol) para la mejor visualización de las formas de resistencia. Parte del material fue teñido mediante la técnica de la hematoxilina de Heidenhain para la observación más detallada de las formas de resistencia. Para determinar el diámetro promedio de los quistes, se midieron 50 quistes del flagelado.

Estudio al microscopio electrónico: El sedimento rico en formas evolutivas de *T. muris* fue fijado con glutaraldehído al 2,5% en una solución amortiguadora de fosfatos 0,1 M y con un pH de 7,2. También se usó tetróxido de osmio al 1% en un amortiguador similar. Después del proceso de deshidratación las muestras fueron incluidas en resina (Spun Polipsiences).

Los cortes fueron llevados a cabo en un micrótomó sorval MT-2 y las preparaciones fueron teñidas con acetato de uranilo en solución saturada y citrato de plomo (de Reynolds) observándolas y fotografiándolas en un microscopio electrónico Hitachi-300.

RESULTADOS

Observaciones morfológicas en microscopio de luz: Además de los típicos trofozoitos y los pseudoquistes descritos anteriormente por Mattern y Daniel (1980), se observaron formas redondeadas o ligeramente ovaladas con pared quística claramente definida. Estas formas fueron observadas tanto a fresco como teñidas con solución de lugol o con hematoxilina. En solución salina las formas se observan transparentes con un citoplasma ligeramente granuloso en donde refringe la costa (Fig. 1).

Los quistes teñidos con solución yodada se observan de un color amarillento a veces ligeramente anaranjado. La costa se observa claramente, algunas veces muy cercana y paralela a la membrana quística; en otros casos esta organela se localiza en el centro del quiste formando una especie de círculo interno central (Fig. 1).

Observación en tinciones con hematoxilina de Heidenhain: Se observan quistes de dos tamaños claramente definidos: uno cuyo diámetro es de $8.9 \pm 95 \mu\text{m}$ (6.86 a $9.80 \mu\text{m}$) y otro con un diámetro de $12.31 \pm 1.24 \mu\text{m}$ (10.78 a $14.70 \mu\text{m}$).

Ambos son esféricos con una doble membrana quística teñida intensamente de negro. El citoplasma es de color gris muy claro, en él se visualiza la costa como una fibra oscura que corre paralela a la membrana celular y que está bordeada por la membrana ondulante cuyas ondulaciones de bordes cuadrados son muy evidentes. El núcleo es ovalado vesiculoso con un cariosoma central excéntrico y con el nucleoplasma muy granuloso (Fig. 2).

Observaciones al microscopio electrónico: El quiste de *T. muris* se observa en la figura 3. Presenta una membrana quística doble bien definida muy diferente de la observada en el pseudoquiste y en el trofozoito que se presenta comparativamente (Fig. 3a, 3b). Internamente se visualiza parte de la membrana ondulante (m.o.) (Fig. 3a ver flechas) que identifica al quiste co-

mo un estado evolutivo de un tricomonádeo. Comparativamente se observa el pseudoquiste (Fig. 4) y el trofozoito (Fig. 5) en que se nota, no sólo un tipo de membrana externa menos rígida y más irregular, sino la presencia de otras organelas características, como son el axostilo (ax) y la costa (c). En el quiste existe gran cantidad de gránulos o condensaciones más abundantes y definidas que no se presentan en el trofozoito y en el pseudoquiste.

DISCUSION

El hallazgo de formas quísticas en *T. muris* empieza a dar luz sobre un fenómeno biológico difícil de entender, como es el de la transmisión de un flagelado intestinal cuyos estados evolutivos eran aparentemente, sólo el trofozoito y una forma pseudoquística (Gwelessiany 1929; Mattern y Daniel 1980).

Sin embargo al comprobar el desarrollo de *T. muris* en cultivo de heces de ratón positivos por *T. muris* y tratados con ácido clorhídrico al 1% durante 2 y 4 horas (Cuadro 1), se comenzó a sospechar la posibilidad de un estado evolutivo más resistente que el pseudoquiste con capacidad de superar la barrera del jugo gástrico a nivel de estómago.

