

# Colegio Oficial de Veterinarios de la Provincia de Barcelona

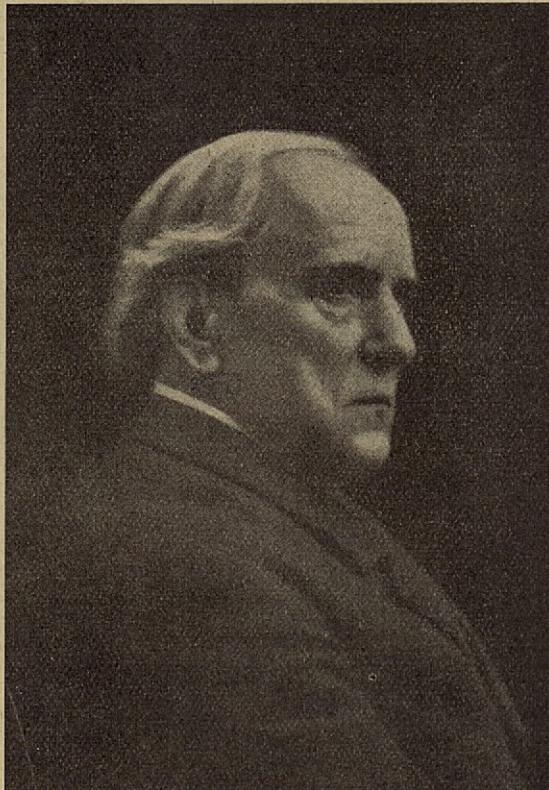
Puertaferisa, 10, 1.<sup>o</sup>

Teléfono 21202

Año V - N.<sup>o</sup> 44

C I R C U L A R

Febrero 1948



RAMÓN TURRÓ DARDER

\* 1854 - † 1926

## Ramón Turró

Pocos hombres dejan de su paso por la vida una huella profunda. Entre estos pocos podemos contar a Turró.

Yo le conocí en los últimos años de su vida, y he de confesar que despertaba en todos los que le trataban, una sincera admiración.

Era la ofrenda justa a un hombre de polifacéticas actividades y que en todas ellas marcó el criterio de su genial entendimiento.

Su juventud se desenvolvió en las horas de crisis y de superación de finales del ochocientos. Por aquellos días la ciencia experimental luchaba por derrumbar los castillos de la rutina y de la pedantería oratoria. En aquellas horas, era preciso la conciencia de la razón y la energía de los hombres superiores para encararse con los prestigios oficiales. Y Turró dejó oír su voz en polémicas científicas, con su fuerte filosofía, que en sus años maduros constituyó su preocupación fundamental.

Hombre inquieto, observador y de fina intuición, no podía pasar como espectador indiferente, en la época gloriosa de la génesis de la microbiología.

Su aportación documentada y genial sobre "Los mecanismos de la inmunidad", constituye una obra que en su tiempo fué comentada y elogiada extensamente. El correr vertiginoso de los días y la novedad de nuevas teorías, han hecho olvidar la magistral lección de Turró. Creo que ha llegado el momento de mirar un poco hacia el pasado, para reivindicar en gran parte la visión de Turró, ya que los modernos conocimientos de la bacteriostásia y los antibióticos parecen darle cumplida razón.

Este es el mérito de los hombres superiores. Adelantarse al porvenir, y hacer que lo que suponemos una novedad ya fué dicho o adivinado por un espíritu genial.

Hombre sensible a los estímulos de su tiempo, terció en el pleito que apasionó a Barcelona, en torno a la vida de Mosén Jacinto Verdaguer, en su afán de vindicarle.

En sus últimos tiempos, dedicó sus actividades a la filosofía, publicando obras de mérito extraordinario, entre las cuales destacan su "Origen del conocimiento. El hambre", "Los orígenes de las representaciones del Espacio tactil" y su "Filosofía Crítica".

Pero, por encima de todas estas producciones, para mi gusto, su "Disciplina mental" es la obra mejor lograda, de la cual se ha dicho: "que no se puede leer sin experimentar el escalofrío que producen las cosas verdaderamente geniales".

Este fué el Primer Presidente del Colegio de Veterinarios de Barcelona.

J. V. M.

# Contribución experimental a la patogenia de la mamitis gangrenosa de la oveja<sup>(1)</sup>

## PROLOGO

La mayor parte de los trabajos de investigación son realizados basándose en una hipótesis previa, que sirve de guía y de punto de orientación. Las experiencias que se describen en esta pequeña monografía, surgieron de una hipótesis de trabajo, pero no íntegramente imaginativa.

Nuestra hipótesis de que la mamitis gangrenosa de la oveja y de la cabra, es un proceso achacable a la función toxigenésica del estafilococo, se fundamentaba en tres experiencias diversas, y algunas un poco antiguas ya.

1.<sup>a</sup> En un foco de mamitis estudiado el año 1932, en colaboración con el compañero José Vilanova, de Agramunt, habíamos observado entre otras cosas, que la inoculación de cultivo vivo, fuera de la glándula mamaria, sólo provoca la lesión normal de un estafilo virulento. Investigaciones de numerosos técnicos, entre ellos el propio Nocard, habían puesto de relieve que sólo la inoculación en la mama en período de actividad, desarrolla el síndrome típico de la mamitis gangrenosa.

2.<sup>a</sup> En nuestra labor rutinaria de análisis de productos patológicos, habíamos observado reiteradamente, que la inoculación de cultivos aislados de mamitis de esta naturaleza al palomo, le mata en menos de 24 horas, sin conseguir de las siembras de sangre del corazón la aparición de los cultivos que esperábamos. Solamente se recupera el germen, utilizando como material de siembra una pequeña porción del nódulo necrótico que se encuentra en el sitio de la inoculación (músculos pectorales). Por tanto, no es mucha fantasía pensar que los palomos no mueren de septicemia estafilocócica.

3.<sup>a</sup> Durante algunos años nos venimos dedicando a la preparación de toxinas estafilocócicas con destino terapéutico. En este tiempo se nos ocurrió probar si los gémenes procedentes de mamitis de oveja y cabra eran aptos para obtener buenas toxinas como las que dan las cepas de prestigio internacional como son la Wood, Nelis 72 y otras. Tal como habíamos previsto o sospechado, casi todas las muestras de estafilo de mamitis dan hemotoxina, y especialmente la M-2, cuyos títulos son algunas veces superiores a los alcanzados por las cepas antes citadas.

(1) Trabajo galardonado con el «Premio Turró», 1947, en el Concurso organizado por el Colegio Oficial de Veterinarios de Barcelona.

No teníamos, pues, ninguna duda de que el estafilo de estas mamitis desarrolla una evidente actividad tóxica, que podría explicar el mecanismo de su patogenia.

Nuestra imaginación, por tanto, tiene una parte muy exigua en el desarrollo de este trabajo, ya que se ha limitado a idear un grupo de experiencias que creemos suficientemente demostrativas y que no han podido alcanzar mayor amplitud a causa de las dificultades que las actuales circunstancias presentan a todo trabajo de investigación que requiere gran cantidad de material vivo.

#### UN POCO DE HISTORIA

Las etapas de la caracterización de la mamitis gangrenosa de la oveja no parecen muy alejadas de nuestros tiempos.

Todos los trabajos que hemos podido consultar, coinciden en atribuir a Arboval, 1823, la primera descripción definitiva de esta morbosis. La mejor descripción clínica sería la de Kotelmann, 1836, como asimismo no se puede olvidar un estudio interesante de Rivolta en 1875.

Era preciso la aparición luminosa de los trabajos de Pasteur, para aclarar definitivamente su etiología microbiana. Y así fué. Nocard, uno de los colaboradores más selectos del Maestro, descubre en 1887 el micrococo que fué bautizado con su nombre. Describe su aislamiento, su cultivo y sus características morfológicas. Reproduce la enfermedad inoculando cultivos en la mama. Utiliza como animales de laboratorio y para ensayo de su poder patógeno, el caballo, el buey, el cerdo, el perro, el gato, la gallina, los cobayos y el conejo. Excepto el conejo los demás animales no parecen sufrir mucho a consecuencia de su inoculación.

Más tarde, 1908, Pfeiler comprueba en todos sus puntos las investigaciones de Nocard. Bridé ensaya con éxito la profilaxis a base de emulsiones microbianas.

En nuestro país, García Izcará demostró la existencia de la mamitis en nuestros ganados sin añadir observaciones personales de interés.

Recientemente, Rafael Caldevilla, en un trabajo de divulgación, confirma el criterio sustentado por Nocard, Bridé y Pfeiler, de que la mamitis gangrenosa sólo aparece cuando un traumatismo en el parénquima mamario facilita la colonización del germe específico. Observa además, que las ovejas que crían a sus hijos no enferman en la proporción que lo hacen las sometidas a un ordeño metódico. Supone con lógica, que las manos no siempre acariciantes del pastor, son la causa indirecta de la manifestación gangrenosa.

Y más recientemente, un interesantísimo trabajo de Blanco Loize-

lier perfila la característica hemtóxica de estos microbios. Este trabajo experimental, realizado paralelamente a la mayor parte de nuestra investigación, esfuma aparentemente lo poco que pudiera existir de originalidad en nuestra tarea, pero tiene por otra parte el inapreciable valor de constituir una confirmación de nuestros puntos de vista esenciales. Es un azar nada raro entre los que nos dedicamos a esta clase de actividades.

Para terminar este bosquejo histórico, y por no creer merezca capítulo independiente, nos interesa insinuar que la mamitis gangrenosa de las ovejas y cabras, debe ser una enfermedad que no se conoce o tiene una importancia muy escasa en la mayor parte del mundo. A juzgar por la bibliografía que conocemos, su existencia se acusa en España, Portugal, Francia, Italia, Grecia, Turquía, Egipto y algunas islas del Mediterráneo. Diríase una afección mediterránea. Obras de tanta categoría como el Hutyra y Marek y el Fröhner, no hacen mención de ella. Esto demuestra que no ofrece un interés especial para los técnicos de Centro Europa. Por otra parte, tampoco la literatura americana e inglesa es muy pródiga en trabajos que se relacionen con ella.

No tenemos datos sobre su extensión y pérdidas que ocasiona en nuestro país. Es esta una cuestión de estadística correcta, y sería engañarnos si supusiéramos que las nuestras reflejan la verdad. De todos modos no debe ser despreciable la cifra de perjuicios que ocasiona si tenemos en cuenta la cantidad importante de cepas de este germe que se han aislado en los diferentes laboratorios oficiales y particulares que funcionan en España. Por otra parte, es una enfermedad bien conocida por la mayoría de los veterinarios que actúan en nuestro medio rural.

#### ETILOGÍA

Después del descubrimiento de Nocard, es muy difícil andar con divagaciones acerca de la causa de la mamitis gangrenosa. En todo caso puede discutirse la personalidad del germe y negar se trate de un germe específico. Parece que nos debatimos con un vulgar estafilococo, como ya decía Oreste en su magnífico tratado de enfermedades infecciosas.

¿El síndrome gangrenoso de las mamitis es causado siempre por un estafilococo? De ninguna manera. Nosotros hemos aislado en cultivo puro el *Clostridium histolyticum* y Basset afirma haber encontrado *Clostridium Welchii* (1). Pero esto no tiene valor alguno para negar que el estafilococo, en su función tóxica, sea el causante habitual de las mamitis gangrenosas.

(1) Recientemente, P. Bermejo ha identificado una pasterela como causa exclusiva de un foco de mamitis de este tipo.

Cuaquier germen con actividad necrosante puede crear una lesión parecida, y producir una sintomatología semejante.

Lo común en nuestro caso, es que la mamitis gangrenosa de las ovejas y cabras, sea producida por el estafilococo aislado y descrito por Nocard. Todo lo demás son excepciones. Aquí no definimos la enfermedad por el germen causante como en el caso de la tuberculosis sino por la sintomatología y las lesiones, y éstas hemos visto que el 99 por 100 de las veces son ocasionadas exclusivamente por un estafilococo.

