

## SECCIÓN DOCTRINAL

Trabajos originales

### LA SECRECIÓN EXTERNA DEL PÁNCREAS Y SU EXCITANTE HUMORAL

por

**LEANDRO CERVERA**

(DEL LABORATORIO DE FISIOLÓGICA DE LA FACULTAD DE BARCELONA)

#### I.—CÓMO SE LLEGÓ AL DESCUBRIMIENTO DE LA SECRETINA

##### BREVE RESUMEN HISTÓRICO

La periodicidad funcional del páncreas no se conoció con perfecta exactitud hasta que Pawlow, transformando la técnica operatoria, llevó a cabo la transplatación del conducto de Wirsung a la piel del abdomen.

Claudio Bernard había estudiado la secreción del páncreas y el jugo elaborado por dicha glándula, empleando la fistula temporal simple, con la cual sólo podía hacer observaciones cortas y en condiciones completamente fisiológicas. Heidenhain incurrió en igual defecto en todas sus experiencias.

La fistula pancreática permanente permitió descubrir, combinada con el estómago diverticular de Pawlow, que la secreción máxima de jugo pancreático tiene lugar tres horas después de la ingestión de los alimentos, coincidiendo con el momento en que la mayor parte del quimo ácido del estómago pasa al duodeno.

Esto inducía a pensar que existiera alguna relación causal entre el paso de los alimentos por el píloro y la secreción pancreática.

Claudio Bernard había demostrado ya que la introducción de éter en el estómago y en el primer segmento intestinal, provocaba la secreción pancreática.

Se convino en considerar la acción del quimo ácido y la del éter como estimulantes de un mecanismo nervioso reflejo. Pero Heidenhain, que concentró su atención sobre esta cuestión, no llegó a conseguir secreción pancreática de ninguna clase ni excitando el vago ni el esplánico y sí, solamente, en algunos casos, estimulando la médula oblongada.

Pawlow, que había transformado la fistula gástrica de Heidenhain en





un método que podría calificarse de conservador, por respetar la innervación en grado máximo, y había llegado a conclusiones sólidas sobre fisiología del estómago, creyó que los fracasos de Heidenhain eran debidos también en el páncreas a operar en malas condiciones.

Era necesario para él operar sobre animales no intoxicados por los anestésicos, sin dolores ni molestias y con presión sanguínea normal. No observar estos preceptos equivale a producir reflejos inhibidores múltiples que imposibilitan o alteran los resultados.

El páncreas es una glándula separada del tubo intestinal, y, por lo tanto, no sufre como las del estómago la acción directa de las sustancias alimenticias. Por otra parte, el jugo digestivo que elabora está compuesto, entre otras sustancias, por una cantidad de fermentos, que varían a compás de diferentes circunstancias y que actúan siempre sobre alimentos previamente modificados por la digestión gástrica, por lo que Pawlow lo considera muy justamente como un jugo complementario que responde a estímulos químicos.

La aplicación al páncreas de la idea que guió al fisiólogo ruso en el caso del estómago diverticular, fué el gran medio para llegar a conclusiones firmes sobre su fisiología, estudios que honran a la escuela de Petrogrado.

Pawlow y su discípulo Becker empezaron por examinar los efectos de las soluciones salinas neutras y alcalinas, por un lado, y del agua saturada de anhídrido carbónico, por otro, y pudieron observar que existía una especie de antagonismo entre los efectos de estos dos grupos de sustancias respecto a la secreción pancreática.

Las soluciones salinas se manifestaron más activas que el agua sola, y el agua con anhídrido carbónico más francamente activa que la anterior.

Estos resultados hicieron fijar la atención sobre los ácidos, y aquí empiezan los experimentos trascendentales sobre la fisiología del páncreas.

A un perro, al que con anterioridad se había operado una fístula pancreática permanente, se le dejó unas quince horas sin alimentos, para que su estómago estuviese vacío; mediante una sonda, se le introdujeron en él unos 150 c. c. de solución acuosa de ácido clorhídrico al 0,50 por 100; el perro quedó tranquilo y no protestó. Dos o tres minutos después de la ingestión se notó que por la fístula empezaban a caer gotas de líquido cada vez con mayor velocidad. Para convencerse de que no había sido el agua de la solución ingerida la que provocara la secreción, se le introdujeron en el estómago 500 centímetros cúbicos de agua sola y se observó que la secreción iba disminuyendo hasta pararse por completo.

Dolinski hizo la primera prueba cuantitativa de la acción de las soluciones ácidas sobre la secreción pancreática. A un perro al que se había tenido veinticuatro horas sin alimento alguno, se le introdujeron en el estómago, mediante una sonda, 250 c. c. de solución acuosa de ácido clorhídrico, en la misma proporción que existe en el jugo gástrico y midiendo cada cinco minutos la cantidad de jugo pancreático segregada, encontró las cifras siguientes:

|           |           |
|-----------|-----------|
| 6,0 c. c. | 0,4 c. c. |
| 9,5 —     | 3,4 —     |
| 9,5 —     | 5,4 —     |
| 9,5 —     | 2,4 —     |
| 8,5 —     | 0,6 —     |
| 7,0 —     | 1,0 —     |
| 8,0 —     | 0,2 —     |
| 7,5 —     | 0,8 —     |
| 7,5 —     | 0,4 —     |
| 7,0 —     | 0,0 —     |
| 2,0 —     | 0,2 —     |
| 0,5 —     | 0,0 —     |

Durante la primera hora, 82,5 c. c.      14,8 c. c., durante la segunda.

Intentó luego medir la cantidad segregada después de ingerir una cantidad de agua, y no pudo conseguirlo porque no se produjo secreción alguna.

En cambio, después de una nueva introducción de 250 c. c. más de solución hidróclorica, recogiendo el jugo pancreático cada diez minutos, pudo contar las cantidades siguientes:

|           |            |           |
|-----------|------------|-----------|
| 1,0 c. c. | 13,0 c. c. | 3,0 c. c. |
| 13,0 —    | 15,0 —     | 0,2 —     |
| 15,0 —    | 10,5 —     |           |
| 15,0 —    | 9,0 —      |           |
| 14,0 —    | 7,5 —      |           |
| 15,0 —    | 10,5 —     |           |

Durante la 1.<sup>a</sup> h. = 73,0 c. c.      2.<sup>a</sup> h. = 65,5 c. c.      paro de secreción.

Se procedió a hacer un estudio comparado de la manera de actuar de diferentes ácidos y no se consiguió hallar diferencias ostensibles, por lo cual se podía afirmar que el ser excitador pancreático era una cualidad común a todos ellos.

La lógica obligaba a considerar y a admitir que la acidez del jugo gástrico era la que específicamente provocaba la secreción del páncreas y la que servía, por lo tanto, de vinculador funcional entre estos dos órganos del aparato digestivo.

Esto se probó experimentalmente, demostrando que el grado de acidez óptimo para excitar el trabajo secretor del páncreas, es el que normalmente posee el jugo gástrico.

Para ello se sometió a un animal a la acción de tres soluciones diferentes de ácido clorhídrico y se midió la cantidad de jugo pancreático segregada cada hora.

He aquí los resultados:

|            |         |         |
|------------|---------|---------|
| 70,8 c. c. | — c. c. | — c. c. |
| 79,5 —     | 25,7 —  | — —     |
| 82,5 —     | 26,8 —  | 20,5 —  |
| 89,4 —     | 32,5 —  | 0 —     |

Con solución al 0,5 por 100.

Al 0,1 por 100.

Al 0,05 por 100.



De estas experiencias se dedujo que la acidez del jugo gástrico tenía que ser considerada como la causa indiscutible de la secreción pancreática.

Pudo verse también, que las soluciones de peptona, azúcar y albuminoides, introducidas en el estómago, sólo provocan secreción cuando son intensamente ácidas.

Se hizo luego una contraprueba, consistente en neutralizar el jugo gástrico, y, efectivamente, se pudo observar que en estas condiciones es completamente inactivo.

Introduciendo en el estómago, con una sonda, una solución de bicarbonato, agua de cal o jugo pancreático, cuando empiezan a caer gotas de secreción por la fistula, observó Pawlow que la secreción se suspendía.

Que los ácidos actúan excitando la secreción pancreática parecía demostrado, pero faltaba saber el mecanismo por el cual actuaban sobre la célula pancreática y así hacerla funcionar.

Podía suceder que actuaran excitando por acción refleja los centros nerviosos, previo su contacto con el aparato terminal de los nervios centrípetos de la membrana mucosa.

Podía ser que lo hicieran al ser absorbidos y transportados por la sangre hasta las mismas células glandulares.

La primera hipótesis fué desechada al observar que las soluciones ácidas introducidas en el recto no hacían segregar el páncreas, y que introducidas en el estómago, después de haber obturado el píloro, tampoco tenían acción alguna.

Popelski hizo unos experimentos cuantitativos que demostraron, una vez más, la exactitud de resultados de ambas pruebas.

A un perro se le dividió el estómago en dos partes, por cerca de la región pilórica, colocándole una cánula en cada una de ellas.

Al introducir soluciones ácidas en el segmento cardíaco no se observaba secreción pancreática; en cambio, haciéndolo en la porción pilórica, segregaba dicha glándula intensamente, pero sólo cuando pasaban del estómago al duodeno.

De estas observaciones y experimentos de Popelski se deduce una localización de la zona sensible en el duodeno y se hace sospechable la existencia de un arco reflejo que tenga su punto de partida en ella.

Pero el mismo Popelski demuestra más tarde que, después de cortar a un animal ambos pneumogástricos y los esplánicos a un lado y a otro, de seccionar la médula y de extirparle el plexo solar, la acción de los ácidos sobre el duodeno continúa invariable; y saca la consecuencia de que la secreción pancreática es debida a un reflejo periférico, a base de ganglios separados del páncreas y situados cerca del duodeno.

Estas hipótesis fueron compartidas por Wertheimer y Lepage, los cuales agregaron que este reflejo es menos activo, a medida que desde el duodeno se van considerando tramos sucesivamente inferiores del tubo intestinal hasta llegar a las primeras porciones del ileon.

Bayliss y Starling extirparon todo el mesenterio de un segmento de intestino, respetando únicamente los vasos, y pudieron comprobar que la excitación se producía bajo las mismas condiciones que en el animal antes de



la operación, y, por lo tanto, no había otra vía de conducción de la excitación que la sangre.

Era necesario convenir en que la vía nerviosa no era lo trascendental que se había creído.

Pero Wertheimer y Lepage, inyectando solución clorhídrica en las venas, no consiguieron secreción pancreática, así que, la acción excitante no se podía atribuir más que a la formación de alguna substancia que, transportada por la sangre al páncreas, obrara directamente sobre las células glandulares.

En efecto, Baylis y Starling hicieron un raspado de la mucosa duodenal de un perro; lo trituraron con arena en un mortero, lo acidificaron con una solución de ácido clorhídrico, al 0,4 %, y el extracto, después de neutralizado, se inyectó intravenosamente a un perro con fístula pancreática. Pudo observarse rápidamente una abundantísima excreción de jugo por la extremidad libre de la cánula colocada en el conducto pancreático.

Se tenía que admitir forzosamente que, por la acción del ácido, se había formado una substancia activa sobre el páncreas a la cual se dió el nombre de *secretina*.

Fleig, simultáneamente a Henríquez y Hallion, estableció una circulación cruzada entre dos perros; introdujo ácido clorhídrico al 1 por 100 en el intestino de uno de ellos y pudo observar que, en el otro, el páncreas segregaba intensamente, de lo cual dedujo que la secretina formada en el intestino del primero, al ser absorbida, circulaba por la sangre, y al llegar al páncreas del segundo, lo excitaba y provocaba su secreción.

## II.—LUGAR QUE LE CORRESPONDE A LA SECRETINA ENTRE LOS EXCITANTES GLANDULARES

Resumiendo los trabajos de los innumerables investigadores que se han ocupado del mecanismo por el cual las glándulas entran en funciones, podemos concluir que todas ellas lo hacen, ya por estímulo de las fibras nerviosas que terminan en las células glandulares, ya por medio de substancias químicas.

Pero, en último extremo, el mecanismo puede en ambos casos ser idéntico.

En efecto: No podemos admitir, en lo fisiológico, como excitante químico, ninguna substancia que no sea elaborada por el organismo y capaz de circular por la sangre, y, por lo tanto, una vez elaborada la substancia, puede suceder, o que actúe sobre la célula glandular directamente, o que descargue su acción sobre las fibras nerviosas en su terminación glandular.

Es un hecho conocido, desde hace muchos años, que la pilocarpina es una substancia capaz de provocar una secreción glandular general, incluso de glándulas como las mucosas del aparato respiratorio, y, por lo tanto, debemos inclinarnos a creer que su acción, en este caso, es directa sobre las glándulas, ya que no poseen éstas, terminaciones nerviosas. Por otra parte, otra substancia, de efectos estudiados también, la adrenalina, inyectada a un animal le produce una activa secreción de la glándula submaxilar, y sabemos, por otra parte, que su mecanismo de acción es siempre por estímulo directo sobre las terminaciones simpáticas.



De modo, por lo tanto, que las sustancias químicas pueden excitar las células glandulares, ya directamente, ya por medio de las fibras nerviosas. Langley supone que el sistema celular posee una sustancia, que él llama *receptora*, capaz de recibir la acción de las sustancias químicas.

En el caso concreto del páncreas, las observaciones repetidas sobre la manera de actuar los diferentes excitantes de su actividad, han permitido establecer una diferencia entre la manera de actuar de los que pudiéramos llamar fisiológicos y el que se admite como normal.

La pilocarpina, por ejemplo, inyectada en forma de clorhidrato, a dosis comprendidas entre varios miligramos y 0,01 gr., a un animal de 10 a 15 kilogramos le produce una fuerte secreción de jugo pancreático; pero si se le inyecta antes una solución de sulfato de atropina, a la dosis de medio a un miligramo, la inyección de pilocarpina no produce efecto alguno.

La inyección de peptona de Witte (0,02 a 0,04 gr. por kgs. de animal), muy rica en albumosas, hace segregar también al páncreas, pero tampoco tiene efecto después de la atropina.

En cambio, la secretina de Bayliss y Starling se manifiesta igualmente activa antes y después de la atropina.

### III.—EL CONCEPTO DE SECRECIÓN INTERNA DESPUÉS DEL HALLAZGO DE LA SECRETINA

Es de antiguo conocido que ciertas sustancias venenosas actúan sobre el organismo, aun en ínfimas proporciones.

Es, en cambio, un hecho, de adquisición reciente en Fisiología, que hay también ciertas sustancias químicas que, en pequeñísimas cantidades, son indispensables para el normal funcionamiento del organismo.

Las hay, en efecto, que en estas condiciones actúan sobre el tono vascular y sobre el mecanismo glándulo-secretor, otras que se comportan como fermentos, y, finalmente, otras que vienen a ser algo así como un complemento en la nutrición.

Pero precisamente su exigua cantidad hace, en la mayoría de los casos, imposible, su identificación química y, por esto, son tan escasos nuestros conocimientos actuales sobre su textura.

Son clásicas las experiencias de Raulin sobre la influencia favorable ejercida sobre la vegetación por ligerísimos indicios de cinc y de manganeso.

Bertrand y Javillier han modificado las experiencias de Raulin adaptándolas a cultivos de *aspergillus niger*, comprobando un notabilísimo y beneficioso efecto, y Bayliss las ha confirmado también.

Elissaffoff ha estudiado la influencia del torio en soluciones de un *ión gramo* por mil millones de c. c. de agua.

Estos hechos, y otros que podrían citarse como ejemplo de que pequeñísimas cantidades de sustancias catalíticas son suficientes y, a veces, indispensables, para ejercer una función importantísima, se puede situar frente a frente de la llamada por Nägeli *oligodinámica* ejercida por la presencia de pequeñísimas cantidades de ciertas sustancias de acción marcadamente tóxica.

Al dedicar Bayliss y Starling su atención al estudio de la manera como



era excitado el páncreas, les pareció verosímil que el agente químico que poseía tal propiedad correspondía a algún grupo de sustancias previamente conocido por otros autores. La particularidad característica era tratarse de una sustancia elaborada por un órgano y transportada por la sangre a otro órgano que recibía su acción. Sustancias que, como dicen Bayliss y Starling, son verdaderos mensajeros químicos por los cuales la actividad de un órgano no está coordinada al funcionamiento de otro u otros por mecanismo diferente del nervioso.

Estas sustancias, producidas todas por un trabajo secretor de órganos determinados, se conocían con el nombre común de *secreciones internas*, nombre que no expresa ni remota idea de mensajero, que los fisiólogos ingleses hicieron resaltar en el excitante humoral del páncreas.

Un discípulo de ellos, Hardy, propuso el nombre de *hormona* (*hormon*, yo pongo en movimiento), y aun cuando no expresaba tampoco la propiedad de mensajero, se aceptó el vocablo. Es más: son muchísimas las sustancias excitantes que no son hormonas.

Sin embargo, con el nombre de hormonas se sobreentiende en general la función de mensajero.

Algunos autores discrepan, y así, por ejemplo, Armstrong llama hormonas al cloroformo y al toluol, porque son sustancias que, atravesando la membrana de las células, son capaces de producir cambios de su actividad enzimática.

Gley ha hecho notar que algunas sustancias, como el anhídrido carbónico que actúan de manera parecida a las hormonas, excitando el trabajo de algunos órganos (en este caso concreto, sobre el centro respiratorio), son en realidad productos del metabolismo ordinario de las células y no sustancias, como la secretina, elaboradas expresamente para el cumplimiento de una función. Por esto Gley las llama *parahormonas*, distinguiéndolas también de otro grupo de sustancias que regulan el crecimiento y a las cuales llama *hormozonas* (yo regulo).

Schäfer hace una nueva distinción entre sustancias que excitan (hormonas) y sustancias que deprimen (chalonas), reuniéndolas todas con el nombre común de *autocoid*; pero Bayliss hace notar que hay sustancias, como la adrenalina, que, según cual sea la extremidad terminal del nervio simpático sobre que actúan, pueden producir excitación o depresión, y son, por lo tanto, hormonas o chalonas circunstancialmente.

Noël Paton resume de manera clara el concepto más generalizado que de las secreciones internas se admite por los fisiólogos, diciendo que son sustancias que poseen propiedades semejantes a las de ciertas sales minerales que actúan en mínimas proporciones (sobre el corazón, por ejemplo, tal como demostró Ringer), y cuya presencia es necesaria para el sostenimiento regular del metabolismo aun en estas ínfimas proporciones.

Es indudable, por lo tanto, que el descubrimiento de la secretina, llevado a cabo por Bayliss y Starlings, ha hecho experimentar un cambio a la noción de secreción interna.



#### IV.—PROPIEDADES DE LA SECRETINA

Al emprender nuestros trabajos sobre fisiología pancreática, empezamos por hacer una labor crítica, repitiendo las experiencias llevadas a cabo por la mayoría de los fisiólogos que se han ocupado en estudiar la secretina.

Bayliss y Starling han supuesto y admitido que la secretina es una sustancia que se forma al contactar el ácido clorhídrico gástrico con una sustancia existente siempre en la mucosa duodenal y que ellos llaman *prosecretina*. Este precursor de la secretina ha sido motivo de largas discusiones. Stepp ha demostrado que la secretina puede ponerse de manifiesto simplemente substituyendo en la técnica de Bayliss y Starling la solución hidroclórica por agua destilada, a lo cual se le ha objetado que el extracto, así obtenido, a veces es inactivo, pero que si se hierve entonces, añadiéndole una solución de ácido clorhídrico, pasa a ser altamente secretínico. \*

Con esta nueva demostración, el concepto de *prosecretina* quedó admitido de manera, al parecer, irrefutable.

Bayliss y Starling añadieron que las experiencias de Stepp en los casos positivos tenían su explicación en el hecho, muy probable, de que una cierta cantidad de secretina, formada con anterioridad, por la acción del ácido clorhídrico, se encontrase en la mucosa intestinal por no haber tenido aún tiempo suficiente para ser absorbida y transportada a la sangre.

Por otra parte, para combatir la importancia del ácido clorhídrico, como elemento indispensable para la formación de la secretina, se esgrimieron los resultados de otras experiencias entre las cuales sobresalen la conducta de ciertas sustancias que introducidas en el intestino, manifiestan una clara acción excitante sobre la secreción pancreática. Así es posible, por ejemplo, obtener jugo pancreático introduciendo en el duodeno aceite de mostaza y éter sulfúrico; pero estas sustancias irritantes, que se manifiestan activas por este procedimiento, al ser utilizadas para macerar mucosa intestinal *in vitro* y ser luego inyectadas intravenosamente, no se muestran ya activas.

Fleig ha hecho luz sobre este punto, demostrando, que si la mucosa es macerada en solución jabonosa, la mezcla tiene acción secretoria, porque se forma una sustancia análoga a la secretina y a la cual él llama *sapocrinina*.

Werthimer, repitiendo y completando las observaciones de Claudio Bernard, pudo convencerse de que introduciendo aceite de mostaza en una asa intestinal, y uniendo los vasos de dicha asa al sistema vascular de otro perro, el páncreas de este último segrega intensamente, lo cual se explica, admitiendo las ideas de Bayliss y Starling, suponiendo que se ha formado en el asa intestinal una cantidad de secretina, la cual, al pasar a la sangre, actúa excitando la secreción pancreática; pero la secretina en este caso, aun admitiendo que el aceite haya dado lugar a la formación de cierta cantidad de jabón (el cual, a su vez, puede ser el determinante de la formación de la secretina), y admitiendo la explicación dada por Wertheimer y Starling, no parece, en efecto, estar ligada a la esencial influencia del ácido clorhídrico.

Por otra parte, nosotros hemos podido comprobar que la maceración de mucosa gástrica de diferentes animales, preparada mediante la técnica clá-



sica de Bayliss y Starling, es decir: disecándola, triturándola en el mortero, con arena, macerándola en ácido clorhídrico al 1 por 100, hirviéndola durante un minuto, filtrándola y neutralizando con bicarbonato sódico y luego inyectándola intravenosamente, se muestra tan activa como la maceración de mucosa duodenal.

Repitiendo la prueba, primero con mucosa de la gran curvadura gástrica y luego con mucosa del atrio pilórico, obtuvimos siempre el mismo resultado.

Sólo se manifestó menos activo el extracto cuando no fué sometido a ebullición.

De estos experimentos sacamos la conclusión de que la existencia de la prosecretina no es, ni mucho menos, tan inexpugnable como se supuso en un principio.

Se resistía a una argumentación lógica la idea de suponer que la prosecretina, que, al hallarse frente al ácido clorhídrico se transforma en secretina, pueda permanecer inmovible en un sitio en que constantemente debe sufrir su acción.

Por otra parte, repitiendo los experimentos de Stepp hicimos macerados de mucosa duodenal con agua destilada y con suero de Ringer, y, contrariamente a lo afirmado por él, nunca absolutamente, ni una vez, pudimos notar el fracaso cuando hervíamos la mezcla sin añadir solución ácida. Wertheimer había observado también que ligando los extremos de un segmento de ileon e inyectándole una solución de ácido clorhídrico al 4 por 100, se produce secreción pancreática.

El concepto de prosecretina, debía, a nuestro juicio, desestimarse doblemente.

Nuestras experiencias fueron llevadas a cabo en perros con fístula pancreática temporal y a los cuales se pinzó fuertemente la salida pilórica, para evitar que el ácido del jugo gástrico pasase al duodeno.

De todos modos, la secretina es una substancia, en sentido de Popielski, que actúa en virtud de un elemento vasodilatador, y apoya su afirmación en el hecho de que la inyección de macerado de duodeno, preparado según la técnica de Bayliss y Starling, va seguida de un descenso brutal de la presión sanguínea.

Sin embargo, ambos fisiólogos ingleses combaten esta conclusión, diciendo, que este descenso de presión puede evitarse fácilmente tratando el macerado por el alcohol absoluto antes de hervirlo con la solución ácida. Esta observación fué confirmada poco después por Launoy y Oeschlin aplicando el método gráfico, con el cual registraban simultáneamente la presión, el tiempo y la caída de las gotas de jugo pancreático que manaban de la cánula colocada en el conducto de Wirsung.

La substancia activa del macerado es soluble en alcohol de 90°, pero insoluble en el alcohol absoluto. Por esto, si a una maceración de mucosa duodenal en ácido clorhídrico, se le añade una cantidad respetable de alcohol absoluto, se obtiene un precipitado, y repitiendo la operación unas cuantas veces, se llega a obtener un polvo blanquecino sumamente activo, soluble en agua e insoluble en alcohol absoluto. A este polvo se le llama *secre-*



*tina pura* y Launoy y Oeschlin, operando con él, han demostrado, de la manera indicada, que no posee acción depresora.

Sin embargo, la evaporación de la solución alcohólica, deja un sedimento amarillo, que pulverizado, disuelto en líquido de Ringer e inyectado intravenosamente al perro, se manifiesta activo como la *secretina pura*, pero produciendo un descenso en la presión sanguínea parecido al que sigue a la inyección del macerado duodenal sencillo.

Dalmau ha obtenido también otra *secretina* en polvo valiéndose de la acetona. Tratando 100 gramos de raspadura de mucosa duodenal, con 200 centímetros cúbicos de solución acuosa de ácido clorhídrico al 1 por 100, e hirviendo la mezcla después de haberla agitado durante un tiempo, deja sedimentarla y separa por decantación, en una probeta de un litro de capacidad, unos 100 c. c. de la parte líquida, completando luego con acetona la solución madre hasta los 1.000 c. c. el recipiente. Agitando la nueva mezcla y dejándola sedimentar se observa un nuevo precipitado. Filtra lentamente y deja secar sobre el papel de filtro el precipitado retenido, y a los dos días lo pulveriza en un mortero. La solución de este polvo de suero de Ringer no es completa, pero el líquido que sobrenada es sumamente activo sobre el páncreas al ser inyectado intravenosamente y es escasamente tóxico.

La parte acetónica, una vez evaporado el líquido disolvente, y separadas la lecitina, las grasas y la colesantina que contiene, es también fuertemente *secretínica*.

Nosotros hemos examinado las propiedades vasomodificadoras de la *secretina* obtenida por Dalmau, empleando la técnica de Launoy y Oeschlin, y hemos podido comprobar que el polvo recogido por el primer filtrado, es fuertemente *secretínico* sin ser vasomodificador.

Por otra parte, la porción sólida que se recoge al evaporar la acetona se comporta de igual manera.