Las observaciones morfológicas a fresco y en tinciones (Figs. 1 y 2), han demostrado la presencia del quiste que es diferente a las formas descritas por Mattern y Daniel (1980). Si comparamos las imágenes observadas al microscopio electrónico, se nota claramente la diferencia en la membrana externa del quiste, pseudoquiste y trofozoito (Figs. 3, 4 y 5) lo que comprueba la existencia de los tres estados evolutivos.

La presencia de pseudoquistes ya había sido informada para *Trichomitus batrachorum* desde 1973 (Brugerolle 1973; Mattern *et al.*, 1973) y para *T. muris* (Mattern y Daniel 1980) pero los quistes no habían sido descritos. La importancia de este hallazgo es entonces de tipo biológico, pues con él se comienza a dilucidar la incógnita de la transmisión o sistema de contaminación en el caso de los tricomonádeos intestinales. Este es el primer trabajo de una serie de investigaciones sobre este tema en el parásito humano *Pentatrachomonas hominis*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en parte con la ayuda de la Vicerrectoría de Investigación de

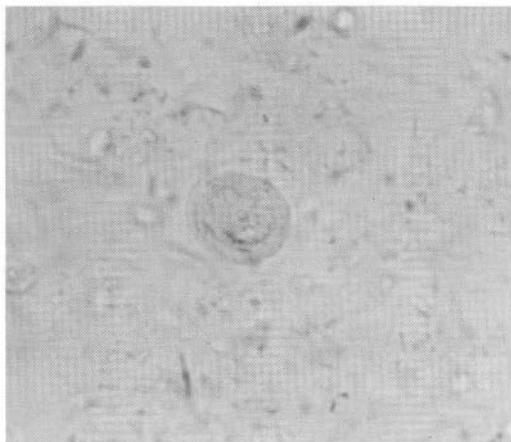


Fig. 1. Quiste de *T. muris* teñido con solución lugol (100x).

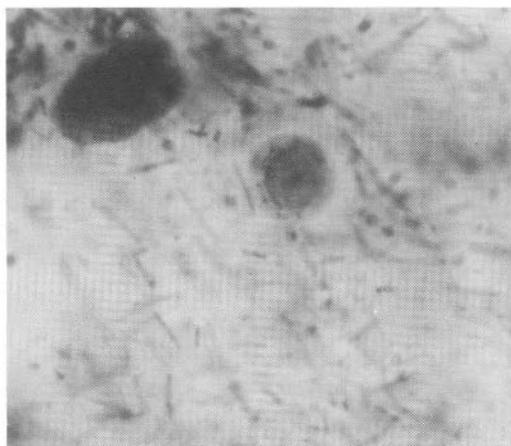


Fig. 2. Quiste de *T. muris* teñido con hematoxilina férrica de Heidenhain (100x).

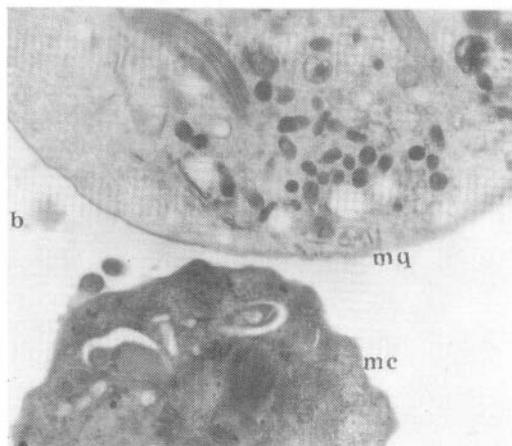
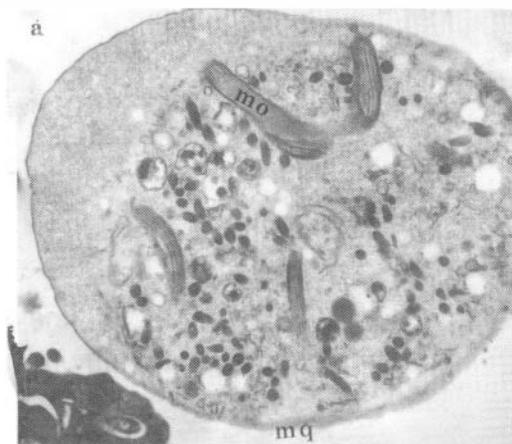


Fig. 3. Quistes de *T. muris* al microscopio electrónico
a) X20.000 b) X40.000

mo = membrana ondulante

mq = membrana quística

mc = membrana celular

la Universidad de Costa Rica y el Consejo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICIT). Nuestro sincero reconocimiento a la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica por su colaboración. También agradecemos a Edwin Valenciano V., Fabio Camacho y Zayda Umaña por su asistencia.