Además, este germen cumple el clásico postulado de Koch. Se aísla el germen, se reproduce la enfermedad y de la enfermedad experimental se aísla constantemente el germen inoculado. No creemos se pueda pedir más.

#### ALGO SOBRE IDENTIFICACIÓN MICROBIANA

Los procedimientos y los métodos para identificar gérmenes patógenos han mejorado profundamente en estos últimos años. De la primitiva orientación morfológica y de las reacciones bioquímicas, hemos pasado al estudio de otras propiedades y funciones, que en el fondo, son las que dan a los microbios su auténtica personalidad.

La microbiología, es todavía una ciencia joven y no contiene doctrinas y dogmas abundantes, con la categoría de hechos clásicos. Es ciencia en período de formación, y por lo tanto no debe asombrar a nadie la comprobación de mudanzas y variación de opiniones.

Y los micrococos, constituyen el grupo microbiano de identificación más fluctuante. No hay duda que el criterio actual es más lógico, sobre todo si hemos de referirnos a microbios patógenos. Porque nadie puede poner objeciones al procedimiento que para identificar un ser patógeno, estudie sus actividades agresivas en vez de contentarse con averiguar cuáles son los hidratos de carbono que más le apeteen.

En el caso concreto de los estafilococos se han identificado por distintos procedimientos biológicos o químicos, un numeroso grupo de substancias, que por orden aproximado de antigüedad son las siguientes:

Leucocidina	
Coagulasa	
Fibrinolisina	
	Toxina letal
Exotoxinas	Hemotoxina
	Dermonecrotoxina
	Enterotoxina
Hialuronidasa	
Anticoagulante	
Inactivador de la penicilina	
Inactivador de la sulfonamida	

Estas actividades agresivas y defensivas que ejercen los estafilococos, (y que posiblemente no son todas las que poseen), tienen sin ningún género de duda, mayor importancia que sus propiedades fermentativas.

Ante estos hechos, se han derrumbado las bases de clasificación de estos gérmenes, y volvemos a vivir una era de anarquía en la identificación de los estafilos.

Cada investigador pretende haber encontrado un *test* definitivo para catalogar estos microbios en dos bandos bien diferenciados: los estafilococos patógenos y los estafilococos saprófitos.

Para unos sería, su virulencia para ciertos animales de laboratorio; para otros su agrupación serológica; para otros sus toxinas, y finalmente Burnham S. Walker espera que por la determinación de las coagulasas se podrán clasificar. En este laberinto ya casi nadie se acuerda de los preciosos pigmentos, ni tan siquiera de si la gelatina se licúa o no. Esto no son más que caracteres secundarios de simple valor de curiosidad sistemática.

Imaginamos que lo prudente consiste en huir de dogmatismos y de polarizaciones, y aceptar que los estafilococos patógenos son todos parientes más o menos cercanos, que ejercen esta o aquella función a tenor del ambiente que les rodea y de las dificultades que los organismos parasitados les ofrecen a su metabolismo, clave de su función vital.

Consecuentes con este criterio, nosotros creemos que la identificación de un estafilo debería fundamentarse en un grupo de funciones biológicas que pueden variar en número y en intensidad, según la lesión de donde proceden en virtud de actividades que se verán forzados a desarrollar.

Para nosotros es un caso típico de lo que acabamos de proponer, el hecho de la existencia de tipos de hemolisina que podrían explicarse sin gran repugnancia, teniendo en cuenta el huésped que habitualmente parasitan. Así, los estafilococos procedentes de afecciones animales lisan una especie de glóbulos rojos mientras que los de origen humano producen la lisis de otra especie.

#### NUESTROS ENSAYOS DE CLASIFICACIÓN

Después de las anteriores consideraciones no es de extrañar que no hayamos sentido un gran entusiasmo por los hidratos de carbono y en consecuencia nos hemos limitado a las pruebas de aquellas actividades microbianas que parecen íntimamente ligadas a las propiedades patógenas de los gérmenes que pretendíamos estudiar.

Hemos trabajado con 17 muestras de estafilos procedentes de mastitis estafilocócicas de cabras y oveja y 15 de origen humano diverso.

N. <sup>o</sup>	Origen	Pigmento	Gela-tina	Hemolisina		Leche	Bacte-riofago	Reduc-ción metileno	Penici-lina	Coagu-lasa	Patogenidad	
				A	B						Palomo	Rata
1	ma	gris	+	+	++	AC	L	++	40	+	+	+
2	ma	amarillo	+	++	++	AC	L	++	43	+	+	+
3	ma	amarillo		+	+	A	L	+	40	+	+	+
4	ma	blanco		+	+	AC	L	+	36	+	+	+
5	ma	amarillo	+	++	++	AC	L	++	38	+	+	+
6	ma	gris		+	+	A	L	++	40	+	+	+
7	ma	gris		+	+	A	L	++	41	+	+	+
8	ma	blanco			+		0	+	35	0		0
9	ma	blanco	+	++	+	AC	L	++	39	+	+	+
10	ma	amarillo	+	+			L	++	44	+	+	+
11	ma	blanco		+		A	L	+	37	+	+	+
12	ma	amarillo	++	+		AC	L	++	40	+	+	+
13	ma	amarillo					0	+	40	+		0
14	ma	amarillo	+	++		AC	L	++	40	+	+	+
15	ma	amarillo					0	+	38	0		0
16	ma	gris	+	++	+	AC	L	+	44	+	+	+
17	Hu	amarillo	+	++		AC	L	++	38	+		+
18	Hu	amarillo	+	++		A	L	++	36	+		+
19	Hu	amarillo	+	++		AC	L	++	40	+		+
20	Hu	amarillo	+	++		AC	L	++	37	+		+
21	Hu	amarillo	0	0		0	0	++	40	0		0
22	Hu	blanco	0	++		A	L	++	38	+		+
23	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	36	0		0
24	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	42	0		0
25	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	36	0		0
26	Hu	blanco	0	0		0	0	+	39	0		0
27	Hu	amarillo	+	0		0	0	0	41	0		0
28	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	40	0		0
29	Hu	amarillo	+	++		0	L	++	38	+		+
30	Hu	amarillo	+	++		AC	L	+	40	+		+

Nos interesa hacer constar que varias de las cepas de mamitis gangrenosa son de reciente aislamiento y otras llevan ya bastante tiempo de vida en medios artificiales. Esta observación tiene por objeto salvar las posibles objeciones que puedan hacerse a su actividad inconstante. De todos modos nos consta que recién aisladas eran normalmente patógenas para el palomo. No conocemos más características de su juventud, ya que no eran corrientes las determinaciones actuales. En cambio, es muy posible una degeneración o una contaminación por estafilos bancales, por ser este germen extraordinariamente habitual en la flora del aire. En cuanto a la posible degeneración, recordese que no es un fenómeno excepcional, ya que se observa frecuentemente en éste y otros gérmenes en su vida en los medios artificiales de cultivo, donde no es preciso desarrollar grandes actividades funcionales para vivir con holgura y sin sobresaltos de factores que puedan inhibir su metabolismo.

Hemos anotado el color del pigmento, que como se ve no es un carácter constante, aunque es indudable una gran mayoría para el dorado gris.

La liuación de la gelatina también es voluble. En cambio, con el bacteriófago que nosotros hemos utilizado, en todas las cepas que se pueden considerar de patogenidad activa, se ha producido una lisis total y permanente en medio líquido.

La hemólisis en placa, ha sido casi constante, predominando en las cepas de origen animal el tipo beta como ha observado también Blanco. La coagulasa ha coincidido sensiblemente con la hemolisina.

La coagulación y acidificación de la leche con púrpura de bromocresol, ha sido ciertamente inconstante.

No tiene valor alguno la reducción del azul de metileno.

Quisimos observar la posible presencia de substancias inhibidoras de la penicilina, y al efecto hemos determinado el halo negativo, trabajando con cantidad arbitraria de U. Q., pero constante para todas las muestras ensayadas. Como puede verse en el cuadro resumen, la sensibilidad de las cepas es completamente variable, pero siempre efectivo el poder inhibidor de la penicilina.

El poder patógeno ha sido ensayado uniformemente en el ratón, único animal del que disponíamos en cantidad suficiente para los numerosos ensayos que hemos tenido que realizar. La muerte del palomo está referida siempre a la fecha de su aislamiento.

#### CÓMO MATA EL ESTAFILOCOCO

Téngase presente que únicamente nos referimos al ratón, ya que éste ha sido nuestro animal de experiencia.

Los ratones nuevos mueren por dos mecanismos claramente delimitados: por toxina o por septicemia.

Cuando el germen es hipertóxico, le mata en un intervalo de 9 a 24 horas. En este caso suponemos que ha sido por acción de toxina, puesto que la siembra de sangre del corazón da un promedio de 10 gérmenes por c. c.

Por lo común se recogen dos gotas de sangre que sembradas en agar y caldo, corrientemente sólo cultiva uno de los tubos, y cuando éste es el agar, se observa una sola colonia. Esta cifra de gérmenes circulantes es notoriamente escasa y ni tan siquiera corresponde al número inoculado, que sobrepasa los 200 millones, por siembras seriadas sobre placa de Petri.

Cabía sospechar que la muerte fuera ocasionada por la acción tóxica ejercida por los propios gérmenes ante la posibilidad de su lisis brutal por los mecanismos normales de defensa. Algunos investigadores admiten la existencia de endotoxinas letales. Para eliminar esta duda, se realizaron estas experiencias:

1. — Se exaltó una cepa ( $m^{-2}$ ) hasta conseguir que matara en menos de 24 horas a la dosis de 0'02 c. c. de cultivo en caldo, con lo que el número de gérmenes quedaba realmente disminuido. Conseguida esta exaltación, inoculamos un lote de 6 ratones en estas condiciones, muriendo todos antes de 24 horas y dando las siembras el número habitual de gérmenes citado.

2. — Conocida la eficacia de la penicilina en el tratamiento de las estafilococias, comprobamos previamente la sensibilidad de la cepa  $m^{-2}$ , para proceder luego a estas experiencias:

a) Un lote de 10 ratones más 4 testigos, se inoculan así: ratones de reacción; 0'1 c. c. cultivo y cada 3 horas una inyección de 0'1 c. c. de penicilina contenido 400 U. O. La dosis de penicilina se repite cinco veces. Es decir, reciben en total 2.000 U. O. Los testigos con 0'1 c. c. del mismo cultivo.

Resultados: Los testigos mueren todos entre las 9 y las 48 horas. Los tratados con penicilina viven a los 15 días, excepto uno que muere a las 24 horas.

b) 6 ratones son inoculados con 0'1 c. c. cultivo  $m^{-2}$  y al mismo tiempo reciben 4.000 U. O. de penicilina en una sola inyección.

c) 6 ratones son inoculados con 0'1 c. c. del mismo cultivo y al mismo tiempo reciben 4.000 U. O. de penicilina emulsionada con excipiente retardador.

d) 4 ratones, testigos, con 0'1 c. c. cultivo.

Resultados: Los testigos son encontrados muertos a las 24 horas. Los restantes, vivos más allá de los 20 días.

Por estas experiencias se demuestra que el número de gérmenes no es un factor esencial en la muerte por acción tóxica, y que la pe-

nicilina es de extraordinaria actividad especialmente en las condiciones de nuestro experimento, y que el tiempo que tarda el organismo en liquidar definitivamente el foco de inoculación no es superior a 4 horas, pues pasado este tiempo ya no existía antibiótico en uno de los lotes de nuestros experimentos citados.

Todos los animales que mueren hasta las 36 horas, como ya hemos dicho, presentan las características de una muerte por la acción tóxica. Blanco dice haber encontrado siempre, como lesión característica, una congestión de las anterrenales. Nosotros hemos visto esta lesión, pero no en todos los casos autopsiados.

En cambio, cuando la vida se prolonga un poco más, los ratones mueren con un cuadro septicémico y las siembras de la sangre del corazón proporcionan incontables colonias.

#### MÁS PRUEBAS DE ACCIÓN LETA, POSIBLEMENTE TÓXICA

En nuestros ensayos tipo inmunológico, que más adelante analizaremos, hemos inoculado un grupo de ratones con gérmenes y suero antitóxico. La mayoría sobreviven, pero a los pocos días presentan un absceso subcutáneo en el sitio de la inoculación, que acaba necrosando la piel y produciendo una úlcera de considerable extensión. Por tanto, en aquellos individuos que pudieron neutralizar inmediatamente la función tóxica, el estafilococo sólo produjo la acción necrosante y proteolítica de un ántrax, sin lograr transponer las barreras del foco de inoculación.

Por otra parte, es un concepto indiscutido en los actuales conocimientos de la biología de este germen, que *in vitro* pueden obtenerse substancias de su cultivo, que inoculadas por vía intravenosa al ratón, cobayo y conejo, producen la muerte en el espacio de tiempo de pocas horas.

En otra experiencia utilizando ratones tratados previamente con anatoxina obtenida con gérmenes de origen humano, hemos registrado estos resultados:

Los 4 ratones testigos mueren antes de las 24 horas, con siembra: difícilmente positivas.

Los ratones vacunados con anatoxina, se comportan así:

2 mueren a las 24 horas.

2 mueren a las 60 horas, con evidente cuadro septicémico. Siembras con abundantes colonias.

2 resisten sin la menor perturbación aparente.

En este caso, la inmunidad poco brillante ciertamente, demuestra no obstante que en no despreciable proporción, se había creado una discreta cantidad de antitoxina suficiente para detener la acción letal de los productos tóxicos.

Estos resultados mediocres de inmunidad, no nos han sorprendido, pues coinciden con los obtenidos por todos los investigadores que han trabajado con estafilos.

#### ENSAYOS DE BACTERIOSTASIA

Hemos realizado pruebas con la penicilina y con diversas sulfonamidas, cuyos resultados resumiremos en este capítulo.

En cuanto a la penicilina, hemos visto ya que no respeta ninguna de las cepas estudiadas. Tanto los ensayos sobre placa buscando el diámetro de su halo de inhibición, como por diluciones en tubos de caldo, la penicilina ha demostrado una actividad manifiestamente grande.

Se ha observado, no obstante, que no todas las cepas han ofrecido la misma sensibilidad, como puede verse por las cifras anotadas en nuestro cuadro resumen. Este hecho lo teníamos por descontado, ya que otros investigadores habían tropezado con él, y la valoración estandard de la penicilina se realiza con una cepa uniforme.

Con relación a los compuestos de sulfonamidas, hemos tenido posibilidad de obtener la sulfonamida base, el sulfothiazol, la sulfaguanidina y la sulfotalidina.

Los ensayos *in vitro*, no han sido discretamente demostrativos, dadas las dificultades de su actuación en medios orgánicos y a la poca difusibilidad que presentan las soluciones colocadas en los cilindros de agar.

Por tanto, y en este aspecto, hemos de confesar nuestro fracaso, y el poco tesón que hemos tenido en profundizar en estos métodos de valoración de sulfonamidas.

En cambio, intentamos comprobar su acción *in vivo*, acueciados por el éxito brillante obtenido con la penicilina y habida cuenta de la pretendida actividad semejante que dicen tienen estas substancias.

Tuvimos que empezar por determinar con exactitud la dosis de tolerancia de estos productos para el ratón.

Como dato inicial, solamente encontramos los proporcionados por Domak, que no alcanzan a la sulfaguanidina ni a la sulfotalidina.

Después de determinar en varios lotes de ratones la dosis de tolerancia, se realizaron ensayos de prevención utilizando como siempre nuestro cultivo m-2, y a la dosis habitual de 0'1 c. c. de cultivo en caldo de 24 horas.

Cada sulfonamida constituyó un lote de 8 ratones con sus respectivos testimonios.

Todos los testigos mueren en su tiempo habitual.

Unicamente se observa una ligera supervivencia en el lote tratado con sulfothiazol. Se salvan 3 de los 8 ratones inoculados.

Es necesario advertir que la inoculación de sulfonamidas ha sido única, en razón de comparar sus efectos con los obtenidos con la penicilina, y porque sabemos que la eliminación de las sulfonamidas es con mucho, considerablemente más lenta que la de la penicilina. Por otra parte, es justo hacer constar que las dosis de penicilina fueron enormes, en consideración al peso del animal, límite al cual no es posible llegar con las sulfonamidas.

#### UN POCO SOBRE TOXINAS ESTAFILOCÓMICAS

La acción patógena de estos gérmenes, desde hace unos años ha sufrido una casi revolución, con motivo de descubrirse sin el menor titubeo, que son capaces de producir en condiciones apropiadas, un grupo complejo de substancias tóxicas de sorprendente actividad.

Antes de continuar, creemos interesante la formulación y respuesta a esta pregunta: La toxina estafilocócica, ¿es exotoxina o endotoxina? El hecho de haberse tardado tanto en poner en claro la existencia real y definitiva de toxina estafilocócica, ha sido motivo de discusiones y suspicacias, que parecen totalmente superadas.

En primer término, tenemos unas condiciones de tipo químico y biológicas que caracterizan las exotoxinas. Estas crean anticuerpos, y por la acción del formol pierden su grupo tóxico, conservando sus propiedades antigenicas en su casi totalidad.

Las toxinas que elabora el estafilococo en los medios de cultivo artificiales, reúnen las condiciones que acabamos de exponer.

En esta faceta del metabolismo del estafilococo, podemos ofrecer una sencilla investigación comprobatoria, indirectamente, que hemos realizado con los siguientes elementos:

A. Toxina obtenida por el método de Nélis.

B. Lisis producida por el bacteriófago.

C. Autolisis del germe conseguida introduciendo una emulsión de cultivos en agar, diluidos en suero fisiológico y caldo a partes iguales.

Todos los elementos del ensayo son filtrados por bujía y proceden de la misma cepa del estafilococo, el S. 15 de nuestra colección.

En el primer caso tenemos toxina producida por los procedimientos especiales que luego esquematizaremos.

En B, tenemos una disolución del protoplasma microbiano, obtenido por medio del virus Twort-D'Herelle.

En C, una parecida solución de protoplasma que se produce en algunas cepas, con la emulsión citada y puesta a la estufa durante varios días en tubos cerrados a la lámpara procurando que la capa de aire sea lo más reducida posible.

Por tanto, una toxina y dos hipotéticas soluciones de endotoxina.

La prueba se hace con glóbulos rojos de conejo diluidos, y se mantienen los tubos una hora a 37° y se leen los resultados después de dos horas de permanecer en la nevera:

Dilución	Toxina A.	Toxina (?) B.	Toxina (?) C.
1/10	+++	0	+
1/50	+++	0	0
1/100	+++	0	0
1/200	+++	0	0
1/300	+++	0	0
1/400	++	0	0
1/500	++	0	0
1/600	++	0	0
1/700	+	0	0

De esta prueba se deduce con claridad que la toxina es un producto de secreción de los estafilococos durante su germinación en medios apropiados. De ser una endotoxina los lisados lógicamente deberían contener substancias hemtóxicas, puesto que están constituidas por la disgregación del protoplasma microbiano y como se ve, su poder en este sentido es prácticamente nulo.

Queda pues bien claro que el estafilococo produce una auténtica exotoxina, cuyas características son las siguientes:

- 1 Es hematóxica o hemolítica
- 2 Es dermonecrótica
- 3 Es letal.

Pero estas tres funciones de la toxina estafilocócica no parecen individualidades con personalidad independiente. Son más bien manifestaciones diversas de una misma actividad.

Demuestra esta aseveración el hecho de poderse valorar por cualquiera de las técnicas al uso para una de estas funciones.

Hay más pruebas. Saturando una porción de toxina estafilocócica en su función hemolítica, pierde casi todo su poder dermonecrótico y letal. La prueba inversa, como es obvio, no es prácticamente realizable.

La función hemolítica de la toxina, tampoco es única, ya que se conocen bien estudiadas, dos, claramente diferenciadas. En este caso sí que pueden estudiarse separadamente, sin interferencias. La hemolisina alfa, actúa selectivamente sobre glóbulos rojos humanos o de conejo, mientras que la beta, muestra su actividad frente a los glóbulos de cordero.

Recientemente, Ipsen y Rostock han preparado una antitoxina B, como patrón provisional para estudios experimentales, ya que reconocen su poca importancia práctica. Esta visión acaso sea fundada

en la consideración parcial del problema, puesto que si para la inmunología humana su valor es puramente especulativo, no tendría nada de particular que en un futuro no muy lejano, sea preciso concederle la importancia debida a su significación en la terapéutica biológica veterinaria.

#### LA VALORACIÓN DE LA TOXINA ESTAFILOCÓCICA

Para los investigadores que tienen toda clase de facilidades, es un problema relativamente sencillo: Se maneja según instrucciones detalladas la antitoxina patrón que elabora y reparte el Comité de Higiene de la S. D. N. y todo está resuelto.

Para los que nos desenvolvemos en ciertas latitudes, no siempre es posible obtener sueros patrones. Pero en este mundo, bien o mal, todo se suple con un poco de esfuerzo. Y en nuestro caso nos hemos preparado un suero antitóxico, inoculando un caballo con toxinas preferentemente alfa, y ajustando todas nuestras determinaciones a esta definición internacional, que se utilizó en los momentos de máxima confusión en estos estudios que han revolucionado completamente la biología de los estafilococos, y han impuesto como lógica consecuencia, una revisión total de la sistemática que catalogaba estos gérmenes.

He aquí los postulados fundamentales:

U. M. H. (unidad mínima hemolítica) = a la más pequeña cantidad de toxina que da hemólisis en una hora a 37, utilizando 0'1 c. c. de glóbulos rojos de conejo al 20 por 100, y considerando como hemólisis positiva hasta donde llega el 25 por 100.

La U. M. N. (unidad mínima necrosante) tendría un valor equivalente.

U. A. (unidad antitóxica) = a la más pequeña cantidad de suero que neutraliza 200 U. M. H.

Todo esto, como es natural, y referido a la función hemotóxica, corresponde a hemolisina alfa.

He aquí un esquema de valoración de nuestro suero antitóxico:

Toxina en c. c.	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2
Suero en c. c.	0'05	0'1	0'15	0'20			0'25	0'30	0'35	0'40	0'45	0'50
				F								

La toxina contiene por c. c. 1.000 U. M. H. El suero tiene pues por c. c. 50 U. A. No es ciertamente un título muy elevado, pero sirve perfectamente para nuestras valoraciones, y constituye una base constante para referir y unificar todas las determinaciones, que si no se ajustan exactamente al patrón internacional, no se apartan de ella en cifras inconstantes.

Valorada una toxina procedente de cepas exclusivas de mamitis

gangrenosa, proporciona resultados del todo concordantes referidos a la hemólisis en glóbulos de conejo.

Toxina en c. c. 2	2	2	2	2	2	2	2	2
Suero en c. c.	0'05	0'10	0'15	0'20	0'25	0'30	0'35	0'40
F								

La toxina contiene 800 U. M. H. por c. c. Por la floculación tenemos que corresponde a 7'5 U. cuando el cálculo teórico son 8 U.

Salta con facilidad una objeción a esta prueba: Se trata en ambos casos de neutralización de hemotoxina alfa, o sea en función de glóbulos de conejo, y ya sabemos que la hemolisina beta tiene su anti-cuerpo específico.

Como esta valoración no nos convence completamente, en cuanto a nuestro propósito de demostrar la identidad antigenica de todos los estafilococos patógenos, he aquí otras pruebas que satisfacen un poco más:

Siguiendo el método preconizado por Hartley y Llewellyn, hemos determinado la dosis test dermo-necrótica. Esta se define así: Es la cantidad de toxina que mezclada con 0'1 unidad antitóxica determina sobre el conejo una necrosis ligera pero perceptible claramente ( $\frac{Lr}{10}$ )

Poseyendo nuestro suero 50 U. A., se diluye al 1/50 y en 0'1 c. c. tenemos precisamente la  $\frac{U. A.}{10}$ .

Las toxinas utilizadas para esta prueba las llamaremos C y D. C proviene de germen humano y D es elaborada por un germen de mamitis gangrenosa.

Con el fin de unificar las cantidades puestas en reacción, diluyendo la más activa, se han igualado los títulos hemolíticos alfa de ambas toxinas.

Suero al 1/50	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1
Toxina C.	0'025	0'030	0'035	0'040	0'045	0'050
	0	0	0	tr	N	N

$$\text{Dosis test} = \frac{Lr}{10} = 0'040$$

Suero al 1/50	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1
Toxina D.	0'025	0'030	0'035	0'040	0'045	0'050
	0	0	0	tr	N	N

$$\text{Dosis test} = \frac{Lr}{10} = 0'040$$

De estas pruebas se desprende que las toxinas C y D, tienen una

cantidad de necrotoxina equivalente, puesto que la antitoxina retiene y neutraliza volúmenes iguales.

Hemos realizado pruebas semejantes utilizando la dosis *test* hemolítica, pero sus resultados perfectamente lógicos en razón a su valor hemolítico inicial, no aportan argumento alguno para nuestra tesis de la identidad de los estafilococos patógenos.

En cambio, en el caso de la dermotoxina, no ofrece dudas la semejanza funcional de la toxina de origen humano con la de procedencia de la oveja.

La determinación de la dosis letal para el ratón, no ha ofrecido variaciones de importancia en las distintas toxinas ensayadas. En cambio ofrece un cierto interés la prueba de atoxicidad de las mezclas suero y toxina, en las reacciones de floculación.

La inoculación intraperitoneal al ratón, de 0'5 c. c. de los tubos teóricamente neutros por haber aparecido en ellos la floculación inicial, no provoca trastornos de aparente gravedad.

La inoculación de la misma dosis, procedente de tubos hiposaturados o en argot de laboratorio, de tubos de la izquierda, llega a matar si la diferencia entre toxina más antitoxina es notable. En definitiva esto constituye un *test letal*.

Pero no es esto lo que deseamos destacar. Partimos de una antitoxina teóricamente humana y probablemente anti alfa, y si el complejo tóxico de procedencia mamitis gangrenosa no fuera antigénicamente igual, no obtendríamos mezclas neutras con suero más toxina, que por otra parte se ajustan a los valores previamente obtenidos con el método de la determinación hematóxica.

#### LA ENTEROTOXINA

Como no tenemos experiencia personal de la biología de la enterotoxina estafilocócica, nos limitaremos a reproducir lo que escribe en una publicación reciente, S. Walker

"La enterotoxina se distingue de las otras exotoxinas por su estabilidad al calor: No se destruye por la exposición a 100° durante treinta minutos, pero se destruye a 100° en dos horas. Su acción tóxica no es destruida por el formol en la concentración y tiempo usados en la preparación del toxoide estafilocócico. Comparada con las otras toxinas tiene menos tendencia a ser absorbida en los filtros. No es antigénica. El mecanismo por el que la enterotoxina estafilocócica produce vómitos, ha sido estudiado por Bayliss, quien coloca su principal sitio de acción en estructuras sensoriales periféricas, particularmente en el intestino delgado. No parece actuar directamente sobre el centro del vómito".

Después de meditar con un poco de atención sobre este párrafo, se nos ocurren dos consideraciones:

1.<sup>a</sup> La enterotoxina, más bien puede clasificarse entre las endotoxinas, ya que se ha establecido entre los inmunólogos que estas substancias se caracterizan precisamente por su función antigénica y por la propiedad de hacerse atóxicas, por el formaldehido, cuando son exotoxinas. Si admitimos esta especie de dogmatismo, hay que colocar la enterotoxina en el grupo de las endotoxinas.

2.<sup>a</sup> Con alguna frecuencia se ha acusado a los quesos de oveja y cabra, de producir intoxicaciones, que se han atribuido a otros microbios, entre ellos el coli.

Conociendo la existencia de un veneno de actividad sobre las "estructuras sensoriales periféricas del intestino delgado", que elabora el estafilococo, no creemos sea una suposición temeraria pensar que las leches procedentes de ovejas con mamitis incipiente, podrían ser la causa de las intoxicaciones registradas por el consumo de queso de oveja y cabra.

Esta suposición sugiere también el señor Blanco Loizelier.

#### LA OBTENCIÓN DE TOXINA ESTAFILOCÓCICA

En el curso de este trabajo se ha puesto en evidencia, en distintas ocasiones, que todo lo que se ha modificado en los conceptos imperantes sobre la biología de los estafilos, se debe al descubrimiento de la toxina.

Por tanto, bien merece que le dediquemos unas pocas cuartillas.

Hasta que se dió con el CO<sub>2</sub> como elemento fundamental para obtener del estafilo que secretara su toxina, todo eran suposiciones y balbuceos. Ahora ya se trabaja con el estafilo, en busca de su toxina, con la misma sencillez que obtenemos regulares toxinas diftéricas.

Todo consiste en crear una atmósfera apropiada a los cultivos, cuyo óptimo parece ser 20 por 100 de CO<sub>2</sub> y 80 por 100 de O<sub>2</sub>.

Para ello, cada investigador utiliza su dispositivo especial, en relación con los medios de que dispone. El nuestro es de suma sencillez: Consiste en dos tubos, uno de CO<sub>2</sub> y otro de O<sub>2</sub>, comunicando con un frasco con agua hasta la mitad. La entrada de los gases se hace debajo de la superficie del agua, con el fin de contar las burbujas que se desprenden. Se regula la salida de forma que por cada burbuja de CO<sub>2</sub>, salgan 5 de O<sub>2</sub>. Por otro tubo se pasa esta mezcla a los frascos de Fernbach estableciendo una corriente permanente, que se controla a la salida haciendo pasar el tubo final por otro frasco con agua.

Si lo fundamental radica en la atmósfera de carbónico, no es menos cierto que tiene una gran importancia el medio de cultivo.

Se puede utilizar el cultivo en superficie con agar semi sólido de Burnet, que da buenas toxinas con abundante leucocidina, pero lo más corriente para obtener grandes cantidades es el uso de medios líquidos que contengan diversos aminoácidos.

Gladstone, Ramón y colaboradores, recomiendan un medio constituido por los siguientes elementos:

Hidrolizado de gelatina, tirosina, cistina, triptófano, fosfato bimetálico, citrato sódico, glucosa, sulfato de magnesia, ácido nicotínico y aneurina.

Este hecho de la composición que el estafilo demanda para desarrollar su actividad toxigenésica, apoya nuestro criterio de selección especial de la mama, en función lactógena, para crear el foco de gangrena.

Véase la composición de aminoácidos contenidos en la caseína, según Porcher:

Glicina, alanina, valina, leucina, isileucina, prolina, fenilanina, tirosina, ácido glutámico, ácido aspártico, ácido hidroxidoglutámico, serina, hidroxiprolina, triptófano, cistina, arginina, histidina, lisina, ácido diaminotrihidroxidodecanoico, ácido aminado contenido azufre, amoniaco, fósforo y azufre.

Además, la leche contiene, entre otras vitaminas, la aneurina del complejo B.

Y para que no le falte nada, tiene una discreta cantidad de  $\text{CO}_2$  con todo lo cual vemos que en este medio encuentra el estafilococo patógeno todo aquello que necesita para producir sus substancias agresivas de primer orden.

Estos datos creemos son suficientes para explicar que únicamente colonizando en el tejido mamario en actividad, produce su función tóxica y consiguientemente necrosante.

Hemos visto ya, que la inoculación de cultivos virulentos de este germe en otras zonas que no sean la mama, no produce una lesión de carácter hipertóxico. Es decir, no se reproduce el síndrome de gangrena, limitándose a un absceso corriente.

Para terminar este ligero bosquejo de la producción de toxina, restan decir que estos cultivos, convenientemente valorados, se convierten en anatoxinas de gran aplicación en la terapéutica biológica de las estafilococias humanas.

Se pueden valorar también, una vez formulados y comprobada su inocuidad por métodos rigurosos, valiéndose de un suero patrón o de uno arbitrario como el nuestro, por la técnica de la flokulación, como se hace corrientemente con las anatoxinas diftéricas.

Desde luego las toxinas frescas floulan mejor y más rápidamente que las anatoxinas o toxinas viejas.

## DIVAGACIÓN INMUNOLÓGICA

Como postulado previo, nos interesa hacer constar que las investigaciones que hemos realizado en torno al estafilo de la mamitis gangrenosa de la oveja no han tenido el menor propósito de demostrar una tesis de inmunidad.

Como ya dijimos en el prólogo, nuestro intento se limita a explicarnos un mecanismo patogénico.

Pero no obstante esta salvedad, en el curso de nuestros trabajos hemos pensado repetidas veces en los fenómenos inmunológicos, que cada día ofrecen nuevas perspectivas a la luz de los pequeños detalles que se van conociendo con relación a la biología microbiana.

Ante una enfermedad de origen microbiano lo primero que se plantea el inmunólogo es el comportamiento *in vivo* del germen ante el cual se enfrenta.

Existen casos de fácil solución, porque la experiencia ha puesto a los hechos una claridad meridiana. Ante la toxo-infección por el bacilo de Klebs-Loëffler, ya no tenemos dudas. Sabemos que neutralizando la toxina cerramos el paso al mecanismo patogénico y sentimos una casi despreocupación por la placa diftérica, porque confiamos que el organismo, libre de la agresión tóxica, se liberará fácilmente del foco inicial.

Una cosa semejante nos ocurre con relación al tétanos. Inmediatamente luchamos contra la toxina, para luego con más calma, dedicarnos a limpiar el foco productor.

En el mal rojo, sabemos también que podemos disponer de un magnífico suero bactericida que aplicado oportunamente devolverá a su normalidad el organismo seriamente perturbado.

Pero, en el caso de las infecciones estafilocócicas, el problema es de una complejidad que asusta, y deja un poco malparadas todas las teorías de inmunidad que pretenden demostraciones globales y con pretensión de dogma.

Si analizamos las estafilococias humanas, sin prejuicios de escuela, tendremos de confesar que sabemos muy poco de cómo ataca el germen y cómo se defiende el organismo.

Existen individuos en los cuales fracasa toda técnica inmunológica; vacunas, antovacunas, anatoxinas, suero-anti, bacteriófago, autohemoterapia, etc.

Y lo curioso del caso, es que mirando el problema de una manera simplista, parece que creando algo que destruya sencillamente el germen, o mejor, no permitiendo su colonización, el proceso debería vencerse, puesto que todas las funciones agresivas del estafilococo no son más que consecuencias de su metabolismo. No hay duda de que este razonamiento es una pura perogrullada. Pero lo triste es que no se

cumple en la práctica con la facilidad que el técnico espera en sus intervenciones con los productos biológicos.

Ha sido preciso el descubrimiento de un antibiótico tan maravilloso como la penicilina, para darnos cuenta de que efectivamente el organismo es capaz de depurarse de estafilos si se le proporciona un arma que anule o inhiba el metabolismo del germen, sin crearle otras complicaciones en algún grupo de células con misiones delicadas.

Esta es la verdad actual con relación al hombre y el estafilococo.

Pero, las cosas no pasan exactamente igual en la oveja y el estafilococo cultivado en su glándula mamaria en plena actividad funcional. Por lo menos una dilatada experiencia clínica en nuestro país y en Francia, han demostrado que la vacunación preventiva de las ovejas antes del parto, produce éxitos indudables y satisfactorios.

Estos hechos de la práctica en el campo, parecen en aparente contradicción con nuestros trabajos experimentales realizados en el ratón.

En este animal las cosas han ocurrido exactamente como en el hombre. La penicilina es el único elemento que actuó con definitiva brillantez.

Pero si meditamos las cosas con un poco de espíritu crítico, veremos que los hechos no pueden superponerse en absoluto, por lo menos en lo tocante a los resultados de inmunidad.

Efectivamente, si tenemos en cuenta la contaminación masiva que constituye la inoculación experimental, nos daremos cuenta de que difícilmente en la práctica se dará el caso de que un magullamiento del parénquima mamario sea invadido de súbito por una cifra de microbios equivalente a los 200 millones.

En la oveja, la infección se realiza por un pequeño número de gérmenes y en un medio de cultivo óptimo para realizar sus complejas actividades, y si no encuentra anticuerpos específicos desarrolla su característica perturbación gangrenosa.

Pero si se trata de una oveja previamente vacunada, tropieza con anticuerpos sobrados para inhibir su reproducción y anular su posible función necrosante. No se olvide que por la leche se eliminan con facilidad la mayoría de anticuerpos. Este es a nuestro entender el argumento que apoya la eficacia de la vacunación.

Por otra parte, hemos visto en las experiencias que hemos descrito anteriormente, que la vacunación con gérmenes muertos por el calor ha dado resultados mejores que la anatoxina y el suero-anti, a pesar de la brutal cifra de gérmenes inoculados.

A este respecto de cosas inmunológicas, creemos interesante reseñar que los ratones inoculados con 0'1 de cultivo y tratados con penicilina, que lo soportan sin el menor transtorno aparente, no quedan vacunados.

Todos los ratones supervivientes de nuestras pruebas con penicilina, han sido inoculados nuevamente con la misma dosis mortal a los 15 días, y el 90 por 100 han muerto entre las 12 y 48 horas. Esta comprobación no constituye en buena lógica una sorpresa desconcertante. Sabemos o por lo menos creemos saber, que para conseguir una respuesta inmunitaria, es preciso el aporte de una buena cantidad de antígeno o bien necesitamos crear un proceso morboso sub-clínico, que en ambos casos no son más que formas diversas de proporcionar al organismo materiales con los que elaborar los anticuerpos específicos.

Y en el caso concreto de nuestras experiencias, es probable que la cantidad de antígeno inoculado sea insuficiente o bien la penicilina le modifica de forma que no sea apto para constituir un buen antígeno. Pero, de lo que no puede dudarse, es de que no produce transtorno alguno que haga pensar en enfermedad inaparente creadora de ulterior estado de resistencia.

Y ya en plan de teorizar, séanos permitido plantear más incógnitas en la biología de los estafilococos.

¿No podría atribuirse la facilidad de inmunización de la oveja con emulsiones muertas, en comparación de lo que ocurre en el hombre, a factores de orden constitucional? Porque lo cierto es que en el hombre, las lesiones atribuibles al estafilo raramente llegan a tipos de gangrena alarmante, y sólo se hacen temibles por su posibilidad de producir septicemias.

Tampoco es demasiado ilógico pensar que la localización, en el caso de la mamitis de la oveja, condiciona la patogenia con indiscutible personalidad, gracias a su medio ambiente.

#### INTERPRETACIÓN PATOGÉNICA

Después de las consideraciones que acompañan a los trabajos que hemos realizado, con el fin de poner un poco de orden en la biología del estafilococo, no presenta grandes dificultades establecer una proposición de patogenia.

Hemos visto que el estafilococo que ordinariamente se aísla en la mamitis gangrenosa y que reproduce la enfermedad, es un germen cuya característica más destacada consiste en la formación de toxinas de compleja actividad agresiva.

Hemos visto que el estafilococo, requiere para producir sus venenos, unas condiciones físicas y químicas en su medio, que se encuentran inmejorables en la leche.

Por tanto, el estafilococo al establecerse en el tejido mamario, crea un foco de producción de activas toxinas. ¿Qué pruebas tenemos de ello? A nuestro entender varias. Desde que Nocard describió magistralmente la afección, se sabe que el germen sólo se aísla con se-

guridad de siembras de tejido mamario. Es decir, se trata de una infección estrictamente localizada, y que no obstante produce la muerte en una proporción considerable, sin crear estados septicémicos que podrían justificar este desenlace.

Luego hay que admitir que en la mama convertida en cultivo de estafilococos, se elabora algo que al pasar a la sangre puede matar.

Cuando se describió la mamitis gangrenosa, podía opinarse que la muerte obedecía a la absorción de las ptomaínas y de otras substancias procedentes de los tejidos mortificados. Hoy esta suposición no puede sostenerse porque, entre otros, Nélis ha demostrado que la toxina estafilocócica provoca la degeneración del miocardio, trastorno suficiente para ocasionar la muerte.

Y como ya no se puede poner en duda la actividad tóxica de los estafilococos procedentes de la mamitis gangrenosa de la oveja, puede afirmarse que en este proceso, la muerte es consecuencia de los venenos que se elaboran en el tejido mamario.

La mamitis gangrenosa de la oveja, mata por toxemia.

Es verdad que, para una demostración al abrigo de toda duda, se debiera comprobar que los filtrados de mama enferma son tóxicos para los animales de experimentación.

Pero si no poseemos pruebas absolutamente directas, tenemos sin embargo, argumentos indirectos de peso considerable.

Observando cortes histológicos de mama con el síndrome que analizamos, se ve que la estructura normal del tejido glandular ha desaparecido casi completamente. Es difícil encontrar una zona con alvéolos intactos. En todos los campos domina una invasión de células histiocitarias, leucocitos, gran proliferación conjuntiva y sobre todo gran cantidad de células en distintas fases de necrosis. La imagen, según dicen los histo-patólogos, coincide con un proceso tóxico, y si sabemos que el estafilo sabe elaborar toxinas, ¿por qué no admitir que éste sea el causante?

La sospecha de acción fundamentalmente tóxica, también se deduce de los casos de necrosis estricta, o dicho más claramente, de aquellos en que la enfermedad se resuelve con el desprendimiento de la mama que fué presa del estafilococo.

Para matar, la mamitis gengrenosa necesita que sus venenos pasen a la circulación general en proporciones considerables para provocar, entre otros trastornos, la degeneración del miocardio. Pero puede darse el caso que el propio proceso de necrosis obstruya el paso de la toxina por anular la permeabilidad de los endotelios de los capilares venosos. Es una imagen gráfica de esta suposición, la caída de una glánluda por *gangrena seca*, quedando a la vista, en forma de colgajos, una red casi normal del sistema circulatorio. No es arries-

gado pensar que los endotelios capilares pueden ser heridos y taponarse, cuando todavía no pasó cantidad suficiente de toxina para ocasionar la muerte.

Nos parece tan lógica esta suposición, que creemos podría intentarse un sencillo tratamiento quirúrgico para resolver la vida de las ovejas enfermas, a base de dejarlas sin ubres, naturalmente.

Queremos referirnos a la ligadura de la arteria mamaria, en cuanto se confirme la gangrena de la glándula. Con ello evitaríamos el paso de toxinas a la sangre y se aceleraría la necrosis por falta de riego, localizando de una manera bien simple la lesión.

Por último, tenemos otro argumento para pensar en la toxemia, que nos lo proporciona la mamitis estafilocócica de la vaca. En estos animales, las mamitis son bastante bien conocidas, en razón a las pérdidas económicas que suponen, y se sabe que los estreptococos (que parecen más fieros), prácticamente, jamás producen transtornos que puedan comprometer la vida de la vaca.

Y no obstante las mamitis, cuya causa es un estafilococo, son extraordinariamente graves y los casos de muerte llegan a porcentajes de consideración. ¿Septicemia? ¿Toxemia? Desde luego no conocemos trabajos confirmatorios de lo que ocurre, pero en un caso que hemos tenido ocasión de estudiar, las siembras de diversos órganos no han dado cultivos positivos, y sí se obtuvieron claramente de la leche y de porciones de glándula mamaria... Y los estafilos aislados presentan las mismas características de toxicidad que los de mamitis gangrenosa de la oveja.

¿Constituyen los estafilos de la mamitis de la oveja una variedad dentro del grupo de los estafilococos patógenos? En principio nosotros nos inclinamos a creer que en todo caso no serían más que adaptaciones a un medio, exaltando en él sus propiedades tóxicas. Abonan este criterio, dos hechos de un valor no despreciable. Uno de ellos es la realidad de que los estafilos de mamitis poseen mayor aptitud que los humanos para producir hemolisina beta. El otro, más significativo acaso, está representado por la dificultad de reproducir en la cabra, con gérmenes de oveja, la gangrena clásica, pues se reduce a un foco discreto que se esfacela sin mayores consecuencias.

Para aclarar este detalle, podría hacerse una experiencia que nos hace mucha ilusión, pero que hoy por hoy, no está al alcance de nuestras posibilidades. Inocular un grupo de ovejas con estafilococos toxígenos de origen humano y ver si se reproducía la enfermedad, al primer intento o bien después de pasos sucesivos con miras a una exaltación de especie.

Con esto quedaría el problema sin resquicios, donde apalancar con suspicacias, respecto a la unidad de virulencia. Todos los demás elementos de diferenciación que podemos manejar, son de una mani-

fiesta endeblez, para intentar una separación neta, como puede verse en el cuadro resumen que acompañamos.

Y en cuanto a la especificidad serológica intentada por Julianelle, Weighard, Peragallo y Blanco, entre otros, tampoco es definitiva. Con este procedimiento se separan claramente dos grandes grupos: los patógenos y los saprófitos. Pero querer afinar a base de matices de unidad reacional, con el propósito de nuevas agrupaciones, nos parece excesiva filigrana, que por otra parte no se presta a muchos optimismos, puesto que se observan resultados de paradoja que ayudan muy poco para sostener un criterio tajante.

De todos modos, como no somos aficionados a conclusiones categóricas en cuestiones de biología, consignamos estos hechos, con todas las reservas que merece un problema que bien puede sufrir modificaciones a la luz de posibles descubrimientos que aclaren definitivamente el comportamiento de este germen, que cada día vamos conociendo mejor.

Como final de este capítulo, debemos exponer una duda que no hemos podido desentrañar. ¿Por qué la mamitis gangrenosa de la oveja no se presenta con aires de enfermedad contagiosa?

Todos estamos conformes en que se trata de una afección microbiana, como también lo estamos en que el contagio es prácticamente desconocido.

Parece necesario la inyección masiva experimental, o bien ha de producirse una pequeña zona de mortificación en el tejido mamario, para que la infección se desarrolle. Y esto es un poco oscuro porque hemos visto que la glándula mamaria en plena actividad funcional, ofrece un magnífico medio de cultivo para que el estafilo desarrolle su poder tóxico.

Y sin embargo no ocurre así. Acaso las pequeñas contaminaciones naturales sean neutralizadas por el poder ligeramente bactericida que tiene la leche natural, y posiblemente sea preciso un poco de mortificación mecánica para implantarse el germen con posibilidades de no ser desalojado. La experiencia clínica abona este punto de vista que desde luego no formulamos más que como sugerión sin compromiso.

#### SINTOMATOLOGÍA

Si aceptamos nuestra hipótesis patogénica, los síntomas no pueden ser más claros ni más fáciles de interpretar.

La enfermedad comienza con una mamitis aguda que congestiona el órgano de una manera alarmante. Este se vuelve azulado y edematoso, extendiéndose el edema por las regiones vecinas.

El animal acusa fiebre alta, inapetencia y debilidad que se acre-

túa rápidamente cuando la muerte será su fin. Esta acontece, en los casos sobreagudos a las 24 horas.

Cuando la intoxicación obstruye la circulación de retorno, y por tanto cesa la absorción de venenos, el animal se puede salvar, perdiendo por gangrena la región afectada. Este final se puede pronosticar cuando la mama se endurece considerablemente y el edema se limita, ya que en este caso, es casi seguro que el foco queda sin riego sanguíneo, con lo cual se agota el medio de cultivo y también la posibilidad de transmitir nuevas cantidades de toxina a la circulación general con el riesgo consiguiente para la integridad del miocardio.

#### PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

En nuestro país y en Francia, gozan de indiscutible prestigio las vacunaciones preventivas a base de emulsiones específicas muertas por el calor o por el formol.

Se tratarán las ovejas amenazadas, dos meses antes de la parida. La inoculación debe practicarse todos los años.

Bridé aconseja preparar vacunas sensibilizadas, que producen menos reacción, y magníficos resultados.

En cuanto al tratamiento curativo, nos parece que poca cosa puede hacerse, si exceptuamos nuestra idea puramente teórica de proceder a la ligadura de la arteria mamaria.

Es una enfermedad de curso tan rápido que posiblemente no conseguiríamos nada con un buen suero antitóxico.

Es probable que la penicilina, aplicada en los primeros momentos, diera buenos resultados, dada su actividad en los ensayos experimentales que hemos reseñado.

De todos modos creemos que lo importante y más barato, consistirá siempre en prevenir, sin esperar un tratamiento curativo que no siempre puede llegar oportunamente.

#### C O N C L U S I O N E S

1.<sup>a</sup> La mamitis gangrenosa de la oveja es una morbosidad provocada por un estafilococo toxígeno.

2.<sup>a</sup> Constituye una enfermedad infecciosa no contagiosa.

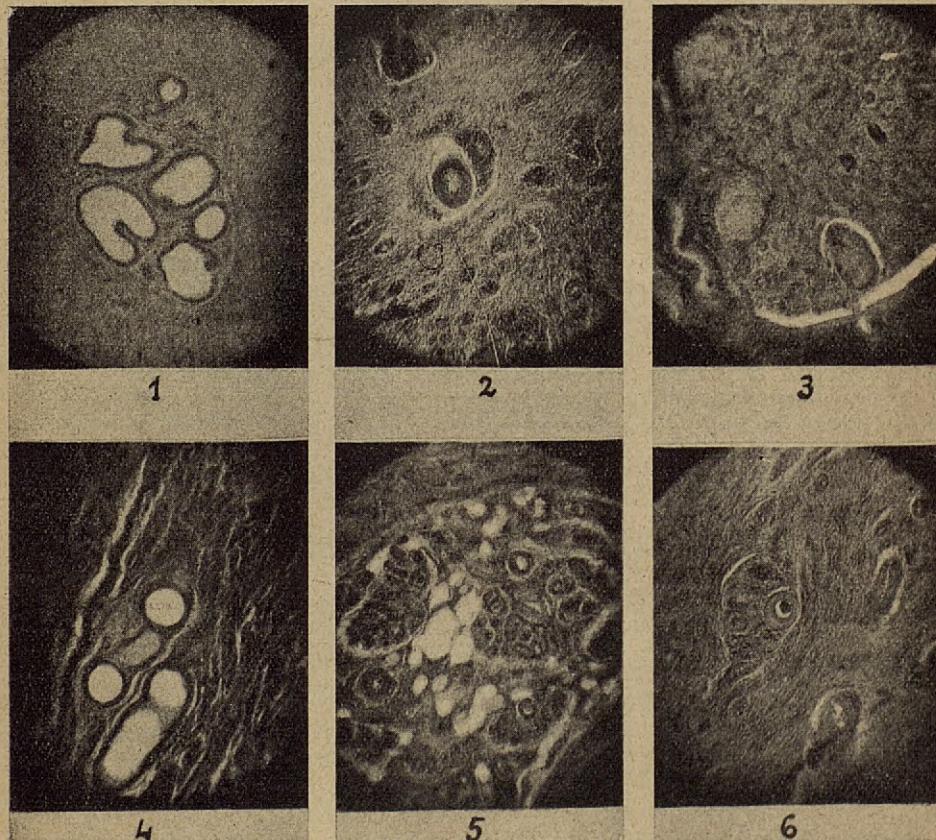
3.<sup>a</sup> Toda la sintomatología parece se puede atribuir a la función toxígena del germen.

4.<sup>a</sup> Los animales mueren a consecuencia del paso de esta toxina al torrente circulatorio, sin provocar la septicemia.

5.<sup>a</sup> No existen pruebas definitivas para poder afirmar que el germen aislado y descubierto por Nocard, constituye un microbio específico de la gangrena de las ovejas.

6.<sup>a</sup> La caracterización del germen debe realizarse utilizando diversas pruebas de función agresiva, especialmente sus propiedades tóxicas y sus reacciones serológicas.

I. VIDAL MUNNÉ  
*Veterinario*



Imágenes histológicas de una mama atacada de gangrena por estafilocócico toxígeno.

1. Porción de tejido normal. 2, 3, 4, 5 y 6. Diversos aspectos de la destrucción y neoformación provocada por la tóxico-infección.

## B I B L I O G R A F I A

- M. Nocard.* — Sociedad central de Medicina Veterinaria, mayo 1887.
- Willy Pfeiler.* — Über die gangranose Enterenzündung bei Schafen. "Zeits. fur. Infek. paras. Kras. und Hygiene der Haustiere". 1908, p. 132.
- Basset.* — Quelques maladies infectieuses. Paris, 1946.
- Bride.* — Sobre la vacunación de la oveja y cabra contra la mamitis gangrenosa. "Rev. de H. y S. P.", 1913, p. 242.
- Julianelle & Weighard.* — The immunological specificity of staphylococci. The occurrence of serological types. "Jour. of Exp. Med.", 1935, 62-II-21.
- López.* — Estudio de un micrococo patógeno para la cabra y el cabrito. "Rev. de H. y S. P.", 1917, p. 180.
- Forgeot.* — Traité des maladies infectieuses et contagieuses d'origine microbienne des animaux domestiques. Paris 1935.
- R. Calderilla Carnicero.* — Mamitis gangrenosa de las ovejas. "Boletín de divulgación Ganadera", 1945. N.º 5.
- P. N. Panton & F. C. O. Valentine.* — Staphylococcal toxin. "Lancet", 5 marzo 1932, p. 506.
- H. J. Parish & W. H. M. Clark.* — Staphylococcal toxin and antitoxin. "Journ. of Pat. & Bact". T. XXXV, marzo, 1932, p. 251.
- J. Schwartz.* — Variations du pH dans les milieux de culture destinés à la production de toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol". t. CXX, 1935, p. 1085.
- G. Ramon.* — Sur la production de la toxine et de l'anatoxine staphylococciques. "C. R. Soc. Biol", t. CXXI, p. 375, 1936.
- G. Ramon & R. Richow.* — Sur le dosage de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", t. CXXI, p. 379, 1936.
- F. C. O. Valentine.* — Further observation on the role of the toxin in staphylococcal infection. "The Lancet". N.º 5871, 1936.
- P. Nelis.* — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", t. CXIII, p. 7, 1933.
- P. Nelis.* — Nouveau milieu de culture pour la production de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", t. CXXI, N.º 8, p. 725, 1936.
- G. F. Leonard & A. Holin.* — A Method for the production of staphylococcus toxin and toxoid. "The Jour. of Immun", septiembre, 1935.
- Johs Ipsen & O. Rostock.* — Un étalon provisoire d'antitoxine staphylococcique B. "Bulletin de l'organisation d'Higiene", Vol. XII.
- Italo Peragallo.* — Técnica Microbiológica. Milano, 1945.
- P. Hartley & Margaret Llewellyn Smith.* — Etalon international proposé pour le sérum antistaphylococcique. "Bull. trim. de l'Organisation D'Hygiène", Genève, 1935, pp. 67.
- A. Zironi.* — Sur la pathogénie des infections staphylococciques. "Rev. d'Immunologie", 1938, T. IV, p. 130.
- A. Delaunay.* — L'immunité antistaphylococcique conferée par l'anatoxine spécifique et son mécanisme. "Rev. d'Immunologie", 1938, t. IV, p. 65.
- P. Mercier.* — L'anatoxine staphylococcique et le traitement des affections a staphylococques. Vigot Frères. Paris.

- B. S. Walker. — Estafilocoagulasa y sustancias afines. "Bull. of the New England Medical Center", V. VIII, N.<sup>o</sup> 2, p. 54.
- Renzo Davoli. — Tossine, Anatossine, Antitossine. Firenze 1946.
- T. V. Simitch & S. Mrchevitch. — L'immunité locale et la vaccination antistaphylococcique par voie cutanée. "Rev. d'Immunologie", t. III, p. 463, 1937.
- C. Gernes & G. Panneguin. — L'intradermoreaction à la toxine et à l'anatoxine staphylococciques, comme test de l'immunité et de l'allergie antistaphylococciques chez l'homme. "Rev. d'Imm.", t. III, p. 97, 1937.
- G. Ramon, R. Richow & M. Djourichitch. — Sur le mecanisme de l'immunité conferé par l'anatoxine staphylococcique à l'égard de l'infection par le staphylocoque virulent. Démonstration expérimentale. "Rev. d'Imm.", t. II, 1936.
- G. Ramon, R. Richow & M. Djourichitch. — Sur l'immunité antistaphylococcique naturelle chez le lapin et chez le cobaye. Etude expérimentale. "Rev. d'Imm.", t. II, p. 375, 1936.
- G. Ramon, A. Bocage, R. Richow & P. Mercier. — Etude serologique et clinique de l'immunité dans l'anatoxitherapie staphylococcique. Resultés, Consequences. "Rev. d'Imm.", t. II, p. 551, 1936.
- P. Nelis. — L'immunité antitoxique staphylococcique (étude préliminaire). "Rev. d'Imm.", t. I, p. 152, 1935.
- P. Hartley & M. Llewellyn Smith. — Appendice: Memorandum sur un étalon international de sérum antistaphylococcique. "Bull. trim. de l'organisation d'Hygiène". Genève, 1935. N.<sup>o</sup> spécial, p. 110.
- G. Ramon, R. Richow & J. Descazeaux. — L'antitoxine staphylococcique d'origine naturelle, chez l'homme et chez différentes espèces animales. "Revue d'immunologie", 1935, t. 1, p. 401.
- P. Nelis. — Action cardiaque de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol.", 113-7, 1933.
- Burnet. — The exotoxins of staphylococcal Toxin. "Jour. Pat. Bact.", 32-717, 1929.
- Rochaix & Tapernoux. — Le lait et ses derivés. París, 1942.
- Maurice Defrance. — L'anatoxine staphylococcique purifié. París 1938.
- Topley & Wilson. — Bacteriología e Immunidad. 1942.
- Blanco Loizelier. — Contribución al estudio de los estafilococos de origen animal y en particular del germen de la mamitis gangrenosa de la oveja. "Ciencia Veterinaria", enero, 1947.
- C. Díaz Ungria. — Estafilococias en los animales domésticos. "Ciencia Veterinaria", N.<sup>o</sup> 34, 1946.
- Juan Talavera. — Bacteriología de los procesos estafilocócicos. "Ciencia Veterinaria", N.<sup>o</sup> 6, 1941.
- R. Debré, H. Bonnet & S. Thiefrey. — Toxine, antitoxine, anatoxine staphylococciques. "Annales de Médecine", T. 42, octubre, 1937.

## Investigaciones acerca de la brucelosis en los sementales bovinos, desde el punto de vista de la transmisión de la enfermedad por inseminación artificial.

En relación con los trabajos efectuados acerca de un control colectivo de la brucelosis bovina, han sido encontrados algunos casos de transmisión de la infección a un gran número de vacas inseminadas, libres de la infección, por el uso de semen procedente de sementales con procesos inflamatorios agudos de origen brucelar en las vesículas seminales, ampolla de los conductos deferentes y epidídimos.

En un período de dos años fueron examinados 394 sementales: 58 de ellos dieron reacción positiva a la brucelosis en 28 de los cuales sólo pudo comprobarse la presencia de aglutininas en el suero como única manifestación de la infección, y en los 30 restantes se pudo también poner en evidencia la presencia de aglutininas en el líquido espermático. En 15 de estos últimos se encontraron brucelas bien por cultivo o por inoculación al cobayo.

En los sementales que presentaban reacción brucelar positiva en su líquido espermático esta reacción corrientemente era de larga duración y la presencia de aglutininas en el líquido espermático suele ir asociada, en casi todos los casos, con un foco inflamatorio de origen brucelar en testículo, epidídimos, ampolla del conducto deferente y vesículas seminales. Este hecho pudo ser demostrado por el examen clínico y autopsia de 26 sementales. Estos hallazgos demuestran que las aglutininas se forman en el foco inflamatorio, y además explica el hecho de las estrechas relaciones existentes entre la cantidad de aglutininas presentes en el suero sanguíneo y en el líquido espermático según la diferente localización del proceso inflamatorio.

En la fase aguda de procesos de vesiculitis, ampullitis y epididimitis se encuentran gran cantidad de brucelas en el semen, habiéndose demostrado la transmisión de la enfermedad en cinco sementales que padecían procesos de dicha naturaleza.

H. C. BENDIXEN Y ERIK BLOM.

(*The Veterinary Journal*, vol. 103, núm. 10. 1947. — Extractado por F. B.).

## INFORMACIÓN OFICIAL

### Ministerio de Agricultura

*ORDEN de 17 de diciembre de 1947 por la que se resuelve el concurso-oposición convocado por Orden ministerial de 24 de junio de 1947, y se amplían las plazas a ingreso en el Escalafón del Cuerpo de Inspectores Municipales Veterinarios en su categoría de oposición.*

Ilmo. Sr.: Vista la propuesta elevada con fecha 13 de diciembre del corriente año por los Tribunales calificadores del concurso-oposición a ingreso en el Escalafón del Cuerpo de Inspectores Municipales Veterinarios de tal categoría, convocado por Orden de 24 de junio de 1947 (*Boletín Oficial del Estado* de 17 de julio de 1947), y atendiendo la conveniencia de ampliar el ingreso en dicho Cuerpo de Inspectores Municipales Veterinarios de categoría de oposición, de los 143 opositores declarados aptos por los Tribunales correspondientes,

Este Ministerio ha tenido a bien:

1.º Aprobar la relación de 250 opositores, aprobados en dicho concurso-oposición a ingreso en el Escalafón de Inspectores Municipales Veterinarios de tal categoría; y

2.º Aprobar, igualmente, la ampliación de 143 opositores, que han demostrado suficiente aptitud, por haber aprobado todos los ejercicios, los que, por orden de puntuación, serán colocados a continuación de los anteriores en el Escalafón de oposición mencionado.

Lo que digo a V. I. para su conocimiento y efectos.

Dios guarde a V. I. muchos años.

Madrid, 17 de diciembre de 1947. — REIN.

(*B. O. del E.*, de 1.º febrero de 1948).

Ilmo. Sr. Director general de Ganadería.

*ORDEN de 27 de enero de 1948 por la que se deja sin efecto la intervención de la vacuna Waldmann y dictando normas complementarias.*

Ilmo. Sr.: Las medidas dictadas por este Ministerio con fecha 30 de noviembre de 1946 para combatir la fiebre aftosa contaban, de una parte, por la que se intervenía la producción y distribución de los recursos de vacuna elaborados en España contra esta enfermedad, que entonces era insuficiente a las necesidades nacionales; el favorable estado sanitario de la ganadería respecto esta enfermedad y el incremento en la obtención de aquel producto, que hoy satisface cumplidamente aquellas necesidades, aconsejan modificar aquella orden

dando libertad a los laboratorios productores para la distribución y venta de la vacuna antiaftosa que merezca aprobación del Servicio de Contrastación, al propio tiempo que se confirman las medidas que la práctica ha demostrado como de positivo valor en la lucha contra esta epizootia.

En su virtud, he tenido a bien disponer lo siguiente:

ARTÍCULO 1.<sup>o</sup> A partir de la publicación de la presente orden queda sin efecto lo dispuesto en la norma segunda de la orden de este Ministerio de fecha 30 de noviembre de 1946 y, en su virtud, se autoriza a los laboratorios productores de vacuna antiaftosa tipo Waldmann para llevar a cabo libremente la distribución y venta de su producción después que ésta haya sido autorizada por el Servicio de Contrastación del Instituto de Biología Animal.

ART. 2.<sup>o</sup> Quedan subsistentes las restantes medidas ordenadas en la citada disposición de 30 de noviembre de 1946, y en lo sucesivo, a la aparición de focos de glosopeda será de aplicación obligatoria el tratamiento profiláctico con vacuna homóloga mono o bivalente de los animales receptibles, incluídos en las zonas de inmunización.

ART. 3.<sup>o</sup> Interin existan focos de glosopeda en España, y por un período no inferior a seis meses después de ser declarada extinguida esta enfermedad en todo el territorio nacional, los Gobernadores civiles podrán establecer, con carácter obligatorio, el establecimiento de un período de observación de cuatro días, durante el cual se vacunará profilácticamente contra la fiebre aftosa el ganado vacuno lechero que se importa en las respectivas provincias a su explotación dentro de ellas.

ART. 4.<sup>o</sup> Los animales receptibles a la glosopeda presentados en régimen de importación en nuestras Aduanas marítimas y terrestres se someterán a una observación de cuatro días por los Servicios Veterinarios de Puertos y Fronteras, finalizado el cual serán vacunados con productos bivalentes A—C si no lo fueron en el país de origen, requisito éste que será acreditado mediante la oportuna certificación.

**Una sola cápsula**



**VITAN**

cura la

**DISTOMATOsis-HEPATICA**

del ganado **lanar**,  
**vacuno** y **cabrío**

**Laboratorios I. E. T. - Avenida José Antonio, 750 - BARCELONA**

Por esa Dirección General se dictarán las medidas a poner en práctica por los Servicios Veterinarios de Puertos y Fronteras respecto a la determinación sobre las materias contumaces y piensos procedentes del extranjero, informando a los mismos de forma periódica sobre la extensión de esta enfermedad en los distintos países.

ART. 5.<sup>o</sup> De conformidad con lo prevenido en la norma décima de la Orden ministerial de 30 de noviembre de 1946 el importe de la vacunación realizada será a cargo de los propietarios del ganado a que se refiere el artículo segundo de esta orden, y de los importadores, en el ganado presentado en régimen de importación, ínterin que por el Estado se arbitren los recursos precisos para estas obligaciones.

Lo que digo a V. I. para su conocimiento y efectos.

Madrid, 27 de enero de 1948. — REIN.

(*B. O. del E.*, de 1.<sup>o</sup> febrero de 1948).

Ilmo. Sr. Director general de ganadería.

### Dirección General de Ganadería

#### CIRCULAR número 89 por la que se dictan normas para la contratación oficial del Estado de vacunas contra la peste aviar.

La aparición de peste aviar en la población avícola española crea la necesidad de regular la preparación de antígenos y vacunas con destino a la lucha contra la misma, y para garantizar su eficacia y utilidad práctica, de acuerdo con lo dispuesto en las Ordenes de este Ministerio de 26 de octubre de 1939 (*Boletín Oficial del Estado* del 18), 24 de mayo de 1940 (*Boletín Oficial del Estado* del 26) y 11 de noviembre de 1941 (*Boletín Oficial del Estado* del 16), esta Dirección General ha considerado oportuno extender a las vacunas contra la peste aviar la vigilancia, fiscalización, normas de elaboración y control establecidos para los restantes preparados biológicos de uso veterinario que en la actualidad son objeto de tales medidas, con el fin de garantizar su pureza, inocuidad y poder de protección.

Con respecto a los preparados contra la epizootia mencionada, las normas de control y fiscalización serán las siguientes:

1.<sup>a</sup> Las vacunas preparadas contra la peste aviar estarán libres de gérmenes vivos, comprobándose su pureza por medio de cultivos aerobios y anaerobios de los lotes sometidos a control.

2.<sup>a</sup> De cada lote de fabricación se llevará a efecto una prueba de inocuidad en un grupo de cuatro gallinas, inyectando a cada una cuatro veces la dosis vacunante que declare el laboratorio productor, y cuya inocularación deberá resultar inofensiva durante los quince días siguientes a la inyección.

3.<sup>a</sup> Las pruebas de protección se sujetarán al siguiente protocolo:

a) Se aislarán en jaulas tres lotes con cinco gallinas cada uno, de seis a ocho meses de edad y de raza Leghorn, donde serán observadas previamente durante ocho días para asegurar su garantía sanitaria.

b) Al lote primero se inyectará, a cada ave, un centímetro cúbico de vacuna patrón elaborada por el Instituto de Biología Animal, en inyección intramuscular en la pierna.

Simultáneamente se inyectará al lote segundo la dosis vacunante que declare el laboratorio productor.

El lote tercero se dejará como testigo de virus sin inyección vacunante alguna.

c) Entre los días 11 y 20 siguientes a la inyección vacunante se inoculará a todas las aves de los tres lotes un centímetro cúbico de una emulsión con  $10^6$  dosis mínimas mortales de virus de embrión de pollo.

d) Se considerará apto para la vacunación práctica el preparado biológico comercial que durante los quince días siguientes a la inoculación del virus proteja, totalmente o al 80 por 100, las aves del lote correspondiente durante veinte días, debiendo morir las del lote testigo entre las treinta y seis y setenta horas siguientes a la inoculación del virus.

4.<sup>a</sup> La vacuna patrón elaborada por el Instituto de Biología Animal, será preparada de modo que un centímetro cúbico lleve la cantidad de antígeno suficiente para proteger al lote número 1, totalmente o en un 80 por 100, durante veinte días contra  $10^6$  dosis mínimas mortales de virus embrión.

La dosis mínima mortal de virus embrión queda establecida en la cantidad de dicho virus, que mata el 50 por 100 de los embriones de un lote de ocho en el plazo máximo de cuatro días.

5.<sup>a</sup> Los lotes sometidos a control serán, como mínimo, de 25.000 dosis, y la duración de validez máxima de la vacuna será, como máximo, de seis meses, conservada a 4° C., a partir de la fecha del control, constando la fecha terminal de validez en las etiquetas junto al número del lote controlado.

6.<sup>a</sup> El laboratorio que requiera al Instituto de Biología Animal el control de un lote de vacuna contra la peste aviar pondrá a disposición del Delegado Técnico de Contrastación la totalidad del mismo para la toma de muestras y el precintado de los envases que lo contengan.

Una vez terminado el control, el Delegado Técnico de Contrastación levantará los precintos, presenciará el envasado y aplicará el marchamo de garantía del Instituto de Biología Animal en todos los envases comerciales, con arreglo a lo previsto en el artículo quinto

de la Orden ministerial de 16 de octubre de 1939 (*Boletín Oficial del Estado* del 18).

7.<sup>a</sup> Los gastos de control serán de cuenta de los laboratorios productores, y el canon oficial será el establecido en la Orden ministerial comunicada del 28 de febrero de 1945 y en la cuantía expresada para virus de peste porcina.

Lo que digo para conocimiento general y exacto cumplimiento. Dios guarde a V. S. muchos años.

Madrid, 28 de enero de 1948. — El Director general, D. CARBONERO, Sr. Director del Instituto de Biología Animal, para conocimiento, cumplimiento y traslado a los laboratorios productores.  
(*B. O. del E.*, de 10 de febrero de 1948).

## Gobierno civil de la Provincia

### Servicio provincial de Ganadería

#### CIRCULAR

A propuesta de la Jefatura del Servicio Provincial de Ganadería y de conformidad con lo dispuesto en el Decreto-Ley de 7 de diciembre de 1931, creando la Dirección General de Ganadería e Industrias Pecuarias, en sus bases A) y B) del Negociado 3.<sup>a</sup>, de la Sección de Higiene y Sanidad Veterinaria, que regula la práctica veterinaria y la dirección facultativa del ejercicio del herrado de los animales domésticos.

Dispongo:

Que en el plazo de un mes, a partir de la publicación de la presente Circular en el *Boletín Oficial* de la provincia, ningún herrador podrá dedicarse a la práctica del herrado si no es bajo la dirección técnica de un veterinario, a cuyo efecto se observarán las siguientes normas:

1.<sup>a</sup> Para la apertura o funcionamiento de los establecimientos dedicados al herraje del ganado tendrá que solicitarse la oportuna autorización del Colegio Oficial de Veterinarios de la provincia de Barcelona, que la otorgará o denegará, previo el informe correspondiente y teniendo en cuenta las necesidades del servicio, formalizándose si procede, el correspondiente permiso o contrato de Regencia, que deberá ser prorrogado anualmente.

2.<sup>a</sup> Ningún Veterinario municipal podrá tener o regentar más establecimientos de herrado que los enclavados dentro de su partido veterinario.

3.<sup>a</sup> Ningún Veterinario de ejercicio libre podrá tener o regentar más establecimientos de herrado que los autorizados en el término municipal de su residencia habitual.

4.<sup>a</sup> Para la percepción de honorarios por la práctica del herradero los establecimientos de herraje se atenderán a las tarifas oficiales aprobadas por el Colegio y Sindicato correspondiente.

5.<sup>a</sup> En la misma población los establecimientos de herraje tendrán que estar enclavados en los puntos estratégicos de concurrencia ganadera, a fin de evitar competencia entre ellos. No obstante lo anterior, para evitar perjuicios a herradores establecidos en la actualidad se autorizará la regencia de mayor número de establecimientos, que deberán ser dados de baja cuando el titular regentado deje el oficio, fallezca o deje de poner un número mínimo de herraduras.

6.<sup>a</sup> Los Veterinarios que regenten establecimientos deberán hacer cumplir en los mismos cuantas disposiciones emanen del Colegio. En caso de incumplimiento, el Colegio impondrá la sanción correspondiente, pudiendo llegarse, en el caso de que la infracción parte del herrador, hasta la anulación del contrato.

7.<sup>a</sup> Los Veterinarios que posean establecimientos de herraje se atenderán a estas bases, formalizando el contrato a su nombre ante el Colegio.

8.<sup>a</sup> Los Veterinarios que quieran tener establecimiento propio, gozarán de preferencia para obtener la autorización de apertura de dicho establecimiento.

9.<sup>a</sup> Los casos no previstos en estos Estatutos e incidencias que puedan surgir serán solucionadas por el Colegio, previos los informes que estime pertinentes.

A los infractores de las precedentes normas se les sancionará con arreglo a la legislación vigente.

Lo que se hace público para conocimiento general.

Barcelona, 5 de febrero de 1948. — El Gobernador Civil. — EDUARDO BAEZA. — (*B. O. de la P.*, de 10 de febrero de 1948).

## Microscopio en venta

Se vende microscopio "KORISKA" en perfecto estado;  
3 oculares y 3 objetivos, con el de inmersión.

**Informes en la Secretaría del Colegio**

## VIDA COLEGIAL

### CONVOCATORIA

Se convoca a los señores Colegiados a la reunión de Junta General ordinaria que tendrá lugar el día 11 de marzo próximo, a las cuatro y media de la tarde, en el local del Colegio, con la siguiente orden del día:

- 1.<sup>º</sup> Lectura y aprobación del acta anterior.
- 2.<sup>º</sup> Lectura y aprobación de la Memoria de Secretaría.
- 3.<sup>º</sup> Lectura y aprobación del Estado de Cuentas.
- 4.<sup>º</sup> Ruegos y preguntas.

**Alta.** — D. César Agenjo Cecilia, Inspector Provincial de Sanidad Veterinaria (incorporado).

### Reunión de la Junta general extraordinaria

#### Acta de la sesión celebrada el día 3 de enero de 1948

A las cinco de la tarde y de segunda convocatoria, se reúnen en el salón de actos del Colegio, en Junta general extraordinaria, los señores que siguen: Brullet, Frau, Llargués, Martínez Cobo, Riera Sallentí, Sanz Royo y Viñas, bajo la presidencia de don Aniceto Puigdóllers, que ocupa el estrado presidencial, junto con el Jefe de la Sección Económica don Alfredo Albiol, el de la Sección Técnica don Antonio Riera Adroher, el de la de Labor Social don José M. Séculi, actuando de secretario don Alfonso Carreras, al objeto de presentar las enmiendas que se estimen oportunas al anteproyecto de Reglamento del Colegio de Huérfanos remitido por el Colegio Nacional.

El secretario don Alfonso Carreras da lectura al anteproyecto de referencia, acordándose, por mayoría, las siguientes modificaciones:

1.<sup>a</sup> Supresión del apartado 2.<sup>º</sup> del artículo 2.<sup>º</sup> y el artículo 37, por entender que los beneficios del Colegio de Huérfanos deben usufruenciarlos únicamente éstos, aparte de los disgustos que podría producir la elección de estos nuevos e indirectamente beneficiarios.

2.<sup>a</sup> Añadir al artículo 4.<sup>º</sup> el artículo 44 de las Ordenanzas del Colegio Nacional de Veterinarios de España, que dispone que el im-

porte íntegro de las multas a los colegiados se ingresarán en las cajas del Colegio de Huérfanos y del Montepío, por partes iguales.

Además, se consideró con respecto a dicho artículo 4.<sup>º</sup>, que hace referencia a los medios con que cuenta la Institución, que debería el Colegio Nacional dejar un tanto por ciento del superávit anual con destino al mismo.

Se consideró también conveniente proponer la creación de socios protectores, que luego se dirá en que consisten.

3.<sup>a</sup> Redactar el primer párrafo del artículo 11 en la siguiente forma: "El Consejo de Administración estará constituido por un Presidente, un Vicepresidente, un Secretario-Tesorero, un vocal primero y un vocal segundo, que constituirán la Junta Permanente, y con seis Consejeros regionales con los que se formará el Pleno del Consejo", al objeto de dar intervención directa a los Consejeros regionales en los acuerdos del Pleno.

Los cargos de Vicepresidente, Vocal primero y Vocal segundo se elegirán cada cuatro años por los Colegios Provinciales, a base de una terna que propondrá el Colegio Nacional.

Los Consejeros regionales serán igualmente elegidos cada cuatro

# Laboratorios «OPOTREMA»

---

SUEROS Y VACUNAS PARA VETERINARIA

---

Balmes, 430 (Torre) - Teléf. 76932

Despacho y Oficinas:

Puertaferrisa, 10, 1.<sup>º</sup> - Teléf. 21202

**BARCELONA**

años, por los Colegios Provinciales de la Zona correspondiente, a base de una terna que propondrá el Colegio Nacional.

4.<sup>a</sup> Añadir al final del artículo 11: "Todos los cargos citados serán honoríficos, no pudiéndose percibir, por tal concepto, sueldo, gratificación, ni remuneración alguna".

5.<sup>a</sup> Modificar el artículo 18 en la siguiente forma: "La Junta Permanente se reunirá por lo menos una vez cada tres meses y cuantas lo juzgue necesario el Presidente o lo soliciten la tercera parte de los miembros del Consejo. El Pleno se reunirá, por lo menos, una vez al año".

6.<sup>a</sup> Redactar el artículo 27 de la siguiente manera: "Los socios serán: De Honor, Protectores y de Número".

7.<sup>a</sup> Sustituir en el artículo 28, la palabra protectores por socios de Honor.

8.<sup>a</sup> Crear un nuevo artículo 28 bis, en el que se diga: "Serán socios protectores todos aquellos asociados que, aparte de sus cuotas ordinarias, quieran contribuir voluntariamente a los fines del Colegio de Huérfanos, con una cuota anual no inferior a cien pesetas".

9.<sup>a</sup> Suprimir el segundo párrafo del artículo 41, en el que se dice que si los recursos económicos no lo permitieran, etc., por entender que hay un compromiso moral con los posibles huérfanos que no puede desatenderse, debiéndose lograr el dinero en la forma que sea, menos dejarlos en situación de desigualdades, siempre y más en estos casos, desagradables.

10.<sup>a</sup> Redactar el artículo 51, de forma que se otorgue a los huérfanos que no hayan terminado todavía la carrera, al alcanzar la edad límite que se fija, prórroga en la pensión de que disfruten hasta su terminación, siempre que no pierdan curso, pero sin darle el carácter de anticipo reintegrable.

11.<sup>a</sup> La Junta General del Colegio de Barcelona, consecuente con su ya vieja manera de pensar, solicita del Colegio Nacional la supresión en el Reglamento de toda alusión a la posible creación de un Colegio de Huérfanos propio y único.

Y no habiendo más asuntos de que tratar, se levanta la sesión siendo las seis y media de la tarde.

## Reunión de la Junta de Gobierno

Acta de la sesión celebrada el día 3 de enero de 1948

A las seis y media de la tarde se reúne la Junta de Gobierno en el local social, bajo la presidencia de don Aniceto Puigdollers Rabell, y formada por don Alfredo Albiol Gas, don Antonio Riera Adroher, don José M.<sup>a</sup> Séculi Brillas y don Alfonso Carreras Bénard.

Abierta la sesión, el secretario don Alfonso Carreras da lectura al acta de la anterior, que es aprobada.

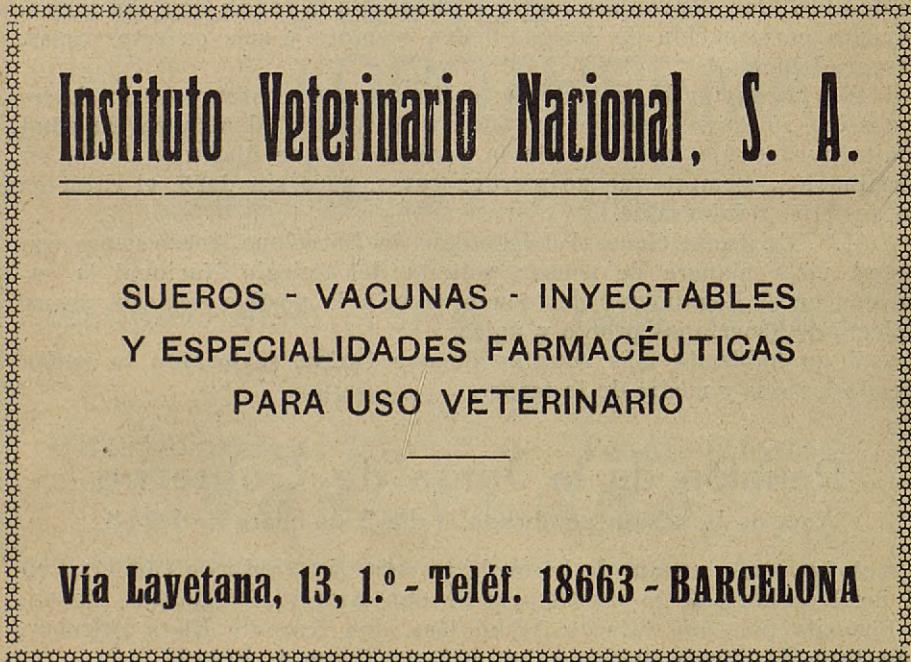
Seguidamente el Jefe de la Sección Económica don Alfredo Albiol, da lectura al proyecto de presupuestos del Colegio para 1948, que es aprobado por la Junta, para su remisión y definitiva aprobación por el Colegio Nacional.

Se acuerda poner en marcha los acuerdos referentes al problema del herraje aprobados en la Junta general extraordinaria del día 11 de diciembre último y al objeto de ganar tiempo se acuerda nombrar provisionalmente y para actuar en tal problema, mientras no se efectúan las elecciones correspondientes, a los siguientes señores, como delegados de distrito de las zonas que se señalan:

Barcelona (ciudad) don Fernando Amela; San Feliu de Llobregat don Agustín Brullet; Sabadell don José Pascual; Villanueva y Villafranca don Benito Carbó; Igualada don Luis Roca; Manresa don Ramón Carrera; Berga don Antonio Génova; Mataró don Cristóbal Salas; Granollers don José Llobet; Vich don José Fatjó.

Y sin más asuntos de que tratar se levanta la sesión, siendo las ocho de la noche.

---



# Instituto Veterinario Nacional, S. A.

---

SUEROS - VACUNAS - INYECTABLES  
Y ESPECIALIDADES FARMACÉUTICAS  
PARA USO VETERINARIO

---

Vía Layetana, 13, 1.<sup>o</sup> - Teléf. 18663 - BARCELONA