Dale y Laidlaw han preparado soluciones de *secretina* muy activas, valiéndose de la propiedad que posee el cloruro mercurico de precipitar la *secretina* en forma de compuestos mercuriales, solubles en soluciones ácidas diluidas, e insolubles en las neutras o ligeramente alcalinas.

De esta manera obtienen un líquido tan activo, que, a la dosis de 1 centímetro cúbico en inyección intravenosa, es capaz de hacer segregar al páncreas 8,5 c. c. de jugo activo.

Stapp empleando el éter ha obtenido otra *secretina* como ésta.

Parece que todos estos autores están de acuerdo en admitir que todas sus diferentes *secretinas* son una misma substancia, pero quizás sería conveniente hacer una sistemática aplicación de estos métodos de obtención de substancia activa en polvo, a los diferentes tramos del tubo digestivo.

De esta manera se pondría en claro, sin duda, cuál sea la exacta topografía de la *secretina*.

En una comunicación a la Sociedad de Biología de Barcelona, dimos cuenta de nuestros trabajos sobre este asunto, por los que dejábamos establecido que no es patrimonio exclusivo de la mucosa duodenal la formación de *secretina*.

La preparación de extractos de mucosa gástrica (cardíaca y pilórica)



duodenal, yeyunal, ileal y rectal nos demostró que la propiedad de excitar el páncreas se encuentra repartida de una manera más extensa de lo que se creyó en un principio.

Bayliss y Starling han demostrado también, que la secretina duodenal de una especie animal cualquiera, se manifiesta activa sobre el trabajo secretor del páncreas de animal de especie distinta.

Nosotros hemos comprobado esta observación inyectando al perro macerados de mucosa de conejo y hemos podido demostrar también que la maceración de mucosa del cuarto estómago de oveja, produce efectos intensamente secretínicos sobre el páncreas del perro, al inyectarla intravenosamente a este animal.

Lalou, fijándose en el hecho observado por Bayliss y Starling de que las soluciones de secretina introducidas en el intestino no excitan la secreción pancreática, llamó la atención sobre el hecho de que diferentes agentes (saccharosa, urea, etc.), que producen secretina *in vitro*, al ponerlos en contacto de mucosa duodenal, tampoco ejercen acción sobre el animal vivo.

Ante esta observación, Bayliss afirma que hoy por hoy no se ha demostrado todavía que los agentes que destruyen las células *in vitro* sean los mismos que producen *in vivo* la secretina, máxime cuando los agentes normales (ácido clorhídrico, por ejemplo), al producir la secretina, lo hacen, no sólo sin alterar la mucosa, sino dejándola en óptimas condiciones, para que la absorción de la secretina y su paso a la sangre sea cosa fácilmente realizable, lo que ninguno de los agentes *vulnerantes* indicados es capaz de hacer.

Gley había demostrado que las albumosas, inyectadas intravenosamente, producían una secreción pluri-glandular, propiedad que luego se ha observado que es común a muchas sustancias.

La secretina tiene una acción más específica. No obstante, es un hecho, que ha sido observado por varios autores, que la inyección de secretina va seguida siempre de una mayor excreción biliar. Nosotros hemos podido comprobarlo también, y, para indagar si existía una posible influencia entre la presencia de la bilis en el conducto duodenal y la formación de la secretina, llevamos a cabo una serie de experimentos sobre el perro, para evitar que la bilis fuese a parar al intestino y así poder estudiar los efectos que esta ausencia pudiese acarrear.

La técnica seguida consistió en ligar el colédoco y colocar una sonda de cristal en la vejiga biliar, sonda que se continuaba con un tubo de caucho cuyo extremo libre salía fuera del abdomen.

Al perro así preparado se le daban a beber grandes cantidades de agua alcalinizada y, para alimentarle, leche y cocimientos vegetales.

A los cinco días, el animal, así preparado, era sacrificado y con su mucosa intestinal se obtenía la secretina, según la técnica clásica de Bayliss y Starling.

La inyección intravenosa nos dió siempre como resultado una abundantísima secreción de jugo pancreático.

La bilis, por lo tanto, no parece tener efecto alguno sobre la formación de la secretina.

Dalman probó también de estudiar el papel del hígado sobre la secreti-



na, estableciendo una circulación intra-hepática o extra-hepática, a voluntad. Anastomosaba en el gato una vena mesentérica con la cava. Pinzando, ya la porta, ya la cava, la sangre procedente del intestino pasará por fuera o por dentro del hígado. Claro está que para ello será también necesario ligar previamente la arteria hepática. La dificultad técnica de la operación de anastomosar las venas se solventa fácilmente empleando una pequeña cánula metálica, que se coloca por fuera de una de ellas, procediendo de la siguiente manera: 1.º Se hace pasar una de las venas por dentro de la canulita; 2.º Se ranversa la parte de dicha vena que sobrepasa el borde de la cánula, a la manera del calcetín que cae sobre la bota; 3.º Se enchufa ahora directamente la extremidad de la otra vena, haciéndola deslizarse por encima de la vena invaginada; y 4.º Se liga con seda por encima de la cánula. De esta manera consigue Dalman que en la nueva circulación no sea posible la coagulación de la sangre porque ésta está siempre en contacto con el endotelio vascular.

Pues bien: planteada la cuestión de si el hígado podía influir sobre la acción secretinica procedente del intestino y utilizando este dispositivo, no llegó tampoco a resultados afirmativos.

Evans ha demostrado, en cambio, una relación muy íntima entre el páncreas y la formación de la secretina duodenal. De sus interesantes experimentos se deduce: que la extirpación total del páncreas va seguida de una desaparición absoluta de secretina duodenal, de tal manera, que el extracto de mucosa de un animal pancreotomizado se manifiesta completamente inactivo al inyectarlo a otro.

Solo en los casos en que la pancreotomía no ha sido completa y queda solo una porción de glándula suficiente para impedir la glucosuria, es posible encontrar secretina en la mucosa del duodeno.

\*\*\*

Se creyó en un principio que la secretina fuese un fermento, pero se pudo comprobar que es una substancia termo-estable que se manifiesta igualmente activa antes y después de la ebullición. En vista de esto, y atendiendo a sus demás cualidades, se la incluyó en el grupo de las hormonas.

Muy poco es lo que sabemos respecto a su composición química.

La secretina es una substancia que en medio ácido se conserva indefinidamente. Nosotros hemos conseguido guardarla así tres meses y no nos ha sido posible apreciar disminución alguna en su poder al cabo de este tiempo.

Obtenida en polvo se conserva también indefinidamente.

En cambio, una vez neutralizada, se oxida con gran facilidad y pierde, por lo tanto, su actividad.

Con el fin de poner en claro la naturaleza química de la secretina, Lalou ha estudiado los efectos que sobre ella producen diferentes substancias, y así ha podido comprobar que el jugo gástrico y el jugo pancreático tienen una acción altamente destructora sobre ella.

Iguals efectos ha observado con soluciones neutras de erepsina y con la papaina. La bilis también la ataca.



Hustín encontró que la mezcla de secretina con macerado de páncreas y líquido de Locke es completamente inactiva; pero substituyendo el macerado de páncreas por sangre, la mezcla se manifiesta tan activa como la secretina sola.

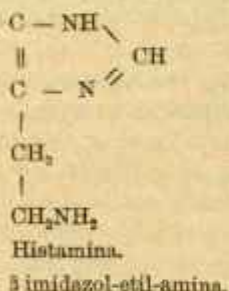
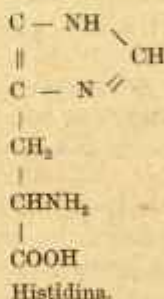
Delezenne y Pozerski demostraron también que los extractos de muchos tejidos que contienen erepsina poseen un gran poder destructor de la secretina, y como sea que la mucosa intestinal posee también erepsina, debe tenerse presente esta propiedad cuando se trate de preparar secretina.

En los animales muertos desde un número de horas antes de extraerles el duodeno para preparar secretina, la mucosa intestinal presenta dicha substancia notablemente disminuída.

La inyección de secretina no determina la formación de anti-cuerpos y por lo tanto, no se comporta como un antígeno en la sangre, cualidad que nos hace afianzar más en la idea de que se trate de una hormona.

La estructura química de la secretina, en sentir de Bayliss, no parece ser muy compleja, porque es una substancia que pasa fácilmente a través del papel pergamino.

Dale y Laidlaw afirman que el extracto de la mucosa duodenal contiene  $\beta$  imidazol-etil-amina, substancia derivada de la histidina, por separación de un  $\text{CO}_2$ , de la siguiente manera:



La acción vaso-dilatadora de los macerados de mucosa duodenal sería debida a la presencia de dicha substancia.

Lo que parece suficientemente probado es que la vasodilatación y la secretina son cosas completamente distintas, porque puede obtenerse secretina sin acción vaso-modificadora, tal como hemos ya explicado anteriormente.

Mathews cree que la secretina es probablemente una substancia derivada de algún ácido amínico con pérdida de  $\text{CO}_2$ .

También Schwartz y von Fürth han supuesto que la acción excitante de la secretina fuese debida a que va acompañada siempre de cierta cantidad de colina, ya que esta substancia tiene una marcada acción sobre la secreción pancreática, pero su actividad es negativa si se inyecta previamente al animal sulfato de atropina.



## V.—LA SECRETINA COMO AGENTE DE RELACIÓN FUNCIONAL INTERORGÁNICA

En un libro recién publicado expone magistralmente Pi Suñer el concepto de unidad funcional que preside la actividad fisiológica de los organismos vivos. Unidad funcional que se establece, en último término, como resultado de la mutua influencia de los dinamismos más elementales.

Parece una paradoja, pero es en realidad una verdad irrefutable, el que cada hecho que demuestra una nueva especificidad funcional, en vez de ser un argumento más en pro del concepto de independencia mutua de las diversas funciones que, sumadas, integran el mecanismo conjunto del todo orgánico, contribuye como un dato más a establecer el concepto de trabazón de dicho funcionalismo.

Sin caer en el anatomicismo puro, podemos admitir con Milne Edwards que la diferenciación morfológica implica la especialización funcional. Esta ley se repite fatalmente como respuesta a una necesidad sentida y que hay que satisfacer.

En los organismos unicelulares, las acciones químicas y químico-físicas explican por sí solas, la fijeza de su morfología y de sus funciones. La complejidad funcional está reducida a un minimum.

Las actividades internas se producen en estos seres como resultado de una necesidad, o hambre—por usar la palabra de Turró—, que hay que reparar.

Las excitaciones son hijas exclusivamente de esta carencia que trastorna el equilibrio atómico. La excitabilidad es una propiedad común y necesaria a toda materia viva. La vida es en último término la resultante de una sucesiva producción de excitaciones.

En los organismos monocelulares las excitaciones químicas y químico-físicas más sencillas bastan para mantener su actividad fisiológica.

En los organismos pluricelulares, la diferenciación orgánica y funcional, lleva aparejada una mayor complicación en el mecanismo ligador; pero, en el fondo, el proceso de su unidad es exactamente el mismo.

Con Pawlow, al frente de la Escuela de Petrogrado, el concepto de unidad funcional ha dado un gran paso. Según Pawlow y sus discípulos, los productos de secreción de las diversas glándulas digestivas—salivares, gástricas, pancreáticas, etc.—, que se producen después de ingerir los alimentos, no son siempre iguales, ni en cantidad ni en composición química, sino que varían a compás de dichos alimentos.

Por otra parte, afirman también que los productos de secreción de una glándula sirven de estímulo secretor para la que topográficamente le sigue en el tubo digestivo. Así, por ejemplo, la saliva, al llegar al estómago, provoca la secreción de sus glándulas particulares; el jugo gástrico, a su vez, al pasar al duodeno, en virtud de su acidez, provoca la secreción pancreática y aumenta la excreción biliar.

El descubrimiento de la secretina no derribó completamente la idea de que la transmisión de la excitación del páncreas se hace por vía nerviosa.

Pawlow, con la doctrina de las adaptaciones enzimáticas, plantea de nue-



vo la cuestión. Los argumentos que da no tienen todavía la sanción experimental suficiente y por esto debe considerarse la doctrina como hipótesis de trabajo. Verdad es que hay muchos datos en su favor, pero no lo es menos que hay también muchos puntos que aclarar y bastantes hechos por afianzar.

Pawlow dice que a cada alimento corresponde una secreción especial de jugo pancreático en la que existen cantidades convenientes de fermentos digestivos, y para explicar el mecanismo por el que se regulan estas cantidades, da como cierta la existencia en la mucosa duodenal, de numerosas terminaciones nerviosas centrípetas cuya excitación está específicamente limitada a una substancia fija.

A cada excitación específica corresponderá una secreción determinada en la que existirán cantidades fijas de enzimas.

La doctrina de Pawlow se confirmó con las observaciones de Wassiliew y Jabloski que consistieron en demostrar que manteniendo un número de semanas a régimen alimenticio fijo a un perro fistulizado, su secreción pancreática mostraba un aumento del poder triptico, si la dieta era de carne; del poder lipolítico, si de grasas; del amilolítico, si de feculentos. Walter confirmó después estos resultados y Cohnheim ha encontrado lactasa en el jugo pancreático de perros en lactación y en perros adultos, a los que les daba a comer, durante varias semanas, azúcar de leche.

En el Instituto de Fisiología de Roma, unos cuantos discípulos de Luciani han negado la doctrina de las adaptaciones enzimáticas de la escuela rusa. Lombroso, después de una serie de trabajos, afirma que sea cual sea la alimentación a que se someta un animal, la secreción pancreática no ofrece diferencias notables, en su contenido de tripsina. Bompiani llega a la misma conclusión respecto a la lipasa, y Rinaldi respecto a la amilasa.

De confirmarse las ideas de la escuela italiana, no cabe la menor duda que la secretina duodenal se basta y sobra para excitar el páncreas, y la doctrina humoral queda con ello absolutamente victoriosa.

Pero, de no ser así, hay que aceptar que la secretina es el agente de excitación global del páncreas y nos es necesario, como complemento, admitir que, o las terminaciones nerviosas de Pawlow, u otro mecanismo equivalente, han de encargarse de la regulación de los diferentes fermentos que contiene el jugo pancreático.

#### CONCLUSIONES

I. La secreción externa del páncreas responde a un estímulo, de naturaleza química, que parte del intestino.

II. El excitante químico de la secreción pancreática actúa sobre la glándula acarreado por la sangre.

III. Este excitante químico (*secretina* de Bayliss) se forma sin la menor participación del hígado.

IV. La *secretina* procede principalmente del duodeno, pero también puede demostrarse que otras porciones del tubo digestivo son capaces de elaborarla.



V. No parece suficientemente probado que la *prosecretina* de Bayliss y Starling sea la forma de latencia de la secretina.

VI. El descubrimiento de la *secretina* ha hecho experimentar un cambio notable al clásico concepto de *secreción interna*.

VII. La *secretina* es la hormona por excelencia.

VIII. Por los datos que poseemos hasta hoy, podemos sospechar únicamente que la secretina sea un ácido amínico.

#### BIBLIOGRAFIA

- ARDERHALDEN, E.—*Biochemisches Handlexikon*.—Vol. 5, p. 508.
- ARMONSTRONG, E.—The Function of Hormones in stimulating Enzyme Change in relation to narcosis, etc.—*Proceedings of the Royal Society*.—London 82, B. 588-602.
- ARMONSTRONG, E. AND FRANKLAND.—The mechanism of Hormones in Regulating Metabolism.—*Ann. of Botan.*, 25, 507-519.
- BAYLISS AND STARLING.—The mechanism of Pancreatic Secretion.—*Journal of Physiol.* 1902, 28, 325-353.
- BAYLISS, W. M.—*The Nature of Enzymatic Action*, 1914.
- BAYLISS, W. M.—*Principles of General Physiology*.—Longmans.
- BAYLISS AND STARLING.—The Chemical Regulation of the secretory process.—*Croonian Lecture, Proc. R. S.*—73, 300-322.
- BAYLISS, W. M. UND STARLING.—Chemische Reflexe im Verdauungssystem.—*Ergebnisse der Physiologie*. 1906, 5-664.
- BECKER, N. M.—1893.—De l'influence des solutions de bicarbonate de soude, de sel marin, d'acide carbonique, et de quelques eaux alcalines, sur la sécrétion du suc pancréatique.—*Archives des Sciences biologiques*, II, 433.
- BERTRAND, G.—1912.—Sur le rôle capital du manganèse dans la production des conidies de *l'aspergillus niger*.—*Bull. Soc. Chim. France*, II, 495-499.
- BERNARD, L. & LANDOUZY.—*Éléments d'Anatomie et Physiologie Médicales*.—Paris, 1913, página 40.
- BILISA.—1911.—*Pflügers Archiv. für gesamte Physiologie*, 531.
- BOMPIANI, R.—Sur la lipase de la sécrétion pancréatique apres diverses alimentations.—*Archives Italiennes de Biologie*. Pise, 1912, Tom. LVII, Fasc. III.
- BROWN-SEQUARD.—1881.—Additions a une note sur l'ingestion des extraits liquides de diverses organes, comme méthode thérapeutique.—*Com. Rend. Société de Biol. de Paris*, 43, 265-268.
- CAMUS, L. ET GLEY, E.—1907.—Recherches sur la sécrétion pancréatique.—*Journal de Physiol. et Pathol. g.*, IX, p. 987.
- CAMUS, L.—1902.—*Jour. de Physiol. et Pathol. geral*.—Paris, p. 998.
- CERVERA, L.—1916.—Nota sobre la naturaleza de la secretina.—*Treballs de la Societat de Biologia de Barcelona*.—Vol. IV.
- CERVERA, L.—1917.—Contribución al estudio de la secreción pancreática.—*Rev. de Higiene y Sanid. Veter.*—Madrid, Vol. VI, núm. 11.
- CERVERA, L.—1918.—Acció dels extrems duodenals acetònics sobre la pressió arterial i sobre del pàncreas.—*Treb. d. l. Soc. d. Biol.*—Barcelona.
- CERVERA, L.—1918.—Paper de la bilis en la formació de la secretina duodenal. —*Treb. de la Soc. de Biol.*—Barcelona.



- COHNHEIM, O.—*Die Physiologie der Verdauung und Aufsaugung*.—Capítulo del libro de Nagel.
- D'ARSONVAL ET BROWN-SEQUARD.—1891.—Véase: BROWN-SEQUARD.
- DALE AND LAIDLAW.—1910.—The Physiological Action of  $\beta$  iminazoly-ethylamina.—*Journal Physiol.*, 41, 318-344.
- DALE AND LAIDLAW.—1912.—A Method of Preparing Secretin.—*Pro. Physiol. Soc. en Journ. Physiol.*, 44, XI-XII.
- DALMAU, M.—1917.—Mètode per a obtenir comodament secretina en pols.—*Treb. Soc. de Biol.*—Barcelona, Vol. V.
- DALMAU, M.—1917.—Nota sobre la manera d'actuar la secretina.—*T. Soc. de Biol.*—Barcelona.
- DALMAU, M.—1917.—Mètode per a explorar les funcions hepàtiques amb relació al pàncreas.—*T. de la Soc. de Biol.*—Barcelona.
- DOLINSKI, J.—1894.—L'acide comme stimulant de la sécrétion pancréatique.—*Arch. d. Sc. Biol.*, III, 339.
- ELISSAFOFF.—1912.—Ueber die Beeinflussung der Electroendosmose der Elektrolyte.—*Zs. Physik. Chem.*, 79, 385-420.
- FLEIG, C.—1903.—Sécrétine et acide dans la sécrétion pancréatique.—*C. R. Soc. de Biol.*, Paris 55, 293-296.
- GLEY ET CAMUS.—1907.—Recherches sur la sécrétion pancréatique.—*Journ. Physiol. et Pathol. géral.*—Paris, Vol. IX, p. 987.
- GLEY, E.—1912.—Sur les excitants de la sécrétion pancréatique. Classification rationnelle de ces substances.—*Jour. Physiol. et Pathol. géral.*—Paris, 40, 509-520.
- GLEY, E.—1914.—*Les sécrétions internes*.—Paris.
- GRAAF, R. DE.—1677.—*Opera Omnia*.—Amsterdam, 1705.
- HENRIQUEZ ET HALLION.—1903.—Réflexe acide de Pawlow et sécrétine. Mécanisme humoral commun.—*C. R. Soc. de Biol.*—Paris, 55, 233-234.
- LANGLEY, J. N.—1903.—On Nerve Endings and on Special Excitable Substances in cells.—*Proc. R. S.*, 78, B. 170-194.
- LANDOUZY, L. ET BERNARD, L.—1913.—*Eléments d'Anatomie et Physiologie Médicales*.—Paris.
- LAIDLAW.—Véase: DALE.
- LALOU, S.—1912.—Procédés d'extraction de la sécrétine et mécanisme humoral de la sécrétion pancréatique.—*Jour. Physiol. et Pathol. géral.*, 40, 241-252.
- LALOU, S.—1912.—Recherches sur quelques agents destructeurs de la sécrétine.—*Journal Phys. Pathol. g.*, 40, 465-475.
- LAUNOY, L. ET ORCHSLIN, K.—1913.—À propos de la sécrétine (Bayliss-Starling) et de la vaso-dilatine (Popielski).—*C. R. Soc. de Biol.*—Paris, 156, 962-964.
- LEPAGE.—1902.—Véase: WEIRHEIMER.
- LE PLAY, A.—1912.—*Technique opératoire physiologique*.—Masson, Paris.
- MATHEWS, A. P.—1910.—*Physiological Chemistry*.—London, p. 391.
- NAGEL, W.—1907.—*Handbuch der Physiologie des Menschen*.—Band, II, 571.
- NEGRIN, J.—1917.—Sobre la substancia receptora de las terminaciones nerviosas.—*Soc. de Biol.*—Barcelona, vol. V.
- NOËL PATON.—1913.—*The Nervous and Chemical Regulators of Metabolism*.—London.—Macmillan.



- OECHSLIX, K.—Véase: LAUNOY.
- PAWLOW, I. P.—1910.—*The Work of the Digestive Glands*.—Segunda edición inglesa. Londres.
- PI SUÑER, A.—1915.—Sobre el mecanismo de las correlaciones interfuncionales. De lo humoral a lo nervioso.—*Congreso de Valladolid*.
- PI SUÑER, A.—1917.—*La unidad funcional*.—Barcelona. Minerva.
- POPELSKI, L.—1899.—Ueber die Sekretionshemmenden Nerven der Bauchspeicheldrüse.—*Zentralblatt f. Physiol.*
- SIMON, L. G.—1907.—*Journ. de Physiol. et Pathol. géral.*, p. 78.
- SCHAFER, E. A.—1916.—*The Endocrine Organs*.—London Longmans.
- STARLING, E. H.—1911.—*The Physiology of Digestion*.—Segunda edición inglesa, London, página 80.
- STARLING, E. H.—1915.—*Principles of Human Physiology*.—Segunda edición, London, Churchill.
- STARLING, E. H.—Colaboración Bayliss.
- STIEPP, W.—1912.—On the Preparation of Secretin.—*Journal Physiol.*, 43, 441-448.
- TERRÓ, R.—1912.—*Orígens del coneixement. La fam.*—Barcelona, Societat Catalana d'Edicions.
- VERNON, H. M.—1908.—*Intra-cellular Enzymes*.—London.
- WERTHEIMER.—1899.—*C. R. Soc. de Biol.*—París.
- WERTHEIMER.—1902.—*C. R. Soc. de Biol.*—París, 472-474.
- WERTHEIMER ET LEPAGE.—1902.—*Journ. de Physiol. et Pathol. g.*, 1, 080.
- ZUNTZ, N. X. E LOEWY, A.—1914.—*Fisiologia dell'uomo*.—Torino.

## Trabajos traducidos

### RABIA Y TÉTANOS

Gracias a un número muy grande de trabajos, entre los cuales—nada más justo que reconocerlo así—figuran, en primer lugar, con las memorias de Roux, de Vaillard, Vincent y Rouget, de A. Marie, de Courmont y Doyon, etc., las investigaciones de la escuela francesa, el tétanos es actualmente un tipo acabado de enfermedad infecciosa. No cabe duda de que hoy es una de las afecciones mejor conocidas. No ocurre lo mismo con la rabia. Aunque se admite generalmente que es causada por un organismo ultramicroscópico, por un *virus filtrante*—o quizás a causa de esto mismo—, espesas nubes oscurecen aún muchos puntos de su historia. Acaso no carezca de interés hacer resaltar las grandes analogías clínicas y, sobre todo, experimentales, que existen entre estas dos afecciones. El estudio de la rabia parece susceptible de beneficiarse algo con el establecimiento de este paralelo.

Grandes parentescos sintomáticos existen entre la rabia y el tétanos. Nos bastará con poner algunos de manifiesto. Bajo su forma más común, las dos enfermedades están caracterizadas por una contractura dolorosa de ciertos músculos—la contracción de la faringe hace difícil o imposible la deglución—y por espasmos convulsivos que exageran esta contractura y la elevan a su máximo. Los espasmos paroxísticos pueden sobrevenir espontáneamente, pero de ordinario son provocados y basta la más ligera excitación para que se produzcan. Así se ve, lo mismo en la rabia que en el tétanos, que el simple roz-



miento de la piel, la insuflación en un punto de los tegumentos, un grito agudo, un esfuerzo del enfermo, la acción de hablar o de engullir, la vista o sólo el recuerdo de un líquido, pueden convertirse en causa de una intensificación convulsiva. Añadamos que en una y otra afección la inteligencia permanece intacta y que los trastornos de la calorificación, de la circulación y de la respiración son casi idénticos.

El tétanos espánico—que sucede habitualmente, como se sabe, a una inoculación visceral—simula inequívocamente la rabia furiosa aguda. Mientras que el trismus y la rigidez de la nuca se marcan poco y no se generalizan las contracturas, se traduce (1) por una contractura de los músculos de la deglución y de la respiración que provoca una disfagia y una hidrofobia intensas, crisis de sofocación por espasmo de los músculos de la glotis y de los otros músculos respiratorios, y una disnea y fenómenos asfíxicos muy rápidamente amenazadores. Como en la rabia, el pronóstico es fatal y sobreviene la muerte en veinticuatro-cuarenta y ocho horas.

Mucho mayor aún es la semejanza entre la rabia furiosa y las formas disfágica, pura e hidrofóbica del tétanos, en las cuales el síntoma dominante es el espasmo faríngeo. No solamente los enfermos no pueden deglutir ningún alimento, y la menor absorción de líquido determina en ellos espasmos dolorosos de la faringe, sino que basta también la vista del líquido o la pronunciación de una frase delante del enfermo, de una palabra, referente a la ingestión de una bebida cualquiera (2), para que se provoquen crisis de disfagia y trastornos respiratorios verdaderamente alarmantes e idénticos a los de la rabia. Únicamente los conmemorativos permiten el diagnóstico.

Además, el tétanos y la rabia pueden presentarse bajo una forma espasmódica—la más frecuente—y bajo una forma paralítica, más excepcional, pero, sin embargo, clásica, pudiendo empezar las dos afecciones por los músculos de la región herida o mordida. Las investigaciones de Vaillard y Vincent han demostrado que, en el tétanos, las parálisis se deben a una mayor virulencia de la toxina o a una acción más prolongada del veneno. Por otra parte, en clínica, los tétanos cefálicos con parálisis facial u oftalmoplegia (3) son los más frecuentes de los tétanos graves. Nosotros insistimos también, desde hace mucho tiempo, sobre que, lo mismo en el hombre que en los animales mordedores, la rabia paralítica no es en modo alguno una rabia de virus debilitado, sino, por el contrario, de virus reforzado.

No parece que los parentescos etiológicos entre la rabia y el tétanos sean inferiores a sus parentescos sintomáticos. Quizás hubiera algún artificio en aducir las numerosas observaciones de tétanos consecutivo a mordeduras de caballo, de perro (4) y hasta de tigre (5).... Pero si debemos notar que las dos afecciones son consecutivas a heridas y que las mordeduras casi constantemente encontradas en el origen de la rabia parecen constituir el tipo de estas «heridas anfractuosas, de focos contusos, magullados e infiltrados de sangre» (Vaillard), que transmiten con predilección el tétanos. Se ha visto el tétanos suceder a una picadura de abeja o de espina de rosal. De igual modo se conocen en clínica huma-

(1) COURTOIS-SUPPIT Y GIROUX.—*Les formes anormales du tétanos*, Paris, 1916, p. 4.

(2) COURTOIS-SUPPIT Y GIROUX.—*Loc. cit.*, p. 7.

(3) COURTOIS-SUPPIT Y GIROUX.—*Loc. cit.*, p. 25.

(4) Véase, sobre este asunto, la opinión de León Labbé: *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 1908, págs. 768-773.

(5) BERGEON.—Tétanos consecutivo a una mordedura de tigre en el perro.—*Revue vétérinaire*, Enero de 1909.



na o veterinaria los peligros de mordeduras en apariencia insignificantes o de lametadas sobre desolladuras mínimas.

En ambos casos juegan las asociaciones microbianas el mismo papel favorecedor. Sabido es que, mientras que los animales sucumben al tétanos cuando se les inocula una partícula de tierra en la que el número de gérmenes está reducido a algunas unidades, los esporos tetánicos introducidos solos y en gran cantidad en un tejido sano no provocan la enfermedad; es preciso, para que ésta se declare, la adición de circunstancias favorables, encontrándose en primer lugar las asociaciones microbianas. De igual manera, mientras que mordeduras insignificantes pueden producir la rabia, se ve que la inoculación al animal de dosis enormes de sustancia nerviosa virulenta no va seguida de ningún efecto. La falta de correlación es tan grande que hasta se ha preguntado si el virus rábico no existiría en la saliva en un estado diferente—estado especialmente agresivo—del en que se encuentra en el sistema nervioso. Esta ausencia de paralelismo se explica más fácilmente, en nuestra opinión, por la presencia en la saliva de especies microbianas favorecedoras. Del mismo modo que el bacilo tetánico en los medios exteriores, el virus rábico en la saliva del animal mordedor está fatalmente mezclado con microbios diversos y cuando llega a una herida lo hace a la par con otras bacterias. Nosotros hemos visto que la inoculación, bajo la piel o en la piel excoriada del cobaya, de virus rábico emulsionado en la saliva de hombre o de perro produce la rabia a dosis mucho menores que las emulsiones habituales en el agua esterilizada. ¿Obran los microbios de la saliva (la saliva pasada por el autoclave se comporta como el agua ordinaria) absorbiendo en su beneficio la actividad fagocitaria o el poder bactericida de los humores? ¿Favorecen la absorción del virus por su acción sobre los tejidos? En todos los casos, parecen ayudar potentemente a la infección rábica.

El frío y el calor excesivos favorecen a la vez la manifestación de las dos enfermedades. Para el tétanos, la cosa es clásica. Por lo que se refiere a la rabia, sabido es que Nocard explicaba por la mayor frecuencia del enfriamiento la frecuencia relativa de los fracasos del tratamiento pasteuriano en los ajuaneros. Además, cierto número de hechos experimentales, y especialmente los de Kraïouchkine (1), muestran muy claramente que, si se somete a la acción del frío a perros inoculados con virus rábico, contraen la enfermedad más fácilmente que los testigos. De igual manera que en las experiencias clásicas de Vincent en el tétanos, nosotros hemos visto, a los cobayas inoculados bajo la piel o en los músculos con virus rábico, morir en mayor número y más pronto que los testigos, si se les ponía media hora por día en la estufa seca a 50-51° de manera que su temperatura central se elevase a 43°.

Añadamos que el tétanos y la rabia no se declaran hasta después de un periodo de incubación susceptible de variar en límites bastante extensos. La duración de éste hace que a veces estalle la enfermedad cuando ha desaparecido la traza y hasta el mismo recuerdo del traumatismo inicial. De aquí la creencia en la rabia y en el tétanos espontáneos. El tétanos espontáneo se ha atribuido al despertar de los gérmenes introducidos en el organismo por una herida cicatrizada. Este despertar se operaría en la misma cicatrización. Nosotros creemos que los casos de rabia de incubación insólita se deben al despertar del virus que ha permanecido latente en el sistema nervioso central y no en la herida de inoculación. La diferencia, por otra parte, es de mínima importancia.



(1) KRAÏOUCHKINE.—Sobre el efecto de las inyecciones subcutáneas de virus fijo de la rabia.—*Archives des sciences biologiques de St. Pétersbourg*, 1897.



Si queremos comparar el agente causal del tétanos y el de la rabia, nos encontramos con una gran dificultad en el hecho de que el bacilo tetánico y la toxina que forma están perfectamente aislados y conocidos, mientras que el microbio rábico y su toxina eventual han escapado hasta ahora a todas las investigaciones. Está uno, por lo tanto, obligado a poner en parangón un microbio bien definido y el *virus rábico*, es decir, un producto complejo, mezcla probable de células, de microbios y de toxina. Hechas estas reservas, existen entre el virus rábico y el microbio o la toxina tetánica analogías singularmente estrechas.

1.° El bacilo tetánico es un bacilo móvil y anaerobio. Parece que el germen rábico sea también móvil, puesto que atraviesa las bujías y se propaga a través de los nervios. Quizás es también anaerobio, puesto que, aun no pudiendo hacerse de ello una condición necesaria, el virus parece conservarse mejor al abrigo del aire que en contacto con él, y que al abrigo del oxígeno—y al abrigo del oxígeno solamente (Bujwid, Nitsch) (1)—, es susceptible de pasar de un cerebro rábico a un cerebro sano. Sin embargo, haremos observar que nosotros hemos realizado este pasaje en contacto con el aire y que, de la experiencia de Bujwid, se puede inferir, por el contrario, que el virus rábico es aerobio, puesto que se dirige hacia los puntos en que existe oxígeno.

2.° La toxina tetánica es muy sensible al calor. Se la hace inofensiva a 65°; muere a 80-85°. Una vez desecada (precipitada por el sulfato de amoníaco) soporta temperaturas muy superiores. 135° durante veinte minutos no la alteran; hacen falta 154° durante quince minutos para atenuarla ligeramente y 159° para atenuarla seriamente sin llegarla a destruir. El calentamiento del virus rábico a 47-48° durante diez minutos (Galtier) le hace perder toda su actividad. Los cerebros rábicos, extendidos en capa muy delgada y desecados rápidamente en el vacío sulfúrico, son mucho más resistentes. No se atenúan ya por una permanencia prolongada a la estufa a 23° en un aparato de desecación análogo al que se emplea para las médulas. Conservan su virulencia primitiva durante muchos meses, al cabo de los cuales dan aún la rabia a los animales en siete días (Vansteenberghe).

Vincent ha demostrado que un centímetro cúbico de bilis neutralizaba en dos horas a 18° hasta 100 dosis de toxina tetánica. De igual manera han hecho ver Vallée, Galavielle y Aoust y Lesieur, que bastaba un contacto de algunos instantes entre una dilución bulbar y un volumen igual de bilis para destruir completamente la virulencia. Por otra parte, mientras que muchos productos atenúan el virus rábico, la lecitina carece de acción sobre él (Almagia y Marie). Ni en tres horas a 37°, ni en veintitrés horas a 25°, es capaz de destruirlo (2). La toxina tetánica es también lecitínófila (Petit), y esto nos da quizás la explicación de la afinidad de estos dos venenos por el sistema nervioso.

El virus rábico parece gozar, como la toxina tetánica, de la propiedad de ser activo en un grado muy grande de dilución. Se puede obtener una toxina tetánica tal que  $\frac{1}{1.000}$  a  $\frac{1}{10.000}$  de c. c. mate el cobaya y  $\frac{1}{100.000}$  a  $\frac{1}{1.000.000}$  de c. c., el ratón. Nitsch ha probado también que la dosis mortal de virus rábico para el conejo y el cobaya estaba comprendida entre 0,001 mg. y 0,0001 mg. de substancia gris. 0,0004 mg. sería, en la mayor parte de los casos una dosis mortal y 0,0002 podría ya ocasionar la muerte. Contrariamente a la opinión de Hógyes, la dilución al  $\frac{1}{10.000}$  puede perfectamente ser mortal para el conejo. Si el animal que recibe bajo la dura-madre 0,1 a 0,2 de c. c. de esta dilución no adquiere la rabia, el que recibe de 1 a 2 c. c. sucumbe siempre.

(1) NITSCH.—Experiencias sobre la rabia de Laboratorio, 5.ª parte.—*Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie*, Julio, 1906.

(2) ALMAGIA.—*Academia médica de Roma*, 28 de Abril de 1917.



3.º En las dos enfermedades, la multiplicidad de los puntos de contacto del virus con los filetes nerviosos facilita la infección o la intoxicación. El hecho es bien conocido para la rabia, y Courmont y Doyon han demostrado que la misma dosis de toxina tetánica, inofensiva si se inyecta en un solo punto, da el tétanos si se reparte por varios. La toxina tetánica y el virus rábico parecen progresar a lo largo de los nervios de idéntica manera. La toxina tetánica llega al sistema nervioso central por dos vías. Una parte pasa a la circulación, de donde es extraída por la fijación en las células nerviosas. La otra es absorbida por los filetes nerviosos periféricos, que la llevan paso a paso por el cilindro-eje al nivel de los centros (A. Marie). Esta última modalidad es idénticamente la de la rabia, según se desprende de los trabajos clásicos de Di Vesteu y Zagari, de E. Roux, etcétera. La difusión de la toxina y del virus son igualmente rápidas. Inyectada bajo la cola de la rata, la toxina produce el tétanos, hasta cuando se procede a la amputación de la punta a los tres cuartos de hora. Sabido es que, en la rabia, la inoculación en la punta de la oreja, seguida de la resección de este órgano, o la inyección en la cámara anterior, seguida de la enucleación del ojo, han dado resultados comparables. Como es posible, inyectando al animal una pequeña dosis de toxina tetánica, producir en él un tétanos localizado y curable—lo que es muy realizable con el virus rábico—, podría ser interesante inyectar en la extremidad inferior de un mismo miembro a la vez una dosis mortal de virus rábico y una dosis no mortal de toxina. Sin que deban formarse grandes ilusiones sobre las posibilidades terapéuticas de esta asociación, sería curioso ver cómo se comportan, vis a vis el uno del otro, estos dos virus obligados a caminar—como dos carruajes en una misma carretera o dos trenes en una misma línea—hacia los centros siguiendo la misma vía. El virus rábico de Sassari, que, inoculado bajo la piel de los múridos, produce casi fatalmente la muerte del animal, podría estar especialmente indicado para esta experiencia... No hay que decir que el tétanos y la rabia son también inoculables en el cerebro y en la médula.

4.º En el caso del tétanos, como en el de la rabia, la ingestión da un resultado negativo. Los modos de inoculación que no sean las inoculaciones subcutáneas o intramusculares van seguidos de una enfermedad desde un principio generalizada. Por el contrario, si en los animales de laboratorio se inyecta toxina tetánica bajo la piel o en los músculos, los accidentes empiezan por la región del cuerpo en que se ha introducido el veneno. El tétanos se extiende en seguida del lado opuesto y después se generaliza. La rabia experimental del cobaya—mucho más que la del perro o la del conejo—se presta a comprobaciones muy análogas. En los casos de inoculación subcutánea o de inoculación intramuscular, la parálisis empieza casi siempre por la región inoculada, pasa al lado opuesto y se extiende en seguida. Parece que, en el uno como en el otro caso, la neurona motora, correspondiente a la región en que la absorción se verifica, sea la primer saturada por el veneno. De aquí el comienzo de la parálisis o de la contractura por el sitio de la inoculación.

Existe en el hombre, como en el animal, un tétanos localizado, que es lo más frecuentemente curable. Experimentalmente, este tétanos local puede producirse casi a voluntad modificando la dosis de veneno inyectada. La rabia local no se ha podido realizar experimentalmente; pero se observan, en el curso del tratamiento antirrábico, paraplegias, monoplegias y parálisis del nervio facial o de los nervios motores que, para cierto número de autores, no serían otra cosa que rabia canina modificada, atenuada por el tratamiento. Si esta opinión—que nosotros, por otra parte, no podemos subscribir—llegara a prevalecer, habría entre esta forma de rabia y el tétanos localizado una analogía muy curiosa.



5.° Se sabe (A. Marie) (1) que cuando se inyecta toxina tetánica a ciertos animales, y especialmente al conejo, desaparece del organismo antes de la aparición de las contracturas. Ahora bien: no se ha eliminado, sino que se ha transformado; pero ¿cómo? Hay aquí una especie de misterio bastante desconcertante, con el cual se tropieza en el curso de la experimentación sobre la rabia. Si se inoecula virus en la cámara anterior del ojo, por ejemplo, desaparece de ésta y no se le encuentra tampoco en el cerebro (Rabieaux) (2). De la misma manera en los conejos inoculados bajo la dura madre con virus fijo, el virus desaparece del punto de inoculación el segundo día y no se encuentra en diferentes puntos del cerebro más que a partir del tercero... ¿Dónde va? ¿Qué ocurre durante este intervalo? Tenemos que confesar nuestra ignorancia sobre este punto.

6.° La inyección de toxina tetánica no produce inmediatamente contracturas como la inyección de estrieuina. Hay siempre un período de incubación, que es de doce horas, en el cobaya. Fué de cuatro días en la observación bien conocida del doctor J. Nicolas, que contrajo un tétanos generalizado seguido de curación por haberse picado con una aguja simplemente humedecida con toxina. De igual manera, si se hace pasar una emulsión de virus rábico a través de una bujía filtrante muy cerrada, de manera que retenga el virus y deje pasar la toxina, según creemos haber demostrado nosotros los primeros (3), se ve sucumbir a los animales después de una incubación sensiblemente igual a la que se hubiera determinado por el virus mismo. La analogía es completada por el hecho de que, de igual modo que las contracturas observadas a consecuencia de la inyección de toxina tetánica, no difieren en nada de las que siguen a las inoculaciones de cultivo; así las parálisis rábicas que se producen después de las inoculaciones de toxina son muy semejantes a las que siguen a las inoculaciones de virus.

7.° En los principales animales de laboratorio, la duración de la rabia, como la del tétanos declarado, oscila casi siempre entre treinta y seis y setenta y dos horas. El pronóstico de la rabia es más severo que el del tétanos. Sin embargo, la curación se ha observado, no solamente en el perro (Pasteur, Högyes, Krafouchkine, Remlinger, Courmont y Lesieur, etc.), sino también en la cabra (Courmont y Lesieur), en el conejo (Vincent), en la rata (Galli-Valerio), etc. En las dos afecciones sobreviene la muerte con frecuencia, por parálisis del corazón a consecuencia de una excitación viva o de un movimiento espontáneo o provocado algo violento, hasta el punto de que, para determinarlo, basta a veces, o coger o desplazar el animal bruscamente. El hecho es, sobre todo, frecuente en el cobaya.

8.° La busca en el punto de inoculación del bacilo tetánico y del virus rábico es igualmente alentoria. La lesión local está casi siempre oscurecida. La afirmación de Pace (4) de que el virus se encuentra en la autopsia de los rábicos en las cicatrices de las mordeduras que han reaccionado en el curso de la enfermedad, no ha recibido, según se sabe, ninguna confirmación.

(1) Independientemente de estas parálisis de tratamiento, J. Courmont y Lesieur (Estudios clínicos sobre la rabia humana.—*Journal de Physiologie et de pathologie générale*, 15 Noviembre 1903) han descrito con el nombre de «rabia curable» o de «rabia crónica», parálisis variadas (hemiplejías, mielitis transversas, etc.). Estas observaciones están lejos de ser convincentes.

(2) RABIEAUX.—Contribución al estudio de la rabia.—*Société de Biologie*, 17 Enero 1903.

(3) P. REMLINGER. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1903, p. 84', y 1904, p. 156.

(4) PACE.—Sobre la existencia de virus rábico en el sitio de la mordedura de un niño muerto de rabia. —*Annales de l'Institut Pasteur*, 1903, p. 293.



Es a título excepcional como se han encontrado en la sangre el bacilo de la toxina tetánica. Tampoco el virus rábico se ha encontrado en la sangre más que un pequeñísimo número de veces (A. Marie) (1). De igual manera, el bacilo tetánico y el virus rábico no parecen generalizarse *post mortem* más que muy raramente.

9.° Las lesiones anatómo-patológicas presentan también ciertos puntos de contacto. Göbel (2) estima, por ejemplo, que la lesión bien conocida, descrita en la rabia por Van Gehuchten y Nelis en los ganglios nerviosos periféricos, se explica por la actividad fagocitaria de las células endoteliales a consecuencia de la alteración vital de la célula nerviosa y debe considerarse de la misma naturaleza, aunque más acentuada, que las alteraciones histológicas descritas en las intoxicaciones tetánica y botulínica. Marie (3) considera los cuerpos de Negri como el indicio de una reacción de las células nerviosas, no al microbio, sino a la toxina rábica. Ahora bien: Poor (4) ha encontrado en el cobaya tetánico pequeñas inclusiones, análogas a las formas minúsculas, en el interior de los núcleos de las células del asta de Ammon. Los corpúsculos serían, pues, el indicio de una reacción celular contra venenos de naturaleza diferente. De aquí su «especificidad relativa» (A. Marie). Si se exceptúa este caso particular, ni la rabia, ni el tétanos, engendran lesiones anatómo-patológicas específicas.

10. Aunque frecuentemente no sea fácil separar lo que pertenece a la toxina rábica y a los venenos de la sustancia nerviosa normal, A. Marie ha hecho observar que la toxina rábica parece retenida tan enérgicamente por las células como la toxina tetánica. Hasta parece que se adhiere más sólidamente que ella, porque han fracasado todos los intentos para ponerla en libertad después de su fijación. De hecho, todo ocurre en la vacunación antirrábica como si se introdujese en el organismo sustancia nerviosa cargada de una toxina retenida por elementos celulares y no es posible impedir que se establezca una aproximación entre las inyecciones vacinales y los fenómenos de fijación del veneno del tétanos.

Si la sustancia nerviosa no puede, como creía Babès, vacunar contra la rabia, la de los animales inmunizados parece poderlo hacer (Calabrese y Aujeszky). De igual manera en el tétanos se puede conferir cierto grado de inmunización a los animales por la inyección de grandes cantidades de sustancia nerviosa procedente de animales tetánicos o vacunados.

En fin, la toxina tetánica y el virus rábico se prestan también a la obtención de sueros cuyas propiedades son muy parecidas. En particular uno y otro son susceptibles de ser empleados localmente en el tratamiento de las heridas, sea bajo forma de líquido o sea bajo forma de polvo.

• • •

Haremos observar, para concluir, que hemos llegado en el curso de este artículo, a comparar indiferentemente el virus rábico con el bacilo y con la toxina tetánica. Pocas cosas parecen más diferentes que un bacilo y una toxina. La naturaleza, sin embargo, no da saltos, y—tal es la diferencia entre el reino animal y el reino vegetal—esto no es verdad

(1) MARIE.—*L'étude expérimentale de la rage*, París, 1909 (Doin, éd.), p. 49.

(2) GÖBEL.—Contribución al estudio de las lesiones de los ganglios nerviosos periféricos en las enfermedades infecciosas.—*Annales de l'Institut Pasteur*, 1902, p. 904-911.

(3) A. MARIE.—*Loc. cit.*, p. 99.

(4) POOR.—Estudios patológicos sobre la rabia.—*Proceed of the N. Y. Pathol. Society*, 1904, t. IV, núm. 5.



más que si se miran casos extremos. Se puede preguntar si los virus filtrantes, al menos algunos de ellos, no constituyen una especie de lazo de unión entre las bacterias y las diatomeas, «medios de construcción de los edificios moleculares complejos elevados por la vida» (Duclaux). Como el bacilo tetánico, y aún mejor que él, el virus rábico es susceptible de reproducir la enfermedad en serie. Como la toxina, es *filtrable y difusible*. De un cerebro de animal rabioso, se difunde en un cerebro sano (1), lo mismo que la toxina tetánica, absorbida por las terminaciones nerviosas de la herida de inoculación, se difunde en los nervios periféricos. Atraviesa las bujías filtrantes y, según que estas sean poco o medianamente porosas, provocan—como un bacilo— una enfermedad transmisible en serie o, al igual de la toxina tetánica, una afección de sintomatología idéntica, pero no susceptible de reproducirse... como si el hecho de ser laminada entre las mallas cerradas de una buja tuviese por resultado transformar, en una especie de coloide, el fino organismo ultramicroscópico que es el microbio de la rabia...

P. REMLINGER

*Bulletin de l'Institut Pasteur*, 15 de Diciembre de 1917.

## Notas clínicas

### OTITIS POR CUERPOS EXTRAÑOS

En un becerro observamos un caso de otitis, cuyos síntomas no hemos visto en ningún tratado de Patología de cuantos hemos consultado, ni compañeros competentísimos a quienes expusimos el caso tampoco lo han observado.

Al ver al enfermo, por los síntomas que apreció, creí que se trataba de una indigestión por sobrecarga. Tratado como tal, el enfermo reaccionó algo. En vista de que no había una mejoría franca, a los tres días volví a visitar al enfermo. Los síntomas habían variado y presentaba inapetencia, hocio seco, por veces, cabeza caída e inclinada hacia la izquierda, el cuerno de este lado caliente (el otro normal), el ojo lagrimoso, el párpado inflamado y casi cubriendo el ojo (el izquierdo). Al percudir los senos de este lado, ligero dolor; además, persistían los trastornos intestinales observados al principio.

En vista de estos síntomas, creímos que nos hallábamos en presencia de un caso de absceso de los senos, aunque faltaban las hemorragias nasales.

Se creyó más práctico el sacrificio del enfermo que una intervención, y cuando en el matadero nos disponíamos a confirmar nuestro diagnóstico, nos encontramos con un absceso purulento en el oído medio, cuyo absceso englobaba una abeja, causa, en nuestro humilde entender, de todos los trastornos observados como actos reflejos.

DIEGO ESPINO TOLA

Veterinario de Porriño (Pontevedra).

## Noticias, consejos y recetas

**EL ALCOHOL NO DESINFECTA LAS MANOS.**—Está visto que los sabios han decidido no ponerse jamás de acuerdo respecto a las verdaderas propiedades germicidas del alcohol. Cuando ya parecía cosa indudable, que este líquido era uno de los mejores antisépticos de las manos, el doctor Barthe, de la Facultad de Medicina de Burdeos, nos viene a decir últimamente que estábamos poco menos que en la higuera, pues de sus experiencias re-

(1) NITSCH.—*Loc. cit.*; P. REMLINGER.—*Experiencias inéditas*.



sulta que el alcohol de 80° y aun de 90° mata menos microbios que reses un novillero de arias esos que tolean una corrida cada quinquenio.

Una duda, sin embargo, nos asalta al ver que el doctor Barthe dice al final de su trabajo que, puesto que el alcohol no desinfecta las manos, debe proscribirse de la antisepsia quirúrgica preoperatoria, sobre todo, ahora en que es indispensable para la Defensa nacional. Y aquí de nuestra duda. ¿No habrá pesado sobre el espíritu del doctor Barthe esta consideración patriótica de tal manera que le haya hecho olvidarse por un momento de la seriedad científica en homenaje a la bravura de los «poilus»?

• • •

LA ANTISEPSIA DE LAS MANOS.—El doctor argentino Varsi aconseja que se siga la siguiente técnica en la desinfección preoperatoria de las manos, en la seguridad de obtener muy buenos resultados y ser, además, convenientísima, para los cirujanos que tengan las manos delicadas y expuestas a eczemas, eritemas o grietas:

- 1.° Antisepsia de las ranuras ungueales con tintura de iodo al 3 por 100.
- 2.° Lavado de las manos hasta medio antebrazo con agua corriente y jabón, cepillando suavemente durante cinco minutos.
- 3.° Secado de las manos con una compresa esterilizada hasta dejarlas bien secas.
- 4.° Fricción enérgica durante cuatro o cinco minutos más o menos, con la pomada siguiente: vaselina, 50; eucaliptol, 2; timol, 1, cuya pomada se repartirá uniformemente. Hasta un pedazo del tamaño de una pequeña nuez.
- 5.° Secar el exceso de pomada con una compresa estéril, especialmente en las palmas de las manos. El delantal esterilizado debe siempre cubrir bien las muñecas.

• • •

CONTRA LA PICA DE LOS TERNEROS.—Da buenos resultados la siguiente fórmula, propuesta por Kreutzer, ya hace más de diez años:

|  |             |
|--|-------------|
| Fosfato de cal crudo pulverizado. .... | 250 gramos. |
| Cloruro de sodio.....                  | } aa 25 —   |
| Polvo de raíz de genciana .....        |             |
| Polvo de cálcio.....                   |             |
| Acido arsenioso. ....                  | 2 —         |

mézclase

Se dará tres veces por día una cucharada de café de esta receta.

## REVISTA DE REVISTAS

### Física y Química biológicas

M. MENDELSSOHN.—SOBRE LA GALVANOTOXIA DE LOS LEUCOCITOS.—*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, CLXII, 52, 3 de Enero de 1916.

La energía eléctrica ejerce su acción sobre la forma y sobre la motilidad del glóbulo blanco. Al cerrar la corriente, hay excitación en el anodo y en el catodo; a la ruptura, en el catodo solamente. No es preciso emplear más que corrientes débiles o medianas; las corrientes fuertes provocan una destrucción granulosa del lado del anodo.



Al lado de los movimientos protoplasmáticos provocados por la corriente, se producen, además, movimientos de traslación. El leucocito presenta, en efecto, una galvanotoxia catódica.

**E. SALKOWSKY.**—SOBRE LA COMBINACIÓN DEL AZUFRE EN LA ORINA.—*Biochemische Zeitschrift*, LXXIX, 68-80, 1917.

Sabido es que la orina humana, como la de los herbívoros y la de los carnívoros contiene azufre en varios estados: S completamente oxidado de los sulfatos, S de los éteres sulfónicos y S llamado «azufre neutro».

El autor se ocupa en esta Memoria del «S neutro», demostrando que bajo este nombre se agrupan sustancias diversas, diferentes según los grupos de animales considerados.

Se encuentra generalmente, pero no constantemente, S en estado de hiposulfito en la orina del perro. Se cita un caso de orina con hiposulfito en un tífico. En la orina del conejo no se encuentra hiposulfito si el animal es alimentado con zanahorias, avena, alfalfa, patatas o leche; pero se encuentra en cantidad relativamente abundante si se introduce la col blanca en su alimentación. Y, sin embargo, no hay hiposulfito en la col; es una sustancia aún indeterminada, que no es taurina, la generadora de este ácido hiposulfuroso; la sustancia en cuestión es soluble en el agua y pasa, por consecuencia, en el extracto acuoso de col. El hombre, aun después de la ingestión abundante de col blanca, no elimina hiposulfito.

Se ha encontrado *metilmercaptan* en la orina humana después de una comida que contenga espárragos, coliflores, nabos o coles rojas. La orina del conejo contiene el mismo cuerpo después de ingestión de col blanca. Pero el mercaptan no se encuentra en sustancia en los vegetales citados.

Hay *sulfuro de etilo* en la orina del perro bajo forma de una combinación que sería:  $\frac{C^2H^3}{C^2H} > S < \frac{CH^3}{CH}$ . Parece poco probable que esta misma base exista en la orina del hombre y del conejo.

La *cistina* parece encontrarse en pequeña cantidad en todas las orinas. He aquí las cifras encontradas: en orinas humanas 0 gr. 285 y 0 gr. 200 de cistina por litro; es este último caso la relación  $\frac{S \text{ de la cistina}}{S \text{ de los sulfatos}}$  era de 11,6 por 100 y la relación  $\frac{S \text{ de la cistina}}{S \text{ total}}$  era de 8,2 por 100. Para esta última relación, Petri ha encontrado en un caso de leucemia 3,33 por 100 y en casos de cirrosis 4,3 y 3,8. En el conejo, Salkowsky ha encontrado 13,6 por 100. En la orina humana, Baumann y Goldmann no han encontrado más que vestigios de cistina.

Se encuentra algo de *sulfocianato* alcalino en todas las orinas. Una fracción de glicocola que se forma abundantemente en el organismo sería susceptible de dar ácido cianhídrico, que se transformaría a su vez en ácido sulfocianico. En el cáncer se encontraría aumentada la cantidad de este último ácido.

Bajo el nombre de «azufre neutro» se agrupa también el azufre procedente del *urocromo* y de los *ácidos oxiproteicos*. No hay métodos de dosificación seria de estos cuerpos.

La expresión «azufre neutro» es incorrecta. Sería mejor decir «azufre no sulfúrico».

No hay duda sobre la significación fisiológica del azufre neutro. Presenta un producto de oxidación incompleta que aumenta en el ayuno y cada vez que hay aumento en la desasimilación proteica, por ejemplo, en las intoxicaciones.



PROFESOR A. GALLEGU.—MÉTODOS RÁPIDOS DE COLORACIÓN DE LAS FIBRAS ELÁSTICAS EN LOS ESPUTOS. PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN SUCESIVA DEL BACILO DE KOCH Y DE LAS FIBRAS ELÁSTICAS.—*Revista de Higiene y de Tuberculosis*, X, 193-204; 217-224; 241-247, Septiembre, Octubre y Noviembre de 1917.

A) LOS NUEVOS MÉTODOS DE COLORACIÓN DE LAS FIBRAS ELÁSTICAS EN LOS ESPUTOS.—El autor, después de referir sus numerosos ensayos y tanteos, relata de la manera siguiente la técnica de estos nuevos métodos que ha logrado descubrir:

*Elección de partículas de los esputos.*—Depositados los esputos en una caja de Petri y colocada ésta sobre un fondo negro (papel, pizarra, caja de preparaciones, etc.), se buscarán las porciones opacas, blancas o blancoamarillentas, esto es, las de aspecto más marcadamente purulento, y mejor todavía, los granos riciformes, si los hay, pero cuidando de no confundirlos con miga de pan. Elegida ya la partícula que ha de ser objeto de examen se separa de la masa de esputos, utilizando dos pinzas pequeñas con puntas agudas o una pinza y una tijera de las que se usan para disecciones frías.

Con la misma pinza, se traslada la partícula al porta-objetos.

*Extensión de las partículas de esputos.*—El grumo de esputos sobre que se ha de operar, no será mayor que un cañamón, y, aun así, servirá para hacer dos preparaciones, cuya anchura corresponderá aproximadamente al tamaño de una moneda de cinco céntimos. Colocado ya el grumo en el porta-objetos, y apoyando las ramas de la pinza o una aguja fuerte—el hilo de platino no es recomendable por su excesiva flexibilidad—se ejecutarán, al principio, movimientos de presión y frote, de tal suerte que las pinzas o la aguja actúen en dirección paralela a la superficie del porta, hasta conseguir que la partícula de esputo se convierta en una especie de papilla a propósito para extender. Entonces, inclinando las pinzas o la aguja, de manera que apoyen las puntas sobre el porta-objetos, se practicarán movimientos rápidos, trazando espirales o círculos y procurando deshacer completamente los más finos gránulos que van apareciendo, hasta conseguir una preparación en capa muy delgada y uniforme, sin relieves ni surcos. *Es regla absoluta, extender pronto y bien, es decir, rápidamente y en capa uniforme.*

Si la partícula elegida es muy consistente, esto ocurre en algunos esputos mucopurulentos, muy mucosos y se seca pronto, la extensión es difícil, aunque se proceda con rapidez, y las preparaciones adquieren un aspecto brillante y como arañadas. En estos casos convendría mezclar el grumo de esputos con una pequeña gota de agua (humedeciendo ligeramente las puntas de la pinza o de la aguja), y procediendo así, el grumo se extenderá con toda comodidad, la preparación no tendrá brillo, será mate, y no se observarán relieves ni surcos, sino que quedará una capa uniforme. No es, pues, recomendable para la técnica del autor, la extensión en capa gruesa, como aconseja Dargallo. Si los esputos son francamente purulentos o muy poco mucosos, no habrá ninguna dificultad para la extensión y se lograrán preparaciones en capa delgada y uniforme.

*Secado y fijación.*—Conseguida una preparación en capa delgada y uniforme, se dejará secar espontáneamente, o, en todo caso, se abreviará este tiempo calentando ligeramente el porta-objetos con la llama de una lamparilla de alcohol o de un mechero Bunsen, cuidando de no calentar demasiado hasta tostarla.

Después se procederá a la fijación, esto es, a la coagulación de la albúmina del esputo y a su perfecta adhesión al porta-objetos. La fijación se logra fácilmente pasando el



porta-objetos tres veces por la llama y, claro está, con la cara untada hacia arriba. Si después de la fijación la preparación queda aún con brillo, debemos desconfiar de haber logrado una adhesión perfecta del esputo al porta. Probablemente, al primer lavado a chorro, se desprenderá parte del esputo extendido.

**Sensibilización de las fibras elásticas.**—Enfriado el porta-objetos, o caliente aún, que esto es indiferente, se procede a sensibilizar las fibras elásticas, o, lo que es igual, a prepararlas para que se fije en ellas, de un modo casi específico, el colorante que ha de teñirlas, la fuchina.

El sensibilizador ha de actuar en caliente, hasta la emisión de vapores, y, a este fin, conviene proceder en la forma siguiente: Se sujeta el porta-objetos con una pinza de Debrand (las de Cornet no convienen porque el porta-objetos no queda horizontal) y se coloca ésta sobre la superficie del fondo de una copa invertida, según técnica aconsejada por Dargallo, que tiene la ventaja de ahorrar la platina de Malassez, y permitir operar más rápidamente, pues la acción del calor sobre el porta-objetos es inmediata. Si no se dispone de una pinza de Debrand, puede colocarse el porta-objetos sobre la copa invertida o un soporte cualquiera de madera o de metal, logrando la posición horizontal del porta, poniendo en el extremo que apoya sobre la copa un objeto de cierto peso (un trozo de plomo, una moneda, etc.). En fin, aun pueden suprimirse tales artefactos sosteniendo el porta-objetos con los dedos, pues el sensibilizador ha de actuar solamente durante diez segundos.

Procédase de una o de otra suerte, una vez puesto el porta-objetos horizontal y, claro es, con la cara untada hacia arriba, se vierten sobre la preparación unos cuantos centímetros cúbicos del líquido sensibilizador, utilizando una pipeta o una copa de pico, y de tal modo que cubra completamente la preparación. Bastará pasar tres veces la llama de un Bunsen por la cara inferior del porta-objetos y se logrará la temperatura suficiente (emisión de vapores), dejando actuar el sensibilizador durante 10 segundos.

El sensibilizador que ha de utilizarse será distinto, según se trate de teñir las fibras elásticas en esputos recientes (de pocas horas o del mismo día) o antiguos (de 3 a 5 días).

Para los esputos recientes, los sensibilizadores más recomendables, por orden de importancia y seguridad, son el *formol férrico*, el *formol clorhídrico* y el *formol nítrico*.

**Formol férrico:** Agua ordinaria, 40 c. c.; formol, 2 c. c.; percloruro de hierro, VIII gotas.

**Formol férrico clorhídrico:** Agua ordinaria, 40 c. c.; formol, 2 c. c.; percloruro de hierro, VIII gotas; ácido nítrico, II gotas.

Aunque no con tan buenos resultados, también es aplicable a los esputos recientes el *formol aluminico férrico*.

**Formol aluminico férrico:** Solución acuosa al cloruro de aluminio al 1 por 100, 40 centímetros cúbicos; formol, 2 c. c.; percloruro de hierro, IV gotas.

El *formol férrico* permite una coloración de las fibras elásticas (con la fuchina y el *formol férrico*) en violeta no muy intenso, pero tiene la ventaja de dar una coloración de fondo en violeta muy pálido, algo rojizo.

El *formol férrico clorhídrico* consiente una coloración de las fibras elásticas en violeta intenso, aunque acentuando también la coloración de fondo.

El *formol férrico nítrico* se comporta de modo análogo al *formol férrico clorhídrico*, aunque exagera algo la coloración de fondo.

En fin, el *formol aluminico férrico*, aunque de efectos parecidos al anterior, da todavía una tinción de fondo más intensa.

Si el esputo es antiguo (de 3 a 5 días), no hay ya inconveniente en utilizar, además de



los sensibilizadores citados, con excepción quizá del primero, los que a continuación se citan:

*Formol clorhídrico:* Agua ordinaria, 40 c. c.; formol, 2 c. c.; ácido clorhídrico, VIII gotas.

*Formol nítrico:* Agua ordinaria, 40 c. c.; formol, 2 c. c.; ácido nítrico, VIII gotas.

*Formol aluminico:* Solución acuosa al 1 por 100 de cloruro de aluminio, 40 centímetros cúbicos; formol, 2 c. c. (1).

Cualquiera de estos sensibilizadores, pero sobre todo el último, permitirían una coloración de fondo demasiado intensa si actuaran sobre esputos recientes, pero este inconveniente no es ya de temer en los esputos antiguos, pues la histólisis ha disminuido o suprimido la colorabilidad de los núcleos celulares. Por lo demás, todos ellos consienten una tinción intensísima de las fibras elásticas.

Una vez que tales sensibilizadores han actuado sobre la preparación durante 10 segundos (es el tiempo mínimo, que puede prolongarse cuanto se quiera), y en caliente (hasta la emisión de vapores), *antes de que se seque*, se lava a chorro, o, si se teme que la preparación se deteriore (mucho cuidado con las preparaciones que después de fijadas poseen todavía brillo), en un recipiente cualquiera con agua abundante.

*Coloración de las fibras elásticas.*—Después de la acción del sensibilizador y del lavado en agua, se procede a la coloración de las fibras elásticas. Para lograr dicha coloración con toda comodidad es muy recomendable proceder en la forma siguiente:

En una cubeta de Borrel o en una de porcelana a propósito para tinciones, o, en todo caso, en un vaso pequeño de cristal de los llamados cortadillos, se prepara en el acto la fuchina de Ziehl diluida al 75 por 100.

*Fuchina de Ziehl diluida al 75 por 100:* Agua ordinaria, 40 c. c.; fuchina de Ziehl, LX gotas.

En esta solución, que se conserva por poco tiempo (cinco a ocho días), se sumergen las preparaciones durante un minuto (tiempo mínimo que puede prolongarse sin inconveniente). Después se lavan en agua.

*Viro-fijación de la coloración de la fuchina.*—Lavada ya la preparación, es necesario fijar la coloración de las fibras elásticas, teñidas en rojo por la fuchina. Esto se logra haciendo actuar sobre la preparación cualquiera de los líquidos sensibilizadores citados, aunque conviene, para mayor sencillez y comodidad, que sea el mismo sensibilizador que actuó antes de la coloración con la fuchina. El sensibilizador usado después de la tinción con la fuchina, no sólo fija la coloración, sino que la hace cambiar del color rojo al violeta. En una palabra: *el mismo agente, es sensibilizador antes de la coloración con la fuchina; y viro-fijador después de dicha coloración.*

La viro-fijación se logra en el plazo mínimo de diez segundos, plazo que puede prolongarse cuanto se desee, sin ningún inconveniente, pero sin ventaja, según creemos.

Es práctica muy cómoda preparar el viro-fijador en una cubeta de Borrel, de donde se puede tomar con una pipeta para usarlo como sensibilizador, y en la que pueden sumergirse las preparaciones que han sido ya lavadas después de la coloración con la fuchina. Los sensibilizadores viro-fijadores se conservan durante mucho tiempo, quizá indefinidamente.

Terminada la viro-fijación se procede al último lavado en agua.

(1) Todos los sensibilizadores pueden prepararse con solución de formol al 1 por 100, sin ningún inconveniente, pero la solución al 5 por 100 es para nosotros más fácil de obtener.



*Secado y montaje.*—No hay necesidad de esperar a que la preparación se seque espontáneamente. Es preferible secar con rapidez, pasando el porta-objetos directamente por la llama de una lámpara de alcohol o de un mechero Bunsen.

Seca ya la preparación, y para evitar el gasto de cubre-objetos (las fibras elásticas se perciben muy mal en preparaciones sin montar y empleando objetivos a seco), estando aún el porta-objetos bien caliente, se extiende sobre la preparación una gota de bálsamo del Canadá disuelto en xilol, en toluol o en su esencia, haciendo resbalar sobre ella una varilla de vidrio. El bálsamo se seca en pocos segundos y la preparación puede ser examinada, desde luego, con objetivos a seco y hasta con los de inmersión.

Si la preparación merece ser conservada se monta definitivamente, calentando nuevamente el bálsamo que la cubre, o depositando sobre éste otra gota de bálsamo del Canadá disuelto en xilol o toluol, y encima un cubre-objetos.

En el caso de que la preparación no merezca ser conservada, se puede aprovechar el porta-objetos sumergiéndole por algunas horas o días simplemente en alcohol desnaturalizado o si se quiere, y se puede, en xilol.

*Examen microscópico de las preparaciones.*—El examen microscópico de las preparaciones de esputos con fibras elásticas debe hacerse de la misma manera que cualquier preparación histológica.

El objetivo de inmersión y aun los a seco de gran poder amplificante deben ser procurados. Basta casi siempre un aumento de 100 diámetros para distinguir las fibras elásticas más finas. Algunas agrupaciones de fibras elásticas son ya perceptibles con un cuenta-hilos.

Pero si es suficiente el empleo de objetivos débiles, el examen microscópico debe ser muy minucioso. No se crea que en una preparación de esputos, hecha directamente, sin homogenización, van a encontrarse cientos o miles de fibras elásticas. Estas son, en general, poco numerosas.

Las fibras elásticas, que han sido teñidas con los métodos que dejamos descritos, aparecen siempre en color violeta más o menos intenso; más intenso, sin embargo, que el de los núcleos celulares y que la mucina. No obstante, en los esputos recientes mucopurulentos, pero muy mucosos, en los que, como ya se ha dicho, la extensión es difícil, porque se secan rápidamente, y la preparación ya fijada tiene mucho brillo, los núcleos celulares desgarrados y estirados, así como la mucina, en virtud de las manipulaciones mecánicas con las pinzas o la aguja, dan una imagen microscópica francamente fibrilar. La busca de las fibras elásticas es entonces particularmente difícil, no obstante poseer una coloración violeta más intensa que los núcleos de las células y la mucina, porque el problema que se plantea es este: *distinguir fibras elásticas de fibras de cromatina y de mucina.*

Cuando el esputo es antiguo (de tres a cinco días) o, aun siendo reciente, se ha extendido en capa uniforme, mezclando previamente el gramo con una pequeña gota de agua, desaparece el aspecto microscópico fibrilar de los núcleos celulares y de la mucina, y las fibras elásticas se perciben con toda facilidad y corrección.

*Caracteres de las fibras elásticas en los esputos.*—Utilizando los métodos de tinción del autor, puede afirmarse que las fibras elásticas no se confunden con nada, pero, eso sí, precisa haberlas visto por lo menos una vez. Su color violeta intenso, más que su forma, debe siempre servir de guía. (Figs. 1, 2, 3 y 4).

Tan sólo a un principiante pueden inducir a error las líneas violeta obscuro, semicirculares, que aparecen en preparaciones de esputos muy antiguos, y que son debidas a una especie de arrugamiento de la preparación, porque al calentar, se han formado pequeñas



burbujas que han estallado; pero tales líneas, además de ser más pálidas que las fibras elásticas, y semicirculares, rodean siempre un espacio claro. Más fácil es confundir las fibras elásticas con micelios, como al autor le ocurrió una vez, que se le contaminaron

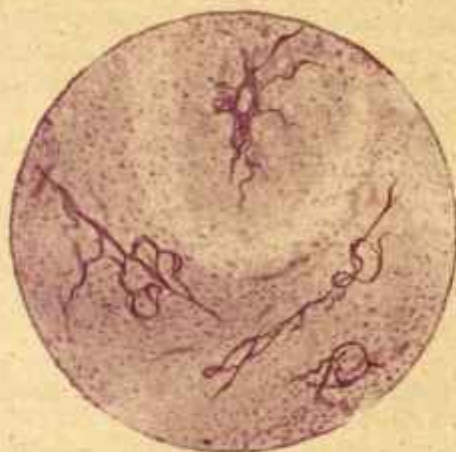


Fig. 1.—Espudo tuberculoso. Fibras elásticas. Formol férrico—Fuchina—Formol férrico. (A. 100 diámetros).

unos espudos por un hongo del aire; pero la coloración de los micelios es de un violeta más pálido y algo rojizo, y su forma es también muy distinta (fig. 2). Quizá haya posibilidad de confundir las fibras elásticas con los filamentos micelianos aislados, o en

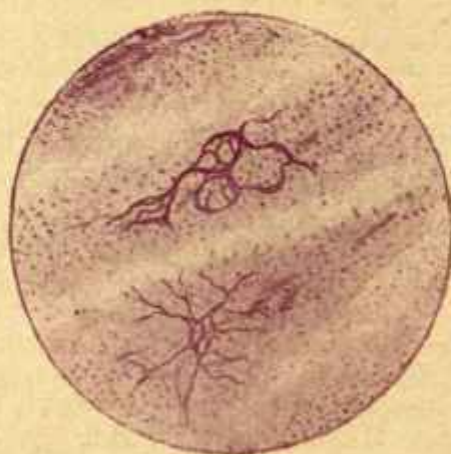


Fig. 2.—Espudo tuberculoso. Fibra elástica y micelio. Obsérvese la distinta tinción de una y otra. Formol férrico nítrico—Fuchina—Formol férrico nítrico. (A. 100 diámetros).

-madejas, en la coosporosis pulmonar, a juzgar, al menos, por las figuras que se ven en la obra, ya citada, de Dargallo.

Por lo demás, las fibras elásticas son de formas tan variadas que, por muchas que se hayan visto, difícilmente se encontrarán dos iguales. Es verdad que, de ordinario, apare-



cen como retorcidas, de límites correctos, con divisiones en ángulo agudo; pero mientras unas son finísimas y muy cortas (probablemente, fibras del saco alveolar), otras son gruesas, en forma de madejas enredadas y como rúbricas elegantes (fibras del orificio alveolar y fibras comunes, casi seguramente). Precisamente, por la infinita variedad de formas de las fibras elásticas, es por lo que el autor ha creído necesario hacer dibujar gran número de ellas, y, aun así, no tiene la pretensión, ni mucho menos, de haber logrado representar sino un número escaso de tipos, así pueden llamarse (fig. 3). Es inadmisibile la afirmación de muchos autores de que la fibras elásticas en los esputos tienen siempre aspecto alveolar. Precisamente el tipo alveolar es rarísimo, digase cuanto se quiera en contrario.

En una palabra; aparte de la forma y de la coloración, las fibras elásticas tienen un no se sabe qué, un sello especial, que, visto una vez, no se olvida jamás.

*Modificaciones de la técnica cuando los esputos son pobres en fibras elásticas. Homogenización y centrifugación.* — Si un detenido examen microscópico de un par de preparaciones ejecutadas siguiendo la técnica ya descrita, no revela la existencia de una sola fibra elástica, no se pierda el tiempo, haciendo preparaciones gruesas (especie de tortillas sobre el porta), pues, con los métodos citados, no se consigue teñir las fibras elásticas en tales preparaciones.

Procedase, y esto es lo más seguro, a la homogenización de los



Fig. 3.—Diversos tipos de fibras elásticas en los esputos. (A. 100 diámetros).

esputos.... ¡Homogenización! ¡Palabra mágica que hace poner mal gesto a los hombres de laboratorio que sólo se interesan por los diagnósticos remunerados! Pues, sí; procédase a la homogenización, operación fácil, rápida y de una importancia de primer orden para buscar fibras elásticas en los esputos.

He aquí la técnica clásica, que el autor no ha intentado modificar por creer que es muy práctica:

Viértanse en un tubo de ensayo o de cultivo 5 o 10 c. c. de esputos; agréguese igual volumen de solución acuosa de potasa al 10 por 100; agítase la mezcla unos minutos hasta lograr una homogenización gruesa; caliéntese dicha mezcla (hasta la ebullición) y agréguese en el mismo tubo tres o cuatro veces su volumen de agua. En seguida, centrifúguese durante unos cinco minutos.

Si no se dispone de aparato para centrifugar—entonces al que hay que armarse de

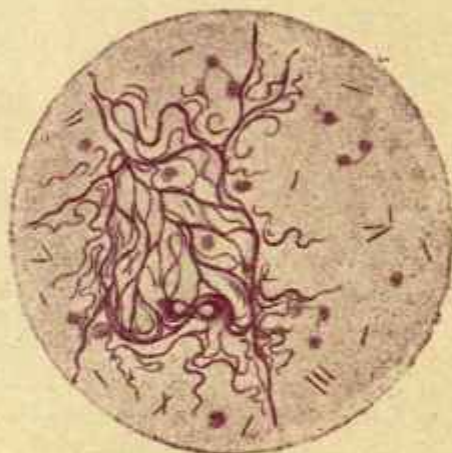


Fig. 4.—Esputo tuberculoso. B. Koch (violeta negro) fibras elásticas. Fuchina de Ziehl-Ac. nítrico al  $\frac{1}{2}$ —Alcohol de 60°—Formol férrico clorhídrico—Fuchina—Formol férrico clorhídrico. (A 800 diámetros).

paciencia!—viértase el contenido del tubo en una copa de fondo estrecho, y abandónese durante veinticuatro horas.

El depósito, producto de la centrifugación o de la sedimentación, se extenderá en un porta-objetos, mezclando una partícula de él con otra de esputo objeto de examen. Así se consigue que se adhiera perfectamente al porta y no se desprenda al lavar. No es recomendable mezclar una partícula del depósito con solución de albúmina o de albúmina y glicerina.

Obtenida ya una preparación, y fijada como de costumbre, puede teñirse por cualquiera de los siete métodos del autor. Todos, absolutamente todos, dan resultados sencillamente admirables. Las fibras elásticas se tiñen intensamente en violeta, mucho más intensamente que cuando se hacen preparaciones extendiendo directamente los esputos: es que la potasa actúa como mordiente de la fuchina.

Como se ve, la busca de las fibras elásticas en los esputos, previa ¡homogenización!, centrifugación y tinción, además de ser muy segura, es muy rápida: se hace en ¡10 o 15 minutos! Quienes han padecido el método de coloración con la oreína o con la fuchselina, no tienen derecho a quejarse.



**RESUMEN TÉCNICO.**—1.° Extensión en capa delgada. 2.° Fijación con el calor. 3.° Sensibilización de las fibras elásticas con formol férrico, formol férrico clorhídrico, formol férrico nítrico o formol aluminico férrico, si se trata de esputos recientes, y con los tres últimos, o con formol clorhídrico, formol nítrico o formol aluminico, si de esputos antiguos, durante diez segundos y en caliente (hasta la emisión de vapores). 4.° Lavado en agua. 5.° Tinción con la fuchina de Ziehl diluida al 7,5 por 100 en agua ordinaria, un minuto. 6.° Lavado. 7.° Viro-fijación con cualquiera de los líquidos sensibilizadores, diez segundos. 8.° Lavado. 9.° Secado con la llama y, estando aún el porta-objetos caliente, extendiendo una gota de bálsamo por toda la preparación. 10.° Examen microscópico a 100 diámetros.

En síntesis: ateniéndose solamente a las operaciones fundamentales, los nuevos métodos de coloración de las fibras elásticas en los esputos ideados por el profesor Gallego, pueden exponerse así:

- 1.º método: Formol férrico—fuchina—formol férrico. (Ff. F. Ff.)
- 2.º método: Formol férrico clorhídrico—fuchina—formol férrico clorhídrico. (Ffel. F. Ffel.)
- 3.º método: Formol férrico nítrico—fuchina—formol férrico nítrico. (Ffn. F. Ffn.)
- 4.º método: Formol aluminico férrico—fuchina—formol aluminico férrico. (Falf. F. Falf.)
- 5.º método: Formol clorhídrico—fuchina—formol clorhídrico. (Fel. F. Fel.)
- 6.º método: Formol nítrico—fuchina—formol nítrico. (Fn. F. Fn.)
- 7.º método: Formol aluminico—fuchina—formol aluminico. (Fal. F. Fal.)

En realidad, no son sino tres métodos: 1.º Formol férrico—fuchina—formol férrico; 2.º Formol nítrico—fuchina—formol nítrico, y 3.º Formol aluminico—fuchina—formol aluminico, pues los otros cuatro constituyen más bien procedimientos.

**B) PROCEDIMIENTO DE COLORACIÓN SUCESIVA DEL BACILO DE KOCH Y DE LAS FIBRAS ELÁSTICAS.**—La coloración del bacilo de Koch y de las fibras elásticas en la misma preparación, fué el segundo problema que se propuso resolver el autor, y, sin embargo, quedó resuelto antes que el primero: el de la coloración simple de las fibras elásticas. No es, pues, extraño que le haya preocupado mucho menos. Estaba seguro de que todo perfeccionamiento en la técnica de la coloración simple de las fibras elásticas había de traducirse necesariamente por una mejora en el procedimiento de tinción sucesiva del bacilo de Koch y de las citadas fibras. Y así ocurrió, en efecto, procediendo con arreglo a la siguiente técnica: 1.º Extensión y fijación por el procedimiento habitual. 2.º Coloración con la fuchina de Ziehl en caliente (hasta la emisión de vapores), 10 minutos. 3.º Lavado en agua (puede suprimirse este tiempo). 4.º Ácido nítrico al  $\frac{1}{2}$ , 2 minutos. 5.º Alcohol de 60°, 3 a 5 minutos. (Puede substituirse esta doble decoloración sucesiva por la simultánea con alcohol clorhídrico durante 5 a 10 minutos.) 6.º Lavado. 7.º Sensibilización de las fibras elásticas con cualquiera de los líquidos ya señalados, en caliente, 10 segundos. 8.º Coloración con fuchina de Ziehl diluida al 7,5 por 100 en agua ordinaria, 1 minuto. 9.º Lavado. 10.º Cualquiera de los sensibilizadores que en este caso actúan como viro-fijadores, 10 segundos. 11.º Lavado. 12.º Secado y montaje en bálsamo.

El bacilo de Koch, único microbio teñido, adquiere un color violeta negro; los núcleos celulares y la mucina se tiñen en violeta pálido; las fibras elásticas en violeta azulado intenso.

La circunstancia de no teñirse más microbio que el bacilo de Koch, permite distinguirle con toda facilidad y sin empleo del objetivo de inmersión. Basta una ampliación de unos 400 a 500 diámetros, que puede lograrse con objetivos a seco.

**CONCLUSIONES.**—1.º: Los métodos clásicos de coloración de las fibras elásticas en los esputos, son dos: el de la orceína, propuesto por Bart y May, y el de la fuchalina preconizado por Sahli.

2.º El primero tiene el inconveniente de ser muy lento (24 horas) y el segundo, aunque más rápido (30 minutos a 1 hora), exige el empleo de un colorante difícil de preparar y conservar. Así se explica que por rara excepción sean utilizados en los laboratorios de análisis clínicos.

3.º Los métodos de coloración de las fibras elásticas en los esputos, que el autor aconseja, están fundados en la tinción de dichas fibras con la fuchina de Ziehl diluida al 7.5 por 100, precedida y seguida de la acción de determinados agentes que obran, en el primer caso, como sensibilizadores, y en el segundo, como viro-fijadores de la coloración. La sensibilización ha de hacerse en caliente; la viro-fijación, en frío. Una y otra no necesitan prolongarse más de 10 segundos. La coloración con la fuchina no es preciso que dure más de un minuto, por lo que, la coloración de las fibras elásticas en los esputos, comprendidas todas las operaciones que la conciernen, se logra en 2 minutos.

4.º No todos los métodos que preconiza el autor son igualmente aplicables a los esputos recientes (de pocas horas o del mismo día) y a los antiguos (de 3 a 5 días). Cuando los esputos son recientes se preferirán por orden de seguridad e importancia los métodos siguientes: Primer método: Formol férrico—fuchina—formol férrico. Segundo método: Formol férrico clorhídrico—fuchina—formol férrico clorhídrico. Tercer método: Formol férrico nítrico—fuchina—formol férrico nítrico. Cuarto método: Formol aluminico férrico—fuchina—formol aluminico férrico.

Para los esputos antiguos, además de los tres últimos métodos, podrán emplearse los que siguen: Quinto método: Formol clorhídrico—fuchina—formol clorhídrico. Sexto método: Formol nítrico—fuchina—formol nítrico. Séptimo método: Formol aluminico—fuchina—formol aluminico. Con cualquiera de estos métodos las fibras elásticas se tñen en violeta intenso y los núcleos celulares y la mucina en violeta pálido.

5.º Los nuevos métodos de coloración de las fibras elásticas en los esputos superan a los métodos clásicos por su rapidez, facilidad y economía, ventajas que los permiten ser utilizados a diario y en cualquier laboratorio de análisis clínicos medianamente dotado.

6.º Todos los métodos de coloración de las fibras elásticas, que propone el autor, pueden emplearse después de la coloración del bacilo de Koch, según la técnica clásica, una vez que se ha hecho la decoloración y suprimiendo, claro está, la tinción con el azul de metileno. El bacilo de Koch, único microbio que se tñe, aparece en violeta negro; los núcleos de todas las células en violeta pálido; las fibras elásticas en violeta azulado intenso. Las fibras elásticas se distinguen perfectamente a 100 diámetros: los bacilos de Koch a 400 o 500, y como son los únicos microbios teñidos, no hay necesidad de examinarlos con objetivos de inmersión.

## Anatomía y Teratología

**L. MEZZANO.**—TERMINACIONES DE LAS ARTERIAS LINGUALES EN LOS ANIMALES DOMÉSTICOS.—*Archivio scientifico di Medicina veterinaria*, XI, 11-25, Enero-Febrero de 1913.

Por consejo del profesor Mobilio, en opinión del cual las descripciones que se dan de las terminaciones de las arterias linguales no corresponden exactamente a la verdad, em-



prendió el autor una serie de investigaciones en los diversos animales domésticos, del resultado de las cuales da cuenta en el presente trabajo.

**EQUUS CABALLUS.**—*I. Caballo* (fig. 1).—La arteria lingual está siempre en correspondencia con la cara externa del músculo geni-glosa. Unos 7 centímetros por delante de la extremidad anterior de la lengua, se divide en dos ramos terminales: uno superior y otro inferior.

El *ramo superior* (r. s.) camina oblicuamente de abajo a arriba y de atrás a adelante, y, cediendo numerosos ramitos colaterales, va a terminar en la cara anterior de la punta de la lengua, manteniéndose siempre en el mismo lado.

El *ramo inferior* (r. i.) se pliega a su vez hacia adelante y hacia abajo, dirigiéndose principalmente por la cara inferior de la punta de la lengua, en la cual se distribuye en ramitos serpiginosos.

Como se ve, en este caso no se nota ninguna anastómosis entre las arterias de los dos

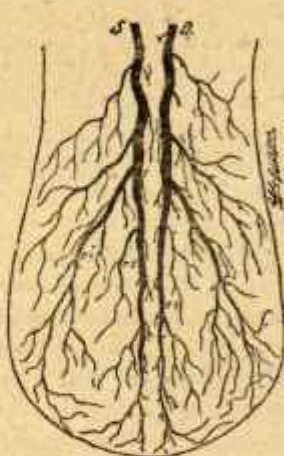


Fig. 1.

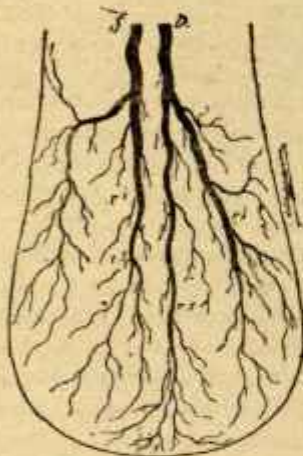


Fig. 2.

lados, y sólo puede hablarse de anastómosis entre los capilares, como en casi todos los órganos del cuerpo animal.

**II, III y IV. Caballos.**—Las arterias linguales se comportan como en el caballo precedente. Sólo en el último los capilares terminales de un lado estaban anastomosados con los del otro.

**V, VI y VII. Caballos** (fig. 2).—Las arterias linguales se terminan del modo habitual, pero se encontró una particularidad, que tiene cierto valor, porque recuerda la disposición encontrada normalmente en los rumiantes. El ramo terminal superior (r. s.) de la arteria lingual izquierda no llega al punto medio de la extremidad anterior de la lengua, sino que se detiene a breve distancia de ella. Allí va a distribuirse el ramo terminal superior de la arteria lingual derecha (fig. 2, r. s.), de modo que dicho ramo ocupa, con sus divisiones terminales, la punta de la lengua, de un lado y de otro de la línea media.

**VIII y IX. Caballos.**—Como los dos últimos descritos, con la diferencia de que el ramo más largo pertenece a la arteria lingual izquierda.

**EQUUS ASINUS.**—*I. Asno.*—La arteria lingual, a lo largo de todo su recorrido, abandona numerosos ramos, al lado superior o al inferior.

Los ramos *inferiores* están en menor número y son de menor calibre; los *superiores*, los cuales se enlazan en ángulo recto, se suceden uno detrás del otro casi a la misma distancia de un centímetro. Dichos ramos, a medida que la arteria lingual se aproxima a la parte libre de la lengua, comienzan a destacarse en ángulo agudo vuelto hacia adelante y la distancia entre ellos va aumentando un poco. Cuando la arteria lingual está a unos cinco o seis centímetros de la punta de la lengua, comienza a abandonar ramos que se dirigen en todos los sentidos, y al fin termina con varias ramificaciones que se distribuyen en la punta de la lengua.

**II. Burra.**—La arteria lingual se comporta como en el asno. Termina a cuatro centímetros de la punta de la lengua. En este punto se bifurca en dos ramos terminales que van dividiéndose dicotómicamente en arteriolas pequeñísimas, las cuales se resuelven en capilares.

**III y IV. Asnos.**—En estos dos ejemplares no se encuentran diferencias.

**EQUUS MULUS.—I. Mulo.**—Las dos arterias linguales se comportan, en su terminación, de modo diferente:

La *derecha* se distribuye en el tercio anterior de la parte libre de la lengua, donde se resuelve en un vaso terminal.

La *izquierda*, un poco más desarrollada, se divide en dos ramos terminales, de los cuales uno ocupa, en el lado izquierdo, un campo próximamente igual al de la terminación del lado derecho, y el otro se dirige hacia la línea media y se distribuye en la punta de la lengua, parte en la mitad derecha y parte en la mitad izquierda. Esta disposición, como se verá, es un hecho normal en los ovinos y caprinos.

**II. Mula.**—La arteria lingual, adelgazada por los ramos colaterales suministrados, entra en correspondencia con la mayor convexidad lateral de la punta de la lengua y se incurva hacia adentro, pasando casi paralela al contorno de dicha punta, terminando dividida en dos ramitos.

**III. Mulo (fig. 3).**—La única particularidad digna de nota se refiere a una sutil anastomosis (a) que de un ramito del ramo dorsal terminal de la lingual derecha se establece con otro de la lingual izquierda.

**IV. Mula.**—Como el caballo VI (véase fig. 2).

**Bos TAURUS.—I. Ternero.**—La arteria lingual se divide en dos ramos, división que recuerda la de los équidos, pero es menos manifiesta y se produce a mucha mayor distancia de la punta de la lengua. La distribución de los ramos terminales superior e inferior no difiere de la de los équidos substancialmente.

**II y III. Vacas (fig. 4).**—La única diferencia notable en este caso se refiere al campo de distribución de los ramos terminales superiores de las linguales. El de la derecha no llega a la extremidad de la lengua. El de la izquierda se prolonga más que el precedente y vasculariza la parte terminal de la lengua, sea del lado derecho o sea del lado izquierdo, como indica la figura 4.

**IV y V. Buey.**—Como en los casos II y III, salvo la diferencia de que la arteria lingual derecha se prolonga hasta la punta de la lengua.

**CAPRA HIRCUS.—I. Cabrito (fig. 5).**—La arteria lingual derecha, a un centímetro de la punta de la lengua, se divide en tres ramúsculos, de los cuales, el mediano (b) es más grueso y más largo. Los dos laterales, el de la derecha (a) y el de la izquierda (c), se distribuyen en la mitad correspondiente de la punta de la lengua. El ramo medio continúa su recorrido y va a distribuirse en correspondencia con el borde de dicha parte.

La *lingual izquierda* se termina en dos ramos: uno representa una anastomosis trans-



versa, que refuerza la arteria lingual derecha (A) y el otro camina lateralmente y se distribuye a la izquierda sin llegar al límite de la punta de la lengua.

*II y III. Cabritos.*—Al revés que en el cabrito I, en estos dos casos es la lingual izquierda la que llega hasta el borde de la punta de la lengua, mientras que la derecha se

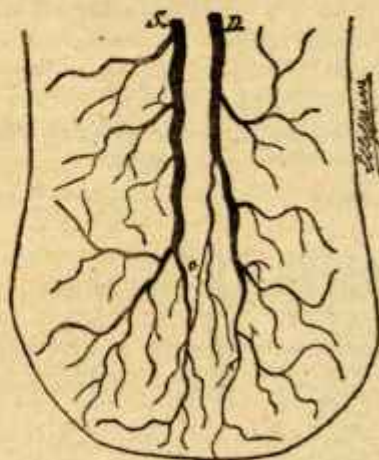


Fig. 3.

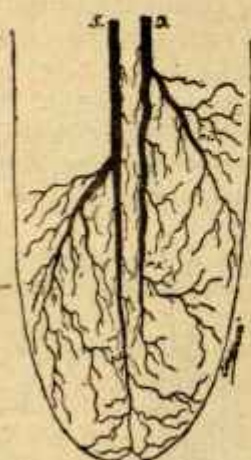


Fig. 4.

detiene antes. Es de notar también que no existe ninguna anastómosis entre las dos arterias.

*IV. Cabra (fig. 5).*—Las arterias linguales, a medida que se aproximan hacia la parte libre de la lengua, van convergiendo entre sí, de tal manera que en este último sitio acaban por tocarse. El punto de contacto encuéntrase en correspondencia con el plano que separa la parte fija de la parte móvil de la lengua, en el plano sagital de este órgano, entre los dos músculos genio-glosos. En este punto están unidas las dos arterias por una anastómosis transversa, de calibre muy considerable, después de la cual las dos arterias continúan su recorrido hacia adelante, conservando el calibre propio, pero se conducen de diferente manera, pues, mientras la arteria lingual derecha se termina en tres ramos al centímetro de recorrido, la arteria lingual izquierda continúa su camino, cediendo numerosísimos ramos colaterales, hasta la punta de la lengua, donde se divide en dos partes.



Fig. 5.



Fig. 6.

*V. Cabrito.*—Como el cordero I (véase a continuación).

*OVIS ARIES.*—*I. Cordero.* *II. Oveja.*—La arteria lingual derecha, de un calibre considerable hasta la parte libre de la lengua, tiene un recorrido tortuoso, que se hace rectilíneo desde el punto citado. Su calibre disminuye a medida que se aproxima a la punta de la lengua y a pocos milímetros de ella termina por dos ramúsculos divergentes, uno de los cuales se dirige a la derecha y contornea por este sitio la punta de la lengua, y el otro hace lo mismo por el lado izquierdo, distribuyéndose, lo mismo que los otros ramitos co-

laterales de la extremidad terminal de esta arteria, en correspondencia con la punta de la lengua.

La *arteria lingual izquierda*, apenas llega a la parte libre de la lengua, se divide en dos ramos, uno de los cuales se dirige hacia la parte superior de la lengua, distribuyéndose en la parte posterior de la porción libre, y el otro penetra en el músculo estilo-gloso y se agota a un par de centímetros de la punta de la lengua.

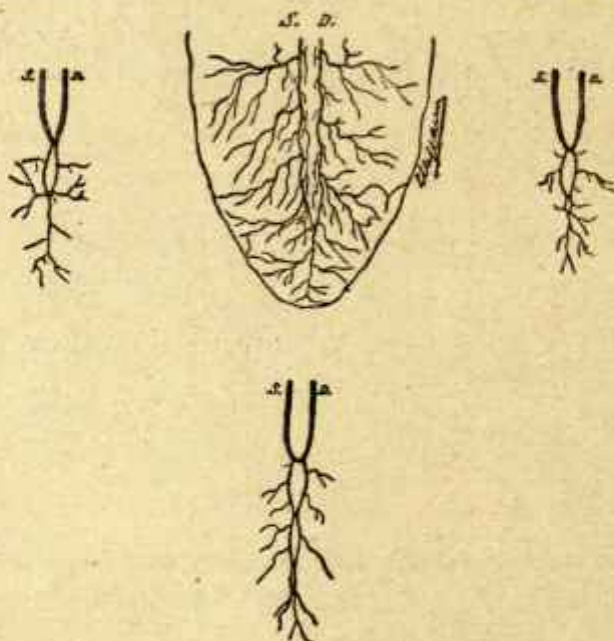
**III. Carnero.**—Como en el cabrito I (véase la fig. 5.)

**SUS SCROPHA (VARIEDAD DOMÉSTICA). I. Cerdo.**—La arteria lingual llega a la punta de la lengua enviando ramos inferiores, laterales y superiores (estos últimos más desarrollados), sin anastomosarse entre sí, aparte de las anastómosis capilares.

Esquema A.

Fig. 7.

Esquema B.



Esquema C.

**II. Cerdo (fig. 7).**—La *arteria lingual derecha* se dirige hacia la punta de la lengua distribuyendo, en el último centímetro de su recorrido, ramos de ambos lados.

La *arteria lingual izquierda* se incurva a dos centímetros del borde anterior de la lengua, presentando la convexidad hacia adelante, y después de un breve trayecto se esparce en forma de capilares.

**III, IV y V Cerdo (fig. 7, esquema A, B, C).**—El modo de terminar la arteria lingual en estos tres animales está indicado en la fig. 7, en la cual se ve que en el esquema A, las arterias linguales establecen una brevisima, pero gruesa, anastómosis transversa y después continúan su recorrido casi un centímetro y al fin se unen por convergencia. El ramo único que de ello resulta va a distribuirse en el borde anterior de la lengua, enviando ramos a ambos lados.

En el esquema B, de la misma figura, se ven, antes de la unión por convergencia, dos anastómosis transversas; en el esquema C, éstas son en número de tres.



**CANIS FAMILIARIS. I, II, III y IV. Perros (fig. 8).**—Las arterias linguales terminan de manera diferente que las de los precedentes animales domésticos.

Cada una de las arterias, apenas llegada a la parte libre de la lengua, abandona, por su lado externo, un grueso ramo (*r*). Este se dirige hacia adelante, hasta el borde lateral de la lengua, desprendiendo numerosos ramitos colaterales en su recorrido y acabando por resolverse en capilares en el borde lingual. Además de este primer ramo colateral, aun da otros dos, tres o cuatro, dicha arteria, también de su lado externo, los cuales se resuelven en arteriolas marginales. Por último, medio centímetro antes del punto extremo y mediano de la lengua, cada una de las arterias forma un arco de convexidad anterior, que cede muchos ramitos.

**FELIS DOMÉSTICA. I, II, III y IV. Gatos (fig. 9).**—El autor no ha apreciado ninguna diferencia substancial con lo observado en los perros.

**LEPUS CUNICULUS. I, II, III y IV. Conejos. (fig. 10).**—En los cuatro casos examinados no pudo apreciar el autor ninguna diferencia de relieve con lo observado normalmente en los équidos.

**CONCLUSIONES.**—En los animales domésticos, contrariamente a lo que aseguran algu-

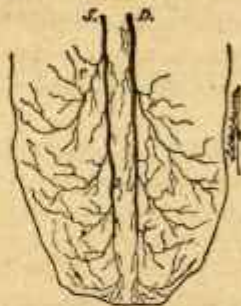


Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.

nos anatómicos, las arterias linguales, en su terminación, no se anastomosan por inoculación, exceptuando solamente un mulo en el cual se notaba tal anastomosis, pero con ramitos delgadísimos.

Las arterias linguales, en su terminación, persisten independientes entre sí; existen únicamente anastomosis entre los capilares, con excepción del cerdo, en el cual, dichas arterias se unen por convergencia, dando origen a un tronco destinado a la punta de la lengua.

*En los équidos, en el buey y en el conejo, las arterias linguales se terminan por dos ramos: uno superior y otro inferior, que se distribuyen en la parte libre de la lengua.*

*En los pequeños ruminantes, y a veces también en el buey y frecuentemente en los équidos, una sola arteria lingual llega hasta la extremidad anterior de la lengua, quedándose la otra a cierta distancia de ella.*

*En la oveja, en la cabra, y especialmente en el cerdo se notan anastomosis transversas entre las arterias linguales. Esto se verifica por excepción en los équidos.*

*En los carnívoros las arterias linguales llegan, cada una por su propio lado, hasta la punta de la lengua muy adelgazadas, por haber suministrado muchos ramos colaterales, de los cuales los externos son los más gruesos.*

**L. CERVERA.—DEMOSTRACIÓN DE LA PRESENCIA DE UN FERMENTO PROTEOLÍTICO EN LA BILIS DEL PERRO.—***Treballs de la Societat de Biologia*, IV, 17-20, 1916.

En el curso de las experiencias hechas en colaboración con Dalmau sobre la característica del fermento del embarazo, tuvo el autor la idea de aplicar el método histológico al estudio de las propiedades de la bilis, recogiendo observaciones muy interesantes, de que se hace eco de nuevo en el notable trabajo suyo que publicamos como editorial de este mismo número. Estas observaciones las ha comprobado el autor repetidamente; pero como los hechos que de ellas se desprenden son de gran trascendencia, no se atreve a sentar bases definitivas y por eso considera su estudio como una nota previa.

Repasando la bibliografía ha encontrado que son contadísimos los autores que hablan de fermentos en la bilis, y los que lo hacen solamente dicen hay en ella una antimucinaasa (Roger); Jacobson cree haber encontrado un fermento diastásico; von Wittich sostiene también que la bilis posee una diastasa de acción sobre los hidratos de carbono, y, finalmente, Tehermak dice que en la bilis acabada de extraer hay un fermento triptico que se destruye rápidamente. Todos los hechos aportados para esclarecer la finalidad encomendada a la bilis en el momento de la digestión parecen concluir con la afirmación de que la bilis sólo actúa físico-químicamente.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, procedió el autor a sus experiencias, a cuyo efecto recogió, en un tubo de ensayo completamente estéril, la bilis de un perro acabado de matar, cuya operación es indispensable realizarla con toda asepsia. De la bilis recogida tomó: 1.º, un c. c. en un tubo en el cual introdujo previamente 5 c. c. de agua destilada hervida y ligeramente alcalinizada, a fin de que la bilis se diluyera mejor; 2.º, otro c. c. en otro tubo que contenía los mismos elementos que el anterior, pero que, después de agitar bien el contenido, se dejaba en el baño maría unos treinta minutos a 85º; 3.º, cinco c. c. de bilis en otro tubo, y 4.º, otros cinco c. c. en otro, que, como el segundo, se sometió a 85º. En cada uno de estos tubos se introdujo un corte histológico hecho con el microtomo y adherido al cubre-objetos siguiendo la técnica de Dalmau, o sea, el trozo de tejido se endureció con parafina, una vez fijado con alcohol, y los cortes adheridos al cubre-objetos se sometieron a baño sucesivos de xilol o de toluol, para disolver la parafina, se les dejó después en alcohol absoluto, para separar el xilol y para esterilizarlos, luego se les lavó en agua hervida y, por último, se les cogió con una pinza esterilizada y se les echó en los tubos. El tejido de que se sirvió el autor fué el hepático de perro normal. Los tubos se dejaron a la estufa durante veinticuatro horas a la temperatura de 37º y después se extrajeron las preparaciones y se colorearon con hematoxilina y eosina.

Los resultados que obtuvo el autor fueron los siguientes: en las preparaciones que estuvieron sumergidas en los tubos 1.º (*bilis diluida y alcalinizada*) y 3.º (*bilis sola*) había caracteres evidentes de digestión, mientras que la preparación que estuvo sumergida en el tubo 2.º (*bilis diluida y alcalinizada sometida a 85º, durante treinta minutos*) estaba poco modificada, y la que estuvo sumergida en el tubo 4.º (*bilis sola calentada a 85º durante treinta minutos*) aparecía intacta. De estos resultados cree el autor que se puede convenir que en la bilis hay un fermento proteolítico que se destruye a 85º y que se manifiesta activo hasta pasados ocho días después de la extracción.



**A. GALLI.**—ALGUNAS CONSIDERACIONES HIPO-MECÁNICAS SOBRE EL APARATO DE SUSPENSIÓN.—*Il nuovo Ercolani*, XVIII, 253-258, 31 de Mayo de 1913.

Según Goyau, Brambilla y Legmoine, el ángulo metacarpo-falangiano sería de 158°, mientras que, según Smidt-Mulheim, Roloff, Zürn y otros, sería de 140°. El autor, de acuerdo con el profesor Vachetta, cree que estos números representarían un promedio, que le inspira poca confianza.

Un teorema de estática animal—cuya demostración puede darse con la trigonometría, pero que al autor le parece más simple hacerlo geométricamente—dice que el ángulo formado por la articulación de los dos radios óseos de un miembro debe ser siempre igual a la suma de las inclinaciones de ambos radios.

Si se tira una línea (fig. 1) paralela al suelo en que se apoya el pie, cuya línea pase por el centro de la articulación del menudillo, el eje metacarpiano forma con ella dos ángulos rectos a y b; el ángulo inferior c, o sea el constituido con el eje falangiano, deberá ser de 63°, porque es igual al ángulo metacarpo-falangiano menos un ángulo recto:

$$158^{\circ} - 90^{\circ} = 68^{\circ}$$

pero tal ángulo deberá ser necesariamente igual al ángulo que el eje falangiano forma con el suelo, ya que son ángulos alternos. Como el autor admite que tal ángulo es de 63°, resultará:

$$90^{\circ} + 63^{\circ} = 153^{\circ} \text{ y no } 158^{\circ}$$

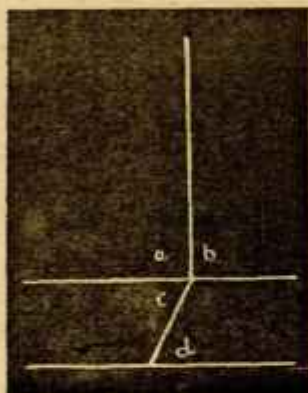


Fig. 1.

Gravitando sobre los menudillos todo el peso del cuerpo, porque el ángulo formado por ellos no se cierra, y el animal no apoya sobre el suelo toda la cara posterior de la región falangiana, se producirá una contracción enérgica y continua de los vientres musculares de los flexores de las falanges, lo cual requiere un esfuerzo y, por lo tanto, un consumo notable de sustancias proteicas. A obviar esto contribuyen, en los miembros anteriores, la robustísima brida carpiana y la radial, las cuales sujetan los tendones flexores profundo y superficial, como hacen la brida tarsiana y las expansiones con que el flexor superficial se fija a los lados de la cabeza del calcáneo en los miembros abdominales. De tal modo, y con el órgano de Ruini, se constituye el admirable aparato de suspensión del menudillo.

Ahora bien, en estado fisiológico, ¿cuál es la parte de las presiones que corresponde a los huesos, y cuál a los tendones?

Considérese un caballo de 400 kilogramos, y supóngase que tal peso se distribuye en partes iguales sobre los cuatro miembros. Si las falanges fuesen verticales, se formaría un ángulo de 90° con el suelo, y el aparato de suspensión sería superfluo, porque toda la fuerza se distribuiría sobre el eje falangiano y, por lo tanto, sobre los huesos.

Pero como hay que considerar que dicho ángulo es de 63°, se puede establecer la siguiente proporción:

$$100 : 90 :: X : 63$$

de la cual se obtiene, averiguando el valor de X:

$$X = \frac{100 \times 63}{90} = 70 \text{ kgs.}$$

el peso sostenido por las falanges. Por consecuencia, el aparato de suspensión soporta los otros 30 kilogramos. Se puede, pues, decir, para mayor sencillez, que el  $\frac{63}{90}$  del peso que gravita sobre cada miembro es sostenido por las falanges y que el aparato de suspensión sostiene el  $\frac{27}{90}$  restante.

Mientras las presiones soportadas por el eje falangiano se transmiten directamente del suelo, las que sufre el aparato de suspensión se transmiten a los huesos, pero en tiempos sucesivos, por estar a diversa altura la unión de los órganos de dicho aparato con el esqueleto del miembro.

Tanto las inserciones superiores como las inferiores, transmiten a los huesos igual cantidad de reacción, según demuestra el siguiente sencillo experimento (fig. 2): Una barrita de madera, articulada en C, representa el eje metacarpo-falangiano. En cada una de



Fig. 2.

las dos puntas de la barrita se coloca un dinamómetro *u* y se unen los dos entre sí por un cordoncito de seda, que pasa por la garganta de una polea *E*, que representa los sesamoideos superiores. Disminuyendo el ángulo metacarpo-falangiano, se extiende el cordoncito, y observando los dinamómetros se aprecia que los dos marcan el mismo número de kilogramos.

El autor considera de gran importancia conocer cómo debe distribuirse fisiológicamente el peso del cuerpo entre el eje falangiano y el aparato de suspensión del menudillo, pues así podrían corregirse, con sólo igualar los pies y con las herraduras, muchos defectos de aplomo, evitando los perjuicios consiguientes. Por desgracia, no se ha podido llegar aún a un acuerdo en esta cuestión, porque se interpretan de diversa manera las relaciones del eje falangiano con los varios agentes mecánicos del aparato de suspensión.

En opinión del autor, exceptuando únicamente el extensor anterior, que en casos rarísimos puede estar llamado a sostener presiones, el papel de los extensores es simplemente el de antagonista de los flexores, y así es como se obtiene el equilibrio también en la estación. Los tendones flexores son los que más especialmente pueden sufrir un aumento de presión en circunstancias más o menos graves, y, sobre todo, en los caballos de andadura muy abierta, en los cuales, al golpear el suelo con mayor violencia con el pie, se produce un gran descenso del menudillo, que origina un aumento considerable de la presión sobre los tendones flexores.

En fin, como resumen de sus observaciones y experiencias, concluye el autor que los esfuerzos tendinosos de origen mecánico, mientras se observan con frecuencia en los miembros anteriores, son bastante raros en los miembros posteriores; que los miembros anteriores, que soportan los  $\frac{1}{3}$  del peso del cuerpo, son especialmente agentes de sostenimiento y amortizadores, mientras que los miembros posteriores, que soportan sólo los  $\frac{1}{3}$  del peso del cuerpo, son, sobre todo, agentes impulsores; y que, en los casos de andadura muy abierta, el descenso del menudillo, y la fatiga consiguiente, es siempre menor en los miembros posteriores que en los miembros anteriores.



**A. HUERTA.**—PROCEDIMIENTO SENCILLO DE REACCIÓN DEL COMPLEMENTO.—*Revista de veterinaria militar*, III, 164-168, Diciembre de 1917.

«En un trabajo publicado en *El Monitor de la Farmacia*, y en su sección de Química clínica, leemos:

«El objeto principal de los autores consiste en sustituir la reacción de Wassermann, de una técnica delicada y complicada, por un procedimiento sencillo, al alcance de todos los que se dedican al Laboratorio.»

Se trata de hallar un método químico fácil de reacción serológica para diagnosticar la sífilis sin recurrir a la fijación del complemento. ¡Es lástima que este intento no haya sido coronado por el éxito! Siempre es plausible el progreso de la ciencia.

La razón de que sea complicada la operación, no es muy imperiosa; demostración al canto.

Muchos investigadores se han esforzado por simplificar el procedimiento original, se ha escrito no poco respecto al asunto y sobre tanto hecho, que no hemos de criticar, ¿que importa la descripción de un método más, no sabemos si descrito ya en alguna otra Revista?

Como no somos autores del método que recomendamos, no es inmodestia ponderarlo y calificarlo de sencillo y seguro, dentro de lo que puede esperarse de estas reacciones. No hay tanta complicación como supone el autor del párrafo transcrito.

En el Instituto de Higiene Militar de Madrid hace cerca de cinco años que se aplica la reacción de fijación por el mismo procedimiento que sigue el sabio biólogo Dr. A. Casares, para la sífilis, sin más cambio que el del antígeno correspondiente y el relativo al suero del enfermo y cantidad de dicho elemento, sobre lo que hemos de insistir con el producto de nuestra observación.

Uno de los inconvenientes de la práctica de la reacción, cuando se pretende hacer siguiendo los métodos descritos en la mayoría de los libros (no siempre escritos sobre la mesa del laboratorio, después de practicado aquello que se trata de describir) es el de la medición de décimas de centímetro cúbico, aunque se disponga de pipetas graduadas; pues bien, este inconveniente se salva haciendo pipetas con tubo de cristal que se estira reblandecido por la llama. Con un poco de práctica se logra hacer pipetas que den gotas, con las cuales en número de 29 o 30 se completa un centímetro cúbico en una probeta graduada. Contando tres gotas con estas pipetas, tendremos una décima de centímetro cúbico, y si procuramos que no se moje el algodón de la pipeta, caso de ponerla, ni la yema del dedo que la obtura, lograremos que por simple movimiento de rotación caigan las gotas lentamente y puedan ser contadas con seguridad.

Si tenemos valorados los elementos no se necesitarán más que cinco tubos por cada reacción: tres para que ésta sea cuantitativa y dos como testigos del suero del enfermo.

Supongamos que nos hallamos en un sitio alejado de Madrid y contamos únicamente con un elemento remitido por el Instituto: suero hemolítico, y con tubo de cristal para pipetas. Pues bien; en cualquier botiquín de cuartel (regularmente atendido) hallaremos tubos de ensayo, una lámpara de alcohol, una cacerola para improvisar un baño de maría, un termómetro, algunos frascos y, a falta de perlas de vidrio, unas chinias o guijarritos.

Como nuestros compañeros conocen perfectamente la reacción, sólo vamos a describir el «modus faciendi», sencillo y económico.

Para la primera parte necesitamos: suero del enfermo, complemento y antígeno. Nadie

ignora cómo se obtiene el primero; sólo hay que advertir que este suero separado en un tubo de ensayo debe someterse durante veinte minutos a la temperatura de 58° en el baño maría.

El segundo elemento se obtiene cloroformizando un conejillo de Indias, al cual se le abre una ventana en la cavidad torácica, por ella se introducen las tijeras para cortar los vasos pulmonares y se extraen los pulmones; por dicha ventana se mete una pipeta y con ella se obtiene, por succión, la sangre que ha inundado la cavidad mencionada. Esta sangre se vierte en un tubo y se deja coagular.

Las sangrias del caballo y del conejillo de Indias, deben efectuarse: aquella con la anticipación que se quiera, y ésta la víspera de la reacción. El suero del conejillo tiene gran cantidad de complemento a las veinticuatro horas de matar al animal.

Si se trata de investigación muermosa, el antígeno que usamos es la maleína diluida, preconizada para la maleinización clásica y que reglamentariamente existe en todas las unidades montadas. Si investigamos la existencia de durina, será preferible pedir al Instituto el antígeno preparado y valorado.

Para la segunda parte de la operación necesitamos el suero hemolítico, cuya preparación es algo delicada y preferiremos que nos lo den hecho; por eso hemos empezado diciéndolo que suponíamos ya su posesión. También es preciso disponer de la mezcla de hematíes con agua salina, y tampoco es difícil obtenerla.

Enviaremos al Matadero un frasco hervido en el cual se metió un puñado de perlas de vidrio, cuentas de rosario o guajarritos bien lavados con agua salina y se ordena que en el momento de recoger unos 50 c. c. de sangre de oveja, según cae de la degolladura, se agite durante diez minutos, aproximadamente, con el fin de que las perlas desfilbrinen la sangre. Llegada ésta a nuestras manos, se vierte en un tubo grande de ensayo o en una probeta, alguna cantidad de sangre desfilbrinada, procurando no caiga ningún coágulo, y se mezcla con un doble o más de su volumen de agua salina; se agita bien y se deja reposar durante veinticuatro horas, al cabo de las cuales veremos los glóbulos sedimentados. Se separa el líquido que sobrenada aspirando con pipeta y, por medio de probeta graduada o jeringa de inyecciones, se miden los centímetros cúbicos necesarios para que resulten en la proporción de cinco por ciento de agua salina.

Como se comprenderá, la sangre de oveja se recogerá la víspera del día que hayamos de trabajar, y suponemos que se carece de centrifugadora.

Sería ofender a nuestros lectores si los indicáramos que el agua salina no es más que agua destilada con 8,5 de cloruro sódico por 1.000 de aquella.

Un dato que precisa conocer es el valor de los elementos manejados. La maleína corriente nos representa, casi siempre, su unidad en una gota; el suero del enfermo, en la reacción aplicada al muermo, debe usarse a la dosis de tres gotas y el complemento en igual cantidad, la mayoría de las veces; en alguna tiene más poder y puede usarse a dos gotas, y más rara vez ocurre lo contrario obligando al empleo de cuatro; para mayor seguridad debemos hacer la valoración previa, que es sencilla. En el Instituto Militar de Higiene se efectúa una hora antes de practicar las reacciones.

Se preparan 4 tubos con 2 c. c. de agua salina y uno de la mezcla de hematíes al 5 por 100 en cada uno, más otro igual, como testigo, sin número. Se añaden las gotas suficientes de suero hemolítico en los cuatro primeros y se deja sin el el testigo para ver si el complemento hemoliza por sí solo. Se agrega el complemento en cantidad igual de gotas que el número de orden de los tubos, y una gota en el testigo. Después de media hora a 37° aparecerá la disolución completa de hematíes en algunos tubos, tomando el li-



quido un color guinda transparente; si el fenómeno aparece en los tubos 3 y 4, quedando los otros con su color primitivo, veremos indicada la dosis por el tubo 3 en tres gotas.

**TÉCNICA.**—Primera parte. Numerados 5 tubos y marcados por su nivel a la altura correspondiente a 2 c. c., se enjuagan con agua salina y se les añade los elementos por el orden y proporción siguientes: suero del enfermo, tres gotas en cada uno; complemento, nada en el primero, y la dosis correspondiente, según la valoración obtenida (tres gotas, casi siempre), en cada uno de los demás; y antígeno. Sobre éste, hemos de advertir que, tratándose de una reacción cuantitativa, la dosis irá en aumento para apreciar el poder de fijación del suero al complemento en relación con su antígeno; por tanto, pondremos las siguientes gotas: dos en el primer tubo, nada en el segundo, una en el tercero, dos en el cuarto y tres en el quinto. Complétense después los volúmenes con agua salina hasta la señal de los 2 centímetros cúbicos.

La mezcla de todo el líquido debe hacerse tapando la boca de cada tubo con la yema de distinto dedo e invirtiendo el tubo dos o tres veces. De este modo no se formará espuma. Manténganse los tubos en el agua caliente a 37° durante una hora (suponemos que se carece de estufa), para efectuar la segunda parte.

Está calculado el tiempo de una hora como suficiente para que el complemento pueda fijarse al suero y al antígeno, si entre estos dos elementos hay afinidad. Transcurrido este tiempo, incorporemos el sistema hemolítico. No hay más que agregar a cada tubo un centímetro cúbico de la mezcla de hematies y agua salina y poner también en cada uno la dosis de suero hemolítico indicada en la marbeta del frasco. Las diluciones de este suero suelen hacerse de forma que la dosis sea de 0,1 c. c., o sea tres gotas.

Se vuelven los tubos al baño a 37° y al cabo de una hora se comprende ya la fijación del complemento por aparecer la hemólisis en el tubo número 2. No siempre la reacción termina en este tiempo, pero no hay inconveniente en dejarla a la temperatura de la habitación (si no es inferior a 15°) hasta veinticuatro horas después; entonces se formará juicio diagnóstico examinando los tubos; estos presentarán: el primero, sedimentación globular y líquido claro (es prueba de que el suero del enfermo no hemoliza por sí solo); el segundo, hemólisis completa (demuestra que el suero del enfermo no fija el complemento por sí solo); el tercero, el cuarto y el quinto pueden aparecer con líquido claro y glóbulos sedimentados como el primero, en cuyo caso la reacción es fuertemente positiva o con +++; si este fenómeno ocurre en dos de los tubos, se dice que es positiva o con ++; y si sólo se presentan en uno, es débilmente positiva o con +; por último, si los tres tubos presentan hemólisis, como el segundo, la reacción es negativa y el animal no padece la enfermedad que se investiga.

**Advertencia:** si el enfermo, padezca muermo o no, ha sido maleinizado recientemente, la reacción puede ser confusa y errónea; si el animal sufre un estado parasitario grande, con eosinofilia consecutiva, puede su suero fijar el complemento por sí solo, lo cual se acusa en el 2.º tubo, y dar como positiva una reacción que no debe confirmar el diagnóstico; y si se sospecha la existencia de grandes trastornos hepáticos, pudiera también ocurrir fenómeno análogo; es raro, pero debe tenerse presente, porque pudiera ocurrir.

Nuestra corta experiencia nos indica que la cantidad de suero (del enfermo) que debemos emplear cuando investigamos el muermo, debe ser únicamente de 0,1 c. c., o sea tres gotas. No nos explicamos bien, por qué razón, si tratamos de la durina, podemos emplear cuatro o cinco gotas sin correr el riesgo de una fijación falsa del complemento; es más, venimos observando que las reacciones de durina son más claras y rápidas en su evolución.

Volviendo a lo que nos propusimos demostrar, diremos que con este método no hay más que dos elementos cuya distribución nos haya de preocupar y obligue a saber de memoria: el complemento, que no pondremos en el primer tubo, y el antígeno, que lo suprimiremos en el segundo, y cuya dosis aumentaremos gradualmente en los tres tubos siguientes. ¿Es esto difícil?

Creemos que no. Si hemos acertado a explicarnos con claridad, cualquier compañero podrá comprobarlo teniendo delante estas cuartillas de un modesto aficionado.

## Terapéutica y Toxicología

H. D. BERGMAN.—ANESTÉSICOS.—*Journal of American Veterinary Medical Association*, en *The Veterinary Journal*, 140-141, Abril de 1917.

Resulta satisfactorio que la anestesia, tanto general como local, vaya entrando en la práctica de la profesión Veterinaria.

El cloroformo es, naturalmente, el anestésico general que da mejores resultados en los grandes animales, siempre que se emplee convenientemente.

Según las observaciones hechas en su hospital hipico por el autor, el tiempo necesario para que en los équidos se establezca la anestesia es de doce a quince minutos, durando de veinte a treinta, y la cantidad de cloroformo que hace falta es, por término medio, de unas 4 onzas, empleando el método de administración en gotas.

El procedimiento que sigue el autor en los perros, consiste en administrar de uno a dos granos de morfina hipodérmicamente unos veinte minutos antes de la operación. Unas pocas inhalaciones de cloroformo pondrán al animal en un estado completo de anestesia. El periodo de reposición es generalmente de cuatro a cinco horas.

Ha empleado también las inyecciones rectales de hidrato de cloral en cerdos, a veces seguidas de algunas inhalaciones de cloroformo, pero de ordinario, no. La dosis de cloral es de 1 y  $\frac{1}{2}$  a 2 dracmas (la dracma tiene  $\frac{1}{8}$  de onza) por 50 libras de peso. El cloral, a causa de sus propiedades irritantes, debe ser enmascarado, disuelto, por ejemplo, en 4 onzas de algún aceite fijo o de glicerina. Aun cuando esto no da una anestesia completa, los resultados son muy satisfactorios. Veinte a treinta minutos deben transcurrir hasta el momento de operar.

Con respecto a los anestésicos locales, la cocaína, la estovaina y el alipin llenan la mayoría de las indicaciones en Veterinaria. En 1916 se empleó el alipin en grande escala y parece que posee todas las ventajas de la cocaína sin sus inconvenientes. Es generalmente empleado en la cirugía regional en solución al 5 por 100, notándose la acción en unos cinco minutos y continuando igual que la cocaína. Se le puede combinar con la solución de adrenalina muy ventajosamente. Con su empleo no se han observado síntomas de intoxicación, ni dolor, ni necrosis de la piel en el sitio de la inoculación.

W. A. WITHERS Y OTROS.—ESTUDIOS SOBRE LA INTOXICACIÓN POR LA HARINA DE GRANO DE ALGODÓN.—*Journ. biol. Chem.*, y *Journ. agri. Research.*, en *Recueil de Médecine vétérinaire*, XCII, 418-419, 15 de Julio de 1916.

Los autores han publicado, desde 1913, tres Memorias sucesivas sobre el envenenamiento por la harina de algodón, que está a la orden del día, especialmente en América.

1.º Administrando con la sonda un filtrado concentrado de harina de algodón cruda, puesta a digerir un día en la pepsina o la pancreatina, han comprobado generalmente



efectos tóxicos en los conejos; pero la cantidad empleada correspondía a 15-30 veces la que habitualmente toman estos animales.

La ingestión de ácido pirofosfórico, en cantidad equivalente a la cantidad de fósforo (calculada en  $P_2O_5$ ) existente en el extracto de harina, era también tóxica. Sin embargo, una cantidad de harina que contenía una proporción no tóxica de ácido pirofosfórico, resultó tóxica, lo que prueba que el ácido pirofosfórico no es la causa de la toxicidad de la harina de algodón.

2.ª Una segunda serie de investigaciones les había conducido a los autores a la hipótesis de que el principio tóxico estaba constituido por un agrupamiento de la molécula proteína conteniendo azufre en combinación inestable, que ejercería un efecto tóxico sobre el hierro de la sangre.

Esto les impulsó a investigar si el hierro (administrado bajo la forma de citrato de hierro y de amoníaco) no obraría como antídoto, reconociendo que los conejos así tratados podían consumir cerca de cinco veces la cantidad media de harina que provocaba la muerte de los sujetos no tratados; que los primeros habían presentado una supervivencia más de tres veces mayor que la media de los segundos y cerca de dos veces que los más resistentes de entre ellos, y, en fin, que todos los conejos tratados con hierro, ganaban en peso, mientras que los otros perdían. Los 22 conejos alimentados con harina de algodón sin hierro habían muerto todos a los quince días, por término medio; los 11 tratados habían sobrevivido todos.

3.ª Finalmente, Withers y Carruth han estudiado la acción del *gossypol*, substancia aislada primero por Marchlewsky del aceite de grano de algodón y considerada por él como una substancia tintorial de porvenir. La han extraído de la almendra del grano y la han encontrado dotada de propiedades tóxicas. Empleando el éter etílico como disolvente, la evaporación del éter deja un producto llamado «extracto de gossypol». Un producto más puro, el «gossypol precipitado», se obtiene añadiendo gasolina a la solución etérea, y un producto cristalizado, el «acetato de gossypol», precipitándola por el ácido acético.

El gossypol se ha demostrado fatal para los conejos, sea inyectado en el peritoneo bajo la forma de extracto o de acetato, sea ingerido a alta dosis bajo la forma de extracto, sea, en fin, ingerido a pequeñas dosis cotidianas bajo la forma de extracto, de precipitado o de acetato. La dosis letal mínima, en inyección intraperitoneal, era de 24 centigramos de acetato por kilogramo de peso vivo.

El gossypol forma un producto de oxidación que no es tóxico. Las almendras se convierten en menos tóxicas por la extracción parcial del gossypol y en atóxicas por una extracción más completa. Los métodos propios para hacer desaparecer la toxicidad deben, pues, reposar sobre la extracción del gossypol o sobre su transformación en una substancia inerte por oxidación o por precipitación.

### **Inspección bromatológica y Policía sanitaria**

**C. SARTI.—CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LAS CARNES CONSERVADAS.—***La Clínica veterinaria*, XL, 605-607, 31 de Octubre de 1917.

De sus estudios sobre la riqueza bacteriana de esta clase de carnes ha llegado el autor a las siguientes conclusiones:

- 1.ª Todas las carnes conservadas tienen un gran número de gérmenes.
- 2.ª El contenido bacteriano es mayor en las carnes recientemente preparadas y más

escaso en las de antigua fabricación y bien conservadas. En éstas, la parte central contiene un número menor de gérmenes que la parte periférica: esta diferencia no es apreciable en las carnes de reciente preparación.

3.\* Los gérmenes más importantes que suelen encontrarse en las carnes conservadas son el b. coli y el b. protei, que se encuentran muy virulentos para los animales de experimentación.

4.\* Además del b. coli y del b. protei, las carnes conservadas pueden contener gérmenes del grupo del b. paratífico B, los cuales provienen seguramente, sin excluir otras causas fortuitas, de carnes de animales atacados de enfermedad.

5.\* Los gérmenes pertenecientes a los grupos del b. coli, del b. paratífico B, del b. enteritidis de Gärtner y del b. protei pueden mantenerse en las carnes conservadas vivos y virulentos durante tres meses.

6.\* Los gérmenes de dichos grupos no producen en las carnes conservadas ninguna alteración, ni en la parte muscular, ni en la parte grasa.

7.\* En las carnes conservadas examinadas no se encontraron sustancias antisépticas; por el contrario, del lado químico, aparecieron siempre perfectamente normales.

8.\* La carne de caballo fué encontrada fraudulentamente dos veces de cincuenta carnes examinadas.

C. J. MARSHAEL.—POSIBILIDADES Y LIMITACIONES EN EL CONTROL DEL ABORTO CONTAGIOSO.—*American Journal of veterinary Medicine*, XIII, 157, Marzo de 1917.

En la imposibilidad de extractarlo, a continuación damos las conclusiones de este interesante trabajo:

1.\* De las observaciones prácticas, podemos concluir que es muy conveniente en los establos donde se han dado casos de esta enfermedad y donde se mantienen animales receptibles, desinfectar el establo con frecuencia; una vez a la semana, por lo menos.

2.\* Los cuartos posteriores de los animales susceptibles, que no están en gestación, serán lavados una vez al día con un antiséptico conveniente.

3.\* Durante la gestación se observará el animal con todo cuidado, y si se aprecian síntomas de aborto o se ven abortos accidentales, antes de apreciarse manifestaciones, debe aislarse inmediatamente este animal y mantenerlo así mientras haya derrama. Este es el momento adecuado para tratar el útero, y el tratamiento debe hacerse por persona que sepa hacerlo. Tres curas, dejando una semana entre cada una, son suficientes si se emplea el remedio adecuado y se aplica convenientemente.

4.\* Es un hecho adquirido que la enfermedad se propaga principalmente por medio del canal digestivo: el material infectante procede del aparato genito-urinario del ganado infectado.

5.\* Los arroyos, albañales, etc., son especialmente peligrosos. Deben limpiarse y desinfectarse todos los días. Se tendrá mucho cuidado en evitar que con el uso de escobas, horcas, palas y zapatos de mozos de cuadra se lleve la infección desde la línea de detrás de las vacas al alimento o al pesebre. También se prestará atención especial a la pronta separación del feto abortado, de la placenta fetal y del abono que se ha contaminado, que se asepticarán tan pronto como sea posible o se les extenderá en los campos y se les enterrará arando encima de ellos. El toro se desinfectará debidamente antes y después de cada servicio.



## Afecciones médicas y quirúrgicas

**PROFESOR G. FINZI.**—PARENSIA OSTEOMALÁCICA EN UNA MONA JOVEN Y OSTEOMALACIA.—*La Clínica veterinaria*, LX, 301-314, 15 de Junio de 1917.

Esta mona había mostrado, diez y ocho meses antes de examinarla el autor, algunos trastornos locomotores, gastando mucha energía muscular en moverse. Al principio estaba alegre y era muy vivaz, pero después fué quedando poco a poco en estado inerte. Se la encontraba siempre en un decúbito especial, con los miembros posteriores flexionados bajo los muslos y los muslos bajo la pelvis, y con los miembros torácicos cruzados casi constantemente bajo el pecho. El animal no estiraba estos miembros para coger los ali-



En esta figura se aprecian bien las notables curvaturas de las tibias y de las fémures. Las curvaturas de los húmeros, y también las de los fémures, se redujeron mucho por las tracciones ejercidas con los lazos que se utilizaron para fijar al animal.

mentos, por el mucho dolor que esto le producía, pero se los llevaba fácilmente a la boca cuando los tenía cerca.

Las funciones digestivas no estaban perturbadas en nada y los sentidos y la voz no habían sufrido modificaciones apreciables. Las mucosas aparentes estaban anémicas y las glándulas y los ganglios explorables se presentaban de consistencia y de volumen normales. El pulso era algo frecuente, pero la temperatura rectal no era febril y la temperatura cutánea estaba normalmente distribuida. Las masas musculares se encontraban en un estado ligeramente hipertónico, y tan hiperestésicas que el menor contacto con ellas provocaba un dolor vivísimo.

En los huesos había notables alteraciones de forma: eran muy blandos y con pocos

esfuerzos se plegaban en todas las direcciones. Los huesos del cráneo eran muy blandos, que a la palpación parecía que se apretaba una pelota de goma. También los huesos del tórax estaban blandos y deformados, con la clavícula y el esternón arqueados hacia adelante. Los huesos de los miembros locomotores eran de una plasticidad increíble, los cuerpos vertebrales enormemente blandos y la pelvis deformada en el sentido de las presiones del fémur. Esto unido a la deficiente funcionalidad de los músculos, permite al autor hablar de una parésia osteomaláica. Por el examen radioscópico, además de las curvaturas anormales, de las torsiones y de las deformaciones propias de cada hueso, se observó la gran transparencia de todos los huesos del esqueleto, consecutiva a rarefacciones del tejido óseo: solamente la última vértebra coxígea tenía una transparencia normal.

Los ojos eran muy vivaces y las pupilas iguales y normales, sin ofrecer ninguna reacción ni a la luz ni al dolor. El examen físico del aparato respiratorio y del corazón, poco permitió apreciar, porque el animal no se dejaba tocar sin emitir gritos agudísimos. No tosía; la respiración era un poco frecuente y la prueba de la tuberculina dió un resultado negativo.

En fin, en este animal, por la notable difusión del proceso osteomaláico por todo el esqueleto, el síndrome resultaba tan claro que no era nada dudoso el diagnóstico de la enfermedad, que era un caso típico de osteomalacia infantil, mucho más frecuente en la especie humana que en los animales.

Después de referir esta interesante historia clínica, el autor sigue explicando la osteomalacia en su trabajo, que es una lección clínica pronunciada ante sus alumnos; pero esta parte de su disertación, que es un estudio abstracto de la enfermedad, ya no hay por qué reproducirla aquí, puesto que no aporta hechos nuevos a lo ya sabido sobre la naturaleza y evolución de la osteomalacia.

#### **A. E. BAYLET.**—UN SIGNO DE LA COJERA DE LA RÓTULA.—*The veterinary Record*, 54, 23 de Julio de 1911.

El autor describe una actitud característica de la cojera de la rótula: la articulación de la babilla está abierta en su punta, el ángulo del corvejón ha desaparecido, la cara anterior del menudillo casi toca con el suelo y el miembro entero se aproxima a la perpendicular.

Basta, según el autor, haber visto una vez esta actitud para diferenciarla de la que toma el animal para descansar; la principal diferencia está en que, en este último caso, la articulación de la babilla, en vez de formar un ángulo obtuso, forma un ángulo agudo.

Esta actitud estaría originada por la distensión de la sinovial articular inflamada crónicamente.

### Cirugía y Obstetricia

#### **LENEVEU.**—DE LA REPARACIÓN EN EL CABALLO DE LAS PÉRDIDAS DE SUBSTANCIA CUTÁNEA POR INERTOS DERMO-EPIDÉRMICOS.—*Bulletin de la Société centrale de Médecine vétérinaire*, LXX, 446-452, sesión del 8 de Noviembre de 1917.

I. TÉCNICA.—a. Lavado con éter de la herida que se quiere inertar y de la región al nivel de la cual van a tomarse los inertos. Esta última región se afeitara antes de lavarla con éter.

b. Abrir, entre los botones carnosos de la superficie a inyectar, por medio de una cu-



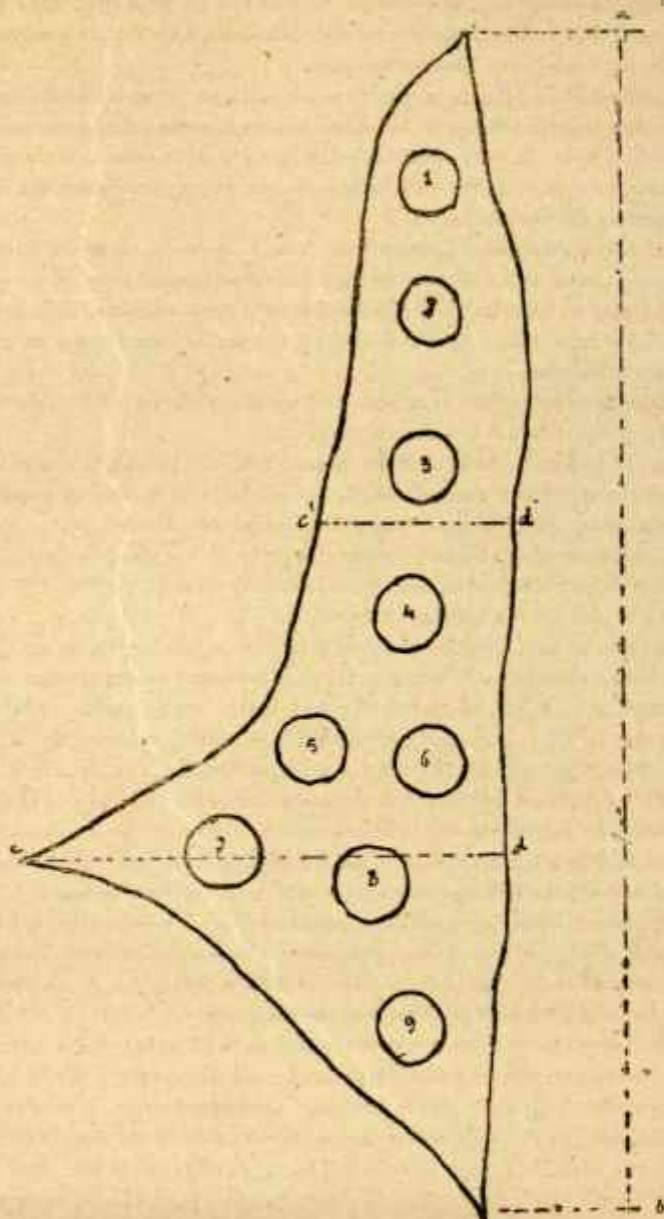


Fig. 1.—Aspecto esquemático de la herida inmediatamente después de la operación, el 3 de Agosto de 1917.

- a. Dimensiones.....  $\left\{ \begin{array}{l} a b = 20 \text{ centímetros.} \\ c d = 8 \text{ centímetros.} \\ e f = 5 \text{ centímetros.} \end{array} \right.$
- b. Diámetro de los injertos: 1 centímetro próximamente.
- c. Distancia que separa los injertos unos de otros: 1 centímetro próximamente.

chilla cortante, un primer hoyito de 8 a 11 milímetros de diámetro, cuyo fondo quede formado por el plano resistente aponeurótico o muscular de la herida y cuyos bordes estén formados por los mismos botones carnosos.

En este primer hoyito, donde la sangre se acumula en seguida, depositar inmediatamente un primer ingerto tomado de la región elegida con una pinza anatómica de dientes y un bisturi de lámina fija y bien cortante. Este ingerto debe tener de 6 a 8 milímetros de diámetro; debe ser dermo-epidérmico, compuesto por el mayor espesor del dermis y por capas epidérmicas de revestimiento.

El bisturi debe cortar transversalmente el dermis, dejando, después de su paso, una superficie blanquecina de la cual rezuman gotitas de sangre. El ingerto así preparado se tiene en la pinza y se deposita en el hoyito dispuesto para recibirle. Una vez que el ingerto queda en el hoyito, la sangre se coagula y el coágulo formado fija en el sitio el ingerto que va a alimentar.

Para continuar la operación, se excava un segundo hoyito, y así sucesivamente, hasta que la herida quede completamente sembrada.

c. Cuando se ha terminado la siembra, ya no queda que hacer más que cubrir la herida con un apósito, que el autor aconseja así: 1.º En contacto de la herida, superposición de dos hojas de gasa esterilizada por la ebullición en una solución de cloruro de sodio al 5,75 por 1000; 2.º, sobre estas dos hojas de gasa, aplicación de una placa de uata hidrófila aséptica; 3.º, sobre todo, aplicación de una hoja de gasa destinada a mantener el apósito, la cual, se fija a la piel por sus bordes con colodión.

Siguiendo esta técnica, practicó el autor el ingerto en una herida de un caballo, cuya herida, que estaba situada entre la punta del anca derecha y la articulación coxo-femoral, medía: de longitud (*a. b.*), 20 centímetros, y de anchura, 8 centímetros en un punto (*c. d.*) y 3,cm,50 en otro (*c' d'*), lo que significa una gran pérdida de substancia, en una amplia superficie de forma irregularmente triangular, por lo cual, aunque llevaba la herida dos meses sometida a diversos tratamientos, no tenía ninguna tendencia a la cicatrización.

La operación del ingerto en esta herida se practicó el día 3 de Agosto. Los ingertos, en número de 9, fueron tomados al nivel de la región de la babilla correspondiente al lado de la herida y se colocaron según representa el esquema de la figura 1.

II. CUIDADOS Y OBSERVACIONES POST-OPERATORIOS.—En cada cura, la herida recibió los cuidados siguientes: *a*, Limpieza con compresas de gasa esterilizada imbibidas de una solución caliente de cloruro de sodio al 5,75 por 1000; *b*, aplicación de un apósito confeccionado conforme a la técnica precedentemente expuesta.

Se practicaron, desde el 3 de Agosto hasta el 3 de Septiembre, ocho curas, y en cada una se fué observando una progresiva disminución de la superficie de la herida, según puede apreciarse en la figura 2, que representa, esquemáticamente, el estado de la herida, a los once días después de la operación, hasta que al cabo de un mes de tratamiento se observó la epidermización completa de la herida, y, por lo tanto, la curación.

CONCLUSIONES.—Los ingertos dermo-epidérmicos han permitido al autor establecer:

- 1.º La cicatrización en 30 días de una herida que, durante los dos meses precedentes a la operación, se había mostrado absolutamente rebelde a la curación;
- 2.º Una cicatriz flexible y no adherente a las partes subyacentes.





de la operación).

a. Dimensions. . .

4. El cordoncillo epidérmico del borde de la herida ha unido los injertos, con expansión del injerto número 4, que permanece aislado uno, ó milímetros.

c. Los ingeridos se han destacado y producen botones abundantemente.

**D. GARCÍA IZCARA.**—A PROPÓSITO DE LA ABSORCIÓN DEL VIRUS RÁBICO POR LAS MUCOSAS SANAS.—*Boletín del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII*, XIV, 1-5, 31 de Marzo de 1918.

«En el número 4, pág. 183, de este Boletín, publicamos hace años el resultado de nuestras investigaciones encaminadas a demostrar si la conjuntiva y la mucosa nasal intactas, es decir, sanas, dejaban paso al virus rábico.

Para realizar el experimento nos servimos de cobayas y de conejos, y el virus fijo adaptado al conejo común. El virus lísico fué puesto en contacto de las mucosas nasal y ocular durante largo rato, y el resultado negativo en todos los animales sometidos a la prueba me autorizó a decir:

«Para nosotros, las mucosas intactas obran como defensoras orgánicas e impiden que por ellas se absorba el virus rábico; para que la absorción tenga lugar, es preciso que haya una solución de continuidad en el tegumento que deje al descubierto algunas terminaciones nerviosas. Sin esta condición no hay infección rábica por las mucosas. Para que la haya es necesario que en una terminación nerviosa se siembre el virus y por el nervio se propague, hasta llegar a los centros y determinar las manifestaciones propias de la enfermedad. En buen hora que en ciertas mucosas prenda el virus varioloso, porque en el cuerpo mucoso de Malpígio encuentra sus mejores condiciones de vida, y por eso a él va a parar, aun cuando se introduzca directamente en la sangre; pero con el virus lísico sucede lo contrario: para que pulule es preciso colocarle en el sistema nervioso; en otro tejido no halla condiciones de vida; los elementos defensores del organismo lo debilitan y terminan por aislarlo y destruirlo. Cada microbio tiene su terreno en el organismo para prosperar; sembrado fuera de él, o no crece o lo hace pobre y raquíticamente, triunfando casi siempre los elementos y productos encargados de la defensa del organismo.

En el caso presente, basta un roce ligero que determine una excoiación, por pequeña que parezca, del tegumento, para abrir la puerta a la penetración del virus, esto es, para que quede un nervio al descubierto, en donde el agente causal de la rabia pueda tomar asiento, arraigar y multiplicarse, hasta producir la infección con todas sus consecuencias.

Para confirmar esta opinión hemos hecho otro experimento en cobayas y conejos. A tres cobayas hicimos una pequeña herida en la conjuntiva, raspando un poco con una aguja de Reverdin, y después depositamos en el ojo una gota de emulsión virulenta, sin cuidarnos de otra cosa que de sujetar al cobaya unos dos minutos para asegurarnos bien del contacto del virus con la solución de continuidad. A otros tres les pusimos el virus sin previa escarificación: los tres primeros murieron entre el décimotercero o décimoquinto día siguiente a la inoculación; los tres restantes continuaron sin novedad.

Repetimos la prueba en igual número de conejos con idénticos resultados que en los cavia.

En otros seis cobayas y seis conejos probamos comparativamente el método experimental, seguido por mí, y el adoptado por Galli-Valerio y Salomón: a tres conejos y a tres cavia instilamos grandes gotas de virus en ambas narices; a otros tres conejos y otros tres cobayas hicimos que llegase el virus a sus cavidades nasales, frotando en su mucosa con un taponcito de algodón, fijo al extremo de un alambre y empapado de una emulsión concentrada del repetido virus.

El resultado fué concluyente: ninguno de los animales del primer lote tuvo novedad; los seis del segundo sucumbieron dentro del plazo regular.



Ante resultados tan concluyentes ¿se nos podrá negar derecho a creer que cuando el virus rábico penetra en el organismo a través de una membrana mucosa es por hallarse alterada la integridad anatómica del indicado tegumento?».

Estas observaciones nuestras han merecido el honor de ser tomadas en consideración por P. Remlinger, en una nota presentada a la Société de Biologie de Paris, de la que se dió cuenta en la sesión de 10 de Noviembre de 1917.

En esta nota sólo toma su autor en consideración la mucosa nasal, lo que parece indicar hallarse conforme en que por la conjuntiva sana no se absorbe el virus lírico, pero insiste en que por la pituitaria intacta se absorbe en la proporción de 36'66 por 100 de los animales sometidos a la prueba.

El Sr. García Izarra, dice Remlinger, «que ha visto sobrevenir la rabia cuando había traumatizado ligeramente la mucosa nasal, emite la hipótesis de que los cuerpos extraños, los mismos alimentos o restos de ellos, por ejemplo, podrían ser, en los animales inoculados, causantes de pequeñas lesiones que fueran las puertas de entrada a través de la mucosa y constituir causa de error. Para salir de dudas hemos llevado a cabo una nueva serie de experimentos colocando a los animales en condiciones tales, que quedaron al abrigo de esta objeción. El experimento ha sido hecho *sirviéndonos de cobayas y de virus de calle adaptado a este animal, merced a cierto número de pasos por el organismo del mismo*. Los sujetos inoculados fueron puestos en cajas de madera, nuevas, de paredes lisas, y fueron alimentados exclusivamente con vegetales verdes. Los resultados obtenidos han sido los siguientes: de treinta animales sometidos a la prueba, once contrajeron la rabia (36'66 por 100)».

Para Remlinger, la conjuntiva no es mucosa apropiada para absorber el virus lírico. La pituitaria parece ser la única mucosa apropiada para permitir el paso al virus, lo cual viene en apoyo del parecer de Gaucher, que dice: «las mucosas dermo-papilares, revestidas de epitelio pavimentoso, no permiten paso a los líquidos, mientras que las mucosas revestidas de epitelio cilíndrico se dejan penetrar directamente por los humores infectantes».

De cuanto antecede, se deduce que Remlinger y otros muchos experimentadores están conformes en que la *conjuntiva sana* no permite paso al virus rábico, opinión que concuerda con la emitida por nosotros en 1905. En cambio, discrepan de mi sentir en lo que se refiere a la *pituitaria*, ya que Remlinger obtiene en el cobaya 36'66 por 100 de inoculaciones positivas.

Como para rebatir una afirmación experimental precisa exponer hechos experimentales también, llevados a cabo con idénticas condiciones, no podemos, por hoy, contestar al gran experimentador francés por carecer de ese virus adaptado al organismo del cobaya, pero le prometemos hacerlo, siquiera sea para convencernos de que este virus goza de actividad distinta que el virus fijo adaptado al organismo del conejo común.

Por ahora, sólo puedo ofrecer a los experimentadores el resultado de mi nuevo experimento llevado a cabo en seis conejos comunes, jóvenes (cuatro meses), inoculados de virus de calle, adaptado a este animal. Este experimento confirma mis anteriores y da al traste con la ley formulada por Gaucher. He aquí el experimento: El día 30 de Enero del año corriente elegimos seis conejos sanos. Sus hollares no ofrecían nada anormal. En presencia de los auxiliares de este Instituto, y sirviéndonos de emulsión rábica, preparada con masa encefálica y bulbo de un conejo de serie, depositamos, con el auxilio de una varilla de cristal de punta obtusa, dos grandes gotas de virus en cada nariz, gotas que fueron absorbidas en el acto de la inspiración y que por la cantidad debieron lubricar, no sólo

la pituitaria, si que también la mucosa laringeo-traqueal. Estos animales fueron colocados en sus respectivas jaulas de alambre, con cama de paja de centeno. Se les ha alimentado con berzas y hasta la fecha (30 de Marzo) ninguno ha tenido novedad.

¿Obedecerá este hecho a que la pituitaria del conejo posea detalles estructurales que la diferencien de la del cobaya? Creo que no, y me fundo en el resultado negativo que obtuve en los experimentos que hice en cobayas en 1905, con todo género de precauciones, aunque sirviéndome siempre de virus adaptado al conejo y no al cobaya.

¿Dependerá la discrepancia de resultados de la naturaleza de virus lísico que emplea Remlinger? Pudiera ser; mas hasta que dispongamos de ese virus y con él experimentemos, no nos es lícito pronunciarnos ni en contra ni en favor del parecer de Remlinger, en cuanto afecta a la infección rábica del cobaya por la mucosa nasal intacta, pero sí invitamos al experimentador francés a que repita nuestras pruebas en conejos y con virus de serie exaltado para este animal, y se convencerá de la exactitud de nuestras afirmaciones».

## Sueros y vacunas

C. LÓPEZ Y LÓPEZ.—VACCINOTERAPIA. VACUNAS AUTÓGENAS. VACUNAS POLIVALENTES. VACUNAS SENSIBILIZADAS. VACUNAS AUTÓGENAS AUTOCULTIVADAS Y AUTOSENSIBILIZADAS.—*Revista veterinaria de España*, X, 681-705, Diciembre de 1916.

«RESUMEN HISTÓRICO.—La carencia de trabajos experimentales donde recurrir para orientarnos claramente en este moderno e interesante tema de antígeno-terapia y de observaciones propias en número suficiente para formarnos un concepto acabado acerca del porvenir práctico que pueda estarle reservado en las distintas infecciones en que se emplea, nos obliga, como si se tratase de resolver un problema experimental, a guiarnos por consideraciones de índole teórica, por razonamientos nacidos al calor de una reflexión serena acerca del mecanismo en virtud del cual es, o puede ser, un hecho la inmunidad antibacteriana, ora con fines preventivos, ora con fines curativos.

La *vaccinoterapia*, o *vacunoterapia* como dicen otros, tratamiento de las enfermedades por vacunas, parte del supuesto de que, en una infección, particularmente si es de curso crónico, no todos los tejidos se infectan y, como consecuencia, no responden a las excitaciones del agente microbiano invaser con elementos de defensa, perdiéndose por esto en la lucha un valioso concurso. La *vaccinoterapia*, por lo tanto, así considerada, no es otra cosa que una forma de inmunización activa, que procura hacer ésta más completa introduciendo en el organismo mayor cantidad de antígeno, de microbios, de materia excitante, tal vez de materia inmunizante si admitimos otras teorías, sin la cual los tejidos no demuestran las propiedades defensoras suficientes para librarse de los gérmenes microbianos de la misma especie que anidan en una parte de su organismo, mejor que en todo él, pues, en este caso, la introducción de más cantidad, aunque sean muertos, está menos justificada, habida cuenta de que, aun en el caso de haber perdido la virulencia, son tóxicos y reaccionantes.

La *vaccinoterapia* así considerada, cuando se intenta descifrar su origen, lo primero que salta a la vista son los ensayos de *tuberculinoterapia* practicados por Koch y dados a conocer en Agosto de 1890: mas sin pretender restar importancia a estos trabajos, modelo de experimentación biológica, ni a los de Wright, muy posteriores y los verdaderamente fundadores y propulsores de este tratamiento; y, por otra parte, puestos a buscar el origen de la inmunización, que es la base de donde arrancan todos estos descubrimientos,



habría que relacionarle, de un lado, con la vacunación antivariólica de Jenner, más aun con la práctica copiada a los circasianos e implantada en Inglaterra (1721) y las vacunaciones antirrábicas de Pasteur, y, de otro, con los experimentos de Fodor en 1885-87, el cual demostró que las bacterias inyectadas en la sangre desaparecían de ella en un plazo de cuarenta y ocho a setenta horas.

Hay que creer, sin embargo, que el verdadero genio fué Pasteur: lo que después se ha hecho son derivaciones de sus dos descubrimientos cumbres, los cultivos en serie del microbio del cólera de las gallinas, con la atenuación experimentada por el cultivo que dejó algunas semanas y que inyectado provocaba enfermedad e inmunidad posterior, sin matar, y la prevención de la fiebre carbuncosa (1880) por cultivo y atenuación artificial del *Bacillus anthracis*, atenuación llevada al grado deacable y transmisible por herencia. Estos dos descubrimientos fueron el punto de partida de todos, completados por la vacunación antirrábica, tratamiento después de la mordedura, y del estudio de los productos solubles consecuencia de ellos, pues Pasteur creía (Enero del 85), «que el virus rábico debe acompañarse de una materia que impregnando el sistema nervioso, le haría impropio para el cultivo del microbio figurado»; esto es, que el microbio vacunaba por lo que *dejaba*, no por lo que hacía producir, lo cual no ha sido apreciado en su total valor a causa de una derivación de la ciencia por otros derroteros, marcados por las sustancias reaccionales y por las defensas activas.

A estos trabajos hay que añadir, aunque sólo sea como complemento, los de Roux, Chamberland, Iersin Behring, Kitasato, vacunando con productos solubles; los de Pfeiffer y Kolle, con microbios muertos y, por último, los de Wassermann para la blenorragia, Frankel y otros para la fiebre tifoidea y Koch con su tuberculinoterapia.

No obstante, ni estos trabajos ni los anteriores, aguilatando el valor utilizable en vacinoterapia, tienen otro mérito que el de preparadores del camino, pues hasta conocer qué pasaba en el organismo con las bacterias y productos que se inculcaban, mal podía preconizarse fundadamente su empleo con fines curativos: por esto decíamos era probable fuesen las experiencias de Fodor y los descubrimientos de Pasteur y Jenner, el punto de partida del descubrimiento de esta nueva aplicación terapéutica de los conocimientos acerca del mecanismo en virtud del cual se establece la inmunidad, que es, en último extremo, el punto de donde irradian todos los descubrimientos de prevención o curación.

En efecto: es a la inmunidad bacteriolítica (en su mayor parte) a donde hemos de recurrir para explicarnos la acción de la vacunación y de la vaccinoterapia.

Sabemos que inyectando microbios más o menos virulentos, muertos, etc., a un organismo, éste no responde con un suero sanguíneo de ciertas propiedades (pues más conocidas nos son como tales que como cuerpos definidos), de acción antagónica disolvente para el microbio inyectado, del mismo modo que, si se trata de sustancias amorfas, con elementos precipitantes; todo esto lo verifica sin que se resienta, o apenas con ligeros trastornos, el equilibrio que existe en todas sus funciones. Si inyectamos más cantidad, mayor será la producción, pues los tejidos se ejercitan en este trabajo, que hasta ahora creemos se trata de formación de cuerpos nuevos, lo cual hoy pudiéramos no admitir sin discusión, del mismo modo que lo verifica un órgano para una función determinada.

¿En virtud de qué mecanismo? Admítese hoy que fabricando defensas específicas (defensas que ya posee naturalmente?) (bacteriolisinas en parte), anticuerpos, sustancias antagónicas, fermentos, que atacan a la bacteria disolviéndola. (No hacemos mención de defensas morfológicas, fagocitosis, porque, de admitirlas en el grado preconizado por muchos de la escuela francesa, habría que hacerlo partiendo de las nuevas concesiones, fer-

mentos que aquéllos segregan, y sabemos que los tejidos todos son los que gozan de esas propiedades *citáicas* que se preconizaban exclusivas del elemento figurado). Hasta este punto, producción de sustancias líticas, puede haber uniformidad; pero mientras la mayoría creen que aquí se termina el proceso inmunitario, hay algunos, entre los que nos encontramos nosotros, que entienden que este acto de digestión (desintegración molecular) es sólo la primera fase, la fase *sine qua non*, del proceso, pero no la verdadera, que viene después, sea por un mecanismo desconocido o mal interpretado, sea como parece deducirse de los últimos descubrimientos de prevención por el Ovi-serum de Turró y del estudio de los productos solubles, porque tomando la célula y almacenando la materia inmunizante que llevaría el microbio o sustancia vacunante en sí misma, liberada o hecha incorporable, almacenable tal vez, por el acto preparatorio del fermento.

Sea el acto digestivo el único, sean dos las fases del proceso, intervengan o no las opsoninas, sustancias que obrarían sobre las bacterias para que las células las digiriesen mejor, el resultado práctico, que es el único que aquí nos interesa hacer resaltar, es que el organismo se inmuniza tanto más intensamente cuanto mayor sea la cantidad de microbio que recibe, siempre que para esta función no tenga que luchar intensamente, además, con los productos tóxicos pirogénos, etc., resultantes (reacción consecutiva a la inoculación), que le debiliten o aniquilen.

La vaccinoterapia, no obstante, y a pesar de venirse empleando vacunas, desde hacia ya veinte años, en distintas enfermedades, está íntimamente ligada a la teoría de las opsoninas de Sir Almroth Wright (1903), por lo cual y con razón sobrada se la llama también *Método Terapéutico, Terapéutica opsonizante*, o sencillamente *Vacunas de Wright*.

Fué este sabio experimentador quien afirmó el primero que las vacunas inyectadas a organismos enfermos, sobre todo de afección local de evolución crónica, se segulan de un aumento de defensas específicas que podrían sumarse a las naturales y desarrolladas por el microbio en la lucha contra éstos cuando se localizan en regiones de difícil acceso o que, por el carácter de la dolencia, no estimulan suficientemente, a parte de que; si no se les ataca enérgicamente dejándoseles adaptar, llegan hasta inmunizarse, vacunarse, contra las mismas defensas que los tejidos les oponen.

Para él, «el principio fundamental de la vaccinoterapia, es el de explotar, en interés de los tejidos infectados, las capacidades inmunizadoras, hasta entonces no utilizadas, de los tejidos no infectados»; casi vemos aquí una confirmación de la *inmunidad local* de Wassermann.

Como hemos de ocuparnos más adelante de los trabajos de Wright, aunque con poco detenimiento, tan sólo diremos que la vaccinoterapia, así concebida, estriba en la concurrencia de dos factores: abundante formación de defensas por inyección de grandes cantidades de microbios, esto es, por una explotación mayor, en favor del organismo, de la capacidad reaccional de los tejidos que no han sufrido excitación y facilidades para que estas defensas lleguen al foco enfermo, lo cual se consigue actuando externa y localmente con excitaciones que las atraigan.

Como estas inyecciones masivas se segulan de accidentes, a veces graves, todo el esfuerzo se encaminó a evitar la reacción consecutiva a ellas, y, sin embargo de los pocos años transcurridos, se ha llegado a las proximidades del ideal práctico. Sigo haciendo historia.

**VACUNAS AUTÓGENAS Y POLIVALENTES.**—Es forzoso ahora ocuparnos, aunque sea sólo de un modo general, de la clase de microbios más recomendables para la preparación de vacunas con fines terapéuticos.



Desde luego era de sentido común que había que recurrir a bacterias de la misma especie que la causante de la infección. Pero es el caso que, dada la especificidad de las defensas que encontramos en el organismo, dentro de las inoculaciones de bacterias consideradas de la misma especie, y la facilidad con que los microbios modifican algunas de sus propiedades, como en el ya clásico experimento de Rosenau con el *estreptococcus viridans*, que, cultivado en seis diferentes medios, pudo producir varios tipos de enfermedad estreptocócica (endocarditis ulcerativa, úlcera gástrica, reumatismo muscular, etc.), o con lo que pasa con las del grupo coli-fílico, el primero pudiendo vivir en el medio exterior en saprofitismo completo o en condiciones de producir enfermedades variadas en el hombre y animal, y, todavía, con el enterococo, al cual «deben indudablemente referirse enteritis de la infancia aun no bien especificadas algunas fiebres puerperales tal vez, ictericias del adulto, diarreas estivales» (López y González), etc., etc., no es justo dirigirse a una u otra indistintamente, porque unas serán muy virulentas, otras más inmunizantes, de propiedades más fijas, etc.

Para la preparación de vacunas con fines preventivos se preconizaron siempre las razas muy virulentas, y, aunque se ha venido a comprobar que *raza virulenta* no quiere decir siempre raza inmejorable como antígeno, por lo menos en proporción con el grado de virulencia, no siendo posible en muchísimos casos el probar las diversas razas con respecto a sus propiedades inmunizantes, el ideal práctico continúa siendo la vacuna con gérmenes de virulencia exaltada (ya diremos más adelante si han de ser vivas o muertas).

Claro es que esto tiene una contra en gran número, sino en todos los casos, y es la reacción consecutiva a la inoculación, que ha desacreditado algunas, sea porque el microbio lleve dos grupos atómicos, inmunizante y tóxico, sea porque en el acto digestivo de la proteína bacteriana se produzcan sustancias tóxicas y pirogénicas, tanto más activas y peligrosas cuanto más virulento sea el microbio. Hoy, repetimos, se ha conseguido reducir al minimum ese peligro y pueden inyectarse grandes cantidades sin apenas trastorno de importancia.

Las vacunas a emplear en la terapéutica de Wright, como ya lo indicó el mismo y como era natural pensar nada más ocurrirse la idea del empleo como remedio curativo, deben ser autógenas, esto es, con microbios tomados del mismo enfermo y cultivados en el Laboratorio el tiempo mínimo necesario para disponer de suficiente cantidad.

Como sería absurdo intentar una demostración que está en el ánimo de todos, resumiré con Kreutcher las ventajas de estas vacunas:

- 1.ª «Su empleo es más lógico y científico, porque ellas producen los anticuerpos específicos más convenientes y más eficaces para cada caso en cuestión.
- 2.ª Raramente o nunca producen trastornos.
- 3.ª Clínicamente son las que han dado mejores resultados.
- 4.ª Su preparación es simple, requiere poco tiempo y no es costosa».

Sucede que son muchos los casos en que no es posible aislar el germen específico del enfermo a tratar o que se sospecha nada más la especie a que pertenece: en estas circunstancias habrá que recurrir a otras de la misma especie del que consideramos culpable y que conservan los Laboratorios—Vacunas polivalentes, Stock vacunas.

Aunque haya argumentos en contra de las vacunas polivalentes, son las empleadas en vacinoterapia caso de ser imposibles las autógenas, pues, aunque se complique el proceso reaccional, podemos inyectar alguna que se aproxime más a la específica. De esto se deduce bien claramente el por qué les son inferiores en resultados prácticos, si bien hay



que confesar que los argumentos invocados en su contra, no siempre han dado resultados proporcionales en la práctica.

En casos de infecciones mixtas, asociadas, etc., así serán las vacunas, recomendándose por muchos prácticos, según recordamos haber leído en tuberculosis y estreptococia, primero una y después, con dos días de intervalo, la otra.

Cuando se trata de enzootias y endemias, epidemias y epizootias, hay tiempo en muchas de ellas para preparar vacunas con fines preventivos o de curación, si no rigurosamente autógenas, muy próximas; y cuando, por último, se trata de enfermedad que acostumbra a repetirse un año y otro en la misma época, los Laboratorios harán bien en aislar gérmenes de la primera y recurrir a ellos el año siguiente si no es posible obtenerlos de los casos en éste presentados, que sería lo mejor.

Tanto las polivalentes como las autógenas, las vacunas deben ser muertas, ya por no estar bien demostrado que las vivas sean absolutamente inofensivas, como por estar bien comprobado que con las muertas se consigue una abundante producción de anticuerpos; dentro de éstas hay que procurar las que hayan perdido menos facultades antígenas, inmunizantes, lo cual debe determinarse por experimentación.

Siendo, en general, las vacunas muertas peores antígenos, el procedimiento empleado para matarlas es probable influya en la pérdida de mayor o menor número de unidades inmunizantes, por lo que habrá que elegir una substancia o un agente especial que mate, pero con arreglo a lo dicho, las más empleadas son las muertas por acción del calor y del éter, tal vez aunque se han empleado una porción de cosas: cloroformo, iodo, etc.

Puede verse que nuestro fin es ir colocando las cuestiones tanto en el terreno experimental como en el práctico, pues si teóricamente el procedimiento de matarlas tiene interés, en la práctica no siempre se ha seguido de resultados, tal vez por no haber hallado el medio conveniente para esa separación o porque ésta no es posible. No obstante, así planteada la cuestión, queda siempre un problema a resolver, el cual no existiría haciendo afirmaciones o negaciones escuetas, con las que no tan sólo nos expondríamos a errores lamentables, sino que, además, cerraríamos el camino al estudio experimental, grave delito que no puede perdonarse a quien pretenda plaza de hombre de Laboratorio.

**VACUNAS SENSIBILIZADAS.**—Estas vacunas, que algunos han llamado «Sero-bacterinas», no son otra cosa que emulsiones microbianas que, por haber estado en contacto con el suero anti-específico, han tomado de él, se han impregnado, o, como también se dice, saturado de los anticuerpos correspondientes; por esta razón y, además, porque se elimina el suero en el que han estado emulsionadas, sometiénolas a un proceso de centrifugación y lavado, y con él casi totalmente la albúmina, pueden ser inyectadas en mayor cantidad sin temor a una reacción consecutiva a la inyección y que observamos particularmente en las no sensibilizadas. De todos modos, si esta reacción se presenta es mucho menos temible.

Por otra parte, con la sensibilización, los microbios no pierden, al parecer, ninguna de las propiedades antígenas; en vaccinoterapia se las emplea muertas. «Cualquiera que sea la naturaleza del virus—dice Besredka, el genial descubridor,—ya se trate del microbio de la peste bubónica, disenteria, cólera, o fiebre tifoidea, ya del virus de la rabia o de la toxina diftérica, o ya de los microbios vivos o muertos, la sensibilización les confiere propiedades que las convierten en vacunas de primer orden, poseyendo una acción que es segura, rápida, inofensiva y duradera».

Las vacunas autógenas fueron un progreso para la vaccinoterapia, pero las sensibili-



zadas, particularmente si son autógenas, son un segundo paso de gran interés, pero no el último, como veremos más adelante.

Las ventajas de las vacunas sensibilizadas las encuentro suficientemente claras y resumidas en un trabajo de los Laboratorios Noulford:

1.ª «No causan fase negativa opsonica ni clínica. Durante el proceso de la sensibilización, las bacterias se saturan con los anticuerpos específicos, y, en su consecuencia, no absorben los anticuerpos del paciente, impidiendo de ese modo las reacciones desfavorables, o sea la llamada fase negativa.

2.ª Producen una inmunidad activa inmediata, que comienza dentro de las veinticuatro o cuarenta y ocho horas después de la primera inyección. Esta acción rápida las hace de inestimable valor en el tratamiento e inmunización preventiva de las enfermedades, constituyendo un factor de gran importancia en el dominio y prevención de las epidemias.

3.ª Rara vez causan reacciones locales o generales. (Estas reacciones constituyen hasta aquí el mayor inconveniente en el uso de las vacunas bacterianas).

4.ª Producen una inmunidad permanente y eficaz en alto grado» (Besredka).

Veamos ahora la última palabra de la ciencia en esto de la preparación de vacunas para la vaccinoterapia y, con ella, el proceso histórico que ha seguido y que creemos haber trazado del modo más claro y compendiado posible, dado el fin que perseguimos, que no es otro que el de divulgar un asunto de gran importancia e insuficientemente conocido.

**VACUNAS AUTÓGENAS AUTO-CULTIVADAS Y AUTO-SENSIBILIZADAS.**—En lo que es posible, con las vacunas auto-sensibilizadas y, por añadidura, auto-cultivadas, hay que creer se ha llegado tan cerca del ideal, que será difícilísimo aportar mejora alguna.

Las experiencias de auto-cultivo, según datos confusos que han llegado a nuestras manos, derivan de trabajos de los Hospitales del Dr. Murphy, de Chicago, siendo Sweek, según creemos, el primero que ideó la auto-sensibilización y Kreutscher quien primeramente la convirtió en procedimiento práctico. En el curso de este trabajo hemos aludido repetidas veces a la importancia que tiene en vaccinoterapia la reacción consecutiva a las inyecciones de bacterias, principalmente polivalentes y autógenas no sensibilizadas.

Puede afirmarse que todos los esfuerzos de estos últimos años han tendido a evitarla por la doble razón del peligro que representa para el enfermo y por ser un obstáculo a la introducción de grandes cantidades de antígeno, con las graves consecuencias que conocemos, pues con frecuencia se daba el caso de que era necesario disminuir tanto la dosis que luego no se obtenían resultados ni medianamente aceptables. Ya hemos dicho que Besredka, con la sensibilización, había conseguido inyectar cantidades mucho mayores con una reacción insignificante; como vemos, no es la última palabra.

La idea original pertenece al Dr. Murphy: «Fué la aplicación de estos experimentos a nuestros conocimientos de auto-transplantación de tejidos, lo que nos llevó a concluir que, con el fin de obtener los mejores resultados en las vacunas, no solamente debía tenerse el germen del paciente, sino que este microorganismo autógeno debía ser cultivado en el suero sanguíneo del mismo enfermo, dándole así un auto-medium de cultivo».

El microbio aislado del enfermo a tratar y cultivado en presencia de suero sanguíneo de éste, conserva su virulencia en el más «alto grado posible», que, a la vez, «da, próximamente, el mismo medio que tenía en el organismo».

Es natural que si no es posible aislar el microbio del mismo enfermo habrá que recurrir a uno de los de la especie que se conservan en el Laboratorio, el cual será cultivado



en el suero del enfermo, llegándose así a una armonización, la única posible en estas circunstancias.

Una vez demostrado esto—dice Kreutscher,—el paso inmediato era la auto-sensibilización de la vacuna, como se indicó por el Dr. Sweek.

Una precaución es conveniente tener en cuenta, y es que, para poder utilizar el suero del enfermo (suero a emplear en la sensibilización), es necesario que éste posea un cierto grado de inmunidad, consecuencia de la enfermedad que padece el individuo y sin la cual no sería posible la impregnación, sensibilización del microbio (reducción de la inmunidad a una reacción de antígeno-anticuerpo).

Esto, como se comprende, no es siempre fácil el demostrarlo; mas puede deducirse teniendo en cuenta la evolución de la enfermedad. De todos modos, un ensayo previo es en muchas ocasiones posible.

Como hemos de dar más adelante la técnica recomendada por Kreutscher, anticiparemos las conclusiones que formula:

1.° Que este método ha eliminado las reacciones local y constitucional, que son tan comunes en otros.

2.° Que puede darse más cantidad de vacuna con muy poca o ninguna reacción. (El Dr. Murphy afirma puede llegarse a inocular una dosis diez veces superior a la ordinaria).

3.° Que si han dado buenos resultados las vacunas autógenas, las auto-sensibilizadas, cultivadas previamente en sangre del mismo enfermo, se aproximan al ideal.

PREPARACIÓN DE LAS VACUNAS.—Las vacunas, si son polivalentes, se preparan por cultivo de los gérmenes de la especie que sospechamos ataca al individuo y, luego, muertos por el calor, según el primitivo procedimiento de Wright.

La técnica por él seguida, al principio de la vaccinoterapia, no consistía más que en cultivar en agar durante veinticuatro horas, emulsionar en suero fisiológico, muerte por el calor a 60° y adición de lisol en una proporción del 0,5 por 100 como conservador.

El siguiente ejemplo de Citrón nos da una idea general. Se refiere a la vacuna estafilocócica:

«A un cultivo de estreptococos (debe decir *estafilococos*), en agar con veinticuatro horas de fecha, se le añaden 10 cm.<sup>3</sup> de dilución de suero fisiológico esterilizado y se agita bien; se deja reposar la mezcla un rato hasta que en el fondo se depositen masas de bacterias no disueltas; se aspira el líquido del precipitado y se calienta durante una media hora a 60°.

«Esta emulsión de bacterias se coloca durante veinticuatro horas en el termostato para facilitar la reproducción de las bacterias que hayan resistido a la acción del calor: se comprueba la esterilización, y si resulta estéril la emulsión se diluye la vacuna con suero fisiológico de modo que 1 cm.<sup>3</sup> de líquido contenga 2.500.000.000 de estafilococos. Para terminar, se añade lisol de modo que la vacuna contenga 0,25 por 100 de dicho desinfectante. Las dosis primeras son de 0,5 a 1 cm.<sup>3</sup>, más tarde 1 a 2 cm.<sup>3</sup>».

De las modificaciones hechas a este método, todas de un valor muy relativo aunque estimable, merecen citarse las que suprimen el antiséptico o le substituyen por el trieresol al 0,3 por 100, o por el ácido fénico al 0,5 por 100; la de Vincent matando los microbios por el éter (400 c. c. por litro de vacuna; cuarenta y ocho horas de contacto a la temperatura de la cámara) y empleando autolizados en lugar de cultivos íntegros, el empleo del cloroformo, del iodo, etc., en lugar del éter.

Una vez dosificadas, están en disposición de ser empleadas.

Para las vacunas autógenas hay que aislar primero el microbio. Este aislamiento con-



viene hacerlo sembrando en el medio de elección para el microbio que creemos ciertos de encontrar. Si se trata de heridas, abscesos, etc., casi siempre se recurre a la siembra en placas de agar, guardando en la toma de la muestra las precauciones que todo bacteriólogo conoce. No obstante, de un modo general merecen recomendarse los medios siguientes preconizados por Murphy.

Cuando se sospecha ha de aislarse el  *Stafilococcus pyogenes*, sea cual fuere la variedad, el  *bacillus Coli*,  *b. typhosus paratíficos*, etc.,  *b. pyocianicus* y  *b. proteus*, debe preferirse el agar-glucosado a cualquier otro; cuando, por el contrario, se cree ha de encontrarse el  *estreptococo*,  *meningococo*,  *gonococo*,  *micrococcus catarrhalis*,  *m. tetragenus*,  *paratetragenus*,  *pneumococo* y bacilo de la influenza, el agar-sangre es particularmente recomendable. Cuando se trate de otras bacterias, debe consultarse antes en las obras de bacteriología el comportamiento en los diversos medios de cultivo y elegir el que se recomienda como más útil y práctico.

En las vacunas sensibilizadas hay una operación más, la sensibilización, práctica que no es posible tratar aquí con todo detalle. Los microbios emulsionados en suero fisiológico son puestos en contacto con el suero específico durante un número de horas que varía según el microbio y aun según el operador.

Centrifúganse, después, eliminando el suero; vuélvense a emulsionar en suero fisiológico y a centrifugar. Esta operación del lavado por centrifugación puede limitarse a una sola vez; también puede hacerse dos y tres veces, que tampoco hay unanimidad: emulsionadas, por último, en el suero fisiológico con que han de conservarse, se matan, aunque hay defensores de las vacunas sensibilizadas vivas, si bien para fines preventivos casi exclusivamente.

Por lo que se refiere a las auto-cultivadas y auto-sensibilizadas, véase la técnica preconizada por Krentscher:

«Se extraen 20 c. c. de sangre de las venas del enfermo e inmediatamente se vierte 1 c. c. en cada uno de otros 20 tubos de agar-ascitis inclinado. Por inclinación de cada tubo se obliga a la sangre a recorrer toda la superficie del medio durante un minuto. Se llevan a la estufa en posición vertical durante veinticuatro horas.

La sangre coagulada en el fondo del tubo da unas cuantas gotas de suero. Si se ha contaminado algún tubo, se desecha; los libres de bacterias están listos para la siembra.

Se procede al aislamiento del microbio y se siembran los tubos, que son nuevamente puestos a la estufa durante veinticuatro horas. A las doce se saca uno de los tubos y se siembra de él una placa de agar. Pasadas veinticuatro horas se sacan los 19 restantes y se hace una preparación para ver el resultado que nos da el microscopio. El tubo que sólo permaneció doce horas vuelve a la estufa por otras doce. El resto es colocado en la nevera, dispuesto para las operaciones sucesivas.

Se obtienen 60 c. c. de sangre del enfermo, se deja coagular a la temperatura del Laboratorio y luego se le pone en la nevera doce horas. El suero sanguíneo claro se decanta y coloca en un frasco, dejando en un tubo 1 c. c. Se inactiva todo el suero menos este centímetro cúbico a 57° y con este centímetro cúbico de suero sin desactivar y el cultivo del tubo de agar primitivo se hace una reacción precipitante. Si la reacción es positiva, se recoge por lavado de la superficie todo el cultivo de los tubos, procediendo así:

Se echan 5 c. c. de solución salina al 0,7 por 100 en el tubo primero y con un hilo de platino o capilar encorvado se raspa suavemente toda la superficie, sin tocar el coágulo; el contenido de este tubo se vierte en otro, repitiendo la operación hasta que se haya recogido toda la superficie germinada.

Esta emulsión bacteriana se coloca luego en el suero inactivado y puesto veinticuatro horas a 37°. Pasadas éstas, se hace una preparación para compararla con la primera. Se cuentan luego las bacterias que contiene la emulsión, se intuban y se colocan en el baño de maría a 60° durante una hora; después se llevan a la nevera; del contenido de un tubo se siembra en agar para probar la esterilidad.

Todavía debe tomarse una precaución adicional, tal como con las vacunas corrientes. Se inocular 1 c. c. intraperitonealmente a la cobaya y otro en la vena de un conejo sano. Se espera un tiempo suficiente para la observación animal.

Si no hay germinación en los tubos sembrados y no presentan trastornos los animales, la vacuna está lista para el uso. Desde luego, en esta serie de manipulaciones se tendrá gran cuidado para evitar toda contaminación.

De lamentar es que una idea tan bonita tenga en su contra una técnica que puede calificarse de enojosa. De todos modos, puede prestar grandes servicios en manos de algunos veterinarios y médicos y en clínicas y hospitales.

**DOSIFICACIÓN O NUMERACIÓN DE GÉRMENTES.**—Es la parte más importante y la más delicada. Tiene, sin embargo, una ventaja: la de no tener importancia grande una equivocación de centenares de miles inclusive, pues ya se comprende es esto sumamente fácil tratándose de seres tan pequeños. Así y todo, conviene mucho elegir el método más seguro y, sobre todo, *especializarse*, pues sin una preparación práctica continuada, pueden sufrir-se errores lamentables, mientras que con ella, el solo aspecto de los tubos que contienen las emulsiones (vacunas) da a nuestro juicio un valor indiscutible.

Estudiaremos brevemente los métodos principales.

**Método de Wright.**—Es el método primitivo y uno de los más empleados. Se mezcla un volumen dado de la emulsión de bacterias con otro igual de glóbulos lavados por centrifugación (según el procedimiento que nosotros seguimos casi siempre). Hecha la mezcla se hacen unas cuantas preparaciones y se tiñen por los procedimientos habituales de tinción de bacterias, empleando el colorante que se haya mostrado mejor para la especie a examinar.

Se enfocan y cuentan de un lado el número de glóbulos rojos que hay en el campo y de otro el de bacterias y se toma nota; acto seguido se cuenta un nuevo campo y luego otro y otro, etc., hasta un número variable, según el operador, generalmente 20 o 50, pues la cifra de 100 es demasiado molesta e innecesaria según nuestros cálculos. Lo que sí recomendamos es que no nos concretemos al examen de campos centrales, sino que deben examinarse del centro y periferia.

Se suman el número de glóbulos hallados, y en columna aparte el de bacterias, obteniéndose la media.

Calculando el número de glóbulos de hombre en cinco millones por milímetro cúbico, el de bacterias se obtendrá por el siguiente cálculo, según un ejemplo de Bachanan:

5.000.000 :  $x$  = número de glóbulos por campo : a número de bacterias por campo.

Calculando son 20 los glóbulos por campo y 50 las bacterias, la relación sería:

$$5.000.000 : x = 20 : 50$$

$$5.000.000 \times 50 = \frac{250.000.000}{20}$$

$$= 12.500.000 \text{ bacterias por milímetro cúbico.}$$

Para saber el número que hay en el centímetro cúbico, nos será suficiente multiplicar por 1,000 y tendremos  $12.500.000 \times 1.000 = 12.500.000.000$ .



Desde luego que esta cifra es sólo aproximada, pero teniendo presente lo dicho, no es necesario un cálculo más exacto.

Cuando el número de bacterias excede el recomendado para el microbio, será suficiente añadir suero fisiológico hasta obtener la cifra aproximada que se busca; si no se desea, basta indicar la titulación para que el clínico sepa a qué atenerse. Por último, pueden indicársela las dosis.

[ *Dilución y siembras.*—No se emplea mucho en la numeración de gérmenes destinados a vacuna, pues con la mayoría de los microbios se presta a grandes equivocaciones; con algunos coli, estafilo, etc., no muy exigentes en cuanto a medio de cultivo, puede servir a título de orientación o como procedimiento combinado, que es como nosotros nos servimos de él. Véase la técnica.

La superficie germinada de los tubos de agar de veinticuatro horas a treinta y siete, es recogida con un capilar encorvado previa incorporación al tubo de 4 o 5 c. c. de solución salina a 7 por 1000; como son frecuentes los apelsonamientos aun después de bien agitado el tubo, se centrifugan con poca velocidad y se recoge la parte superior, que es la que hay que titular por el método de la dilución. Una gota de esta emulsión centrifugada y bien agitada al momento de operar se echa en 20 c. c. de caldo ordinario estéril, y después de agitar convenientemente para conseguir la repartición uniforme, pero sin tocar el tapón de algodón del matracito o tubo, se siembran varias placas con una y dos gotas. Las pipetas que se emplean para la toma de las gotas deben ser calibradas, sabiendo de un modo exacto las gotas que dan al centímetro cúbico.

Puestas las placas a la estufa, se procede a contar el número de colonias nacidas cuando éstas sean bien aparentes. Una vez hecho el cálculo aproximado (exacto con respecto a las colonias nacidas) de las colonias que corresponden a cada gota de la dilución de 20 c. c., la cual sabemos nos da, por ejemplo, 500 gotas iguales a la sembrada, es fácil el resto.

Suponiendo nacieron 50 colonias por gota, en la diluida en 20 c. c. de caldo, que la representa 500 veces, habrá  $50 \times 500 = 25,000$ ; mas como esta es la 25 ava parte, se vuelve a multiplicar por 25, esto es:  $25,000 \times 25 = 625,000$  bacterias por centímetro cúbico de la emulsión original.

Los inconvenientes de este método están en la necesidad de manipular con gérmenes vivos; en que no se cuentan las que no nacen o mueren en la emulsión; en suponer que las bacterias se han de repartir con uniformidad matemática en el líquido de la dilución; en que siendo excepcional acertar la primera vez, si se nos da de antemano la titulación que hemos de conseguir al c. c., puede suceder pasemos el límite y es necesario, entonces, concentrar la emulsión, lo cual podemos, prácticamente, considerar imposible y, si no hemos llegado