RESUMEN

Se describen formas quísticas de *Tritrichomonas muris* tal y como se observan a fresco, teñidas con hematoxilina y en preparaciones estudiadas al microscopio electrónico. Se comen-

ta la importancia del hallazgo desde los puntos vista biológico y epidemiológico.

REFERENCIAS

- Brugerolle, G. 1973. Sur l'existence de vrais kystes chez les Trichomonadies intestinales. Ultrastructure des kystes de *Trichomitus batrachorum*, Perty 1852, *Trichomitus sanguisugae*, Alexeieff, 1911, et *Monocercomonas tipulae* Mackinnon 1910. C. R. Acad. Sci. Paris.
- Gwelessiany, J. 1929. Sur l'enkystement chez le *Trichomonas* die rat. Arch. Zool. Exp. Gen. 69: 64-68.

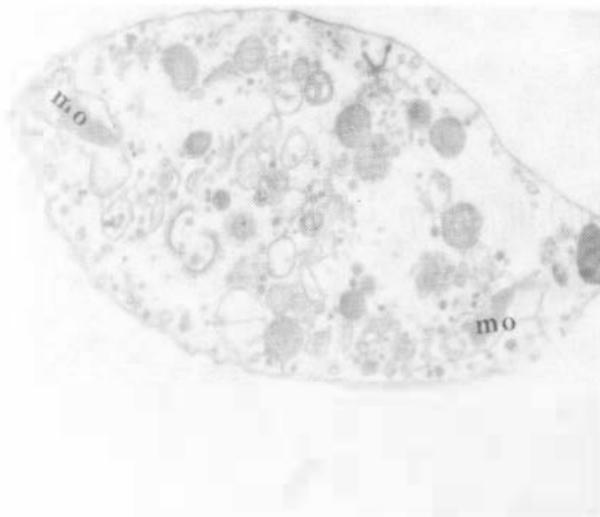


Fig. 4. Seudoquiste de *T. muris* al microscopio electrónico (x20.000)

mo = membrana ondulante

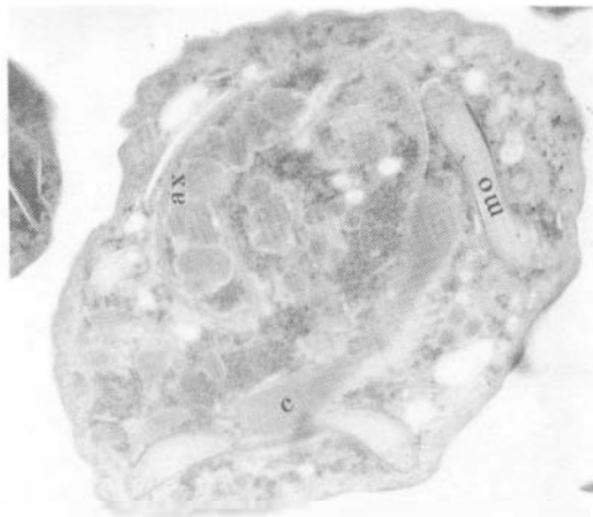


Fig. 5. Trofozoito de *T. muris* al microscopio electrónico (x20.000)

mo = membrana ondulante c = costa
ax = axostilo

Mattern, E. F. T. & W. A. Daniel 1980. *Tritrichomonas muris* in the hamster: pseudocysts and the infection of newborn. J. Protozool. 27: 435-439.

Mattern, E. F. T., Honigberg B. M. & W. A. Daniel. 1973, Fine structural changes associated with pseudocyst formation in *Trichomonas batrachorum*. J. Protozool. 20: 222-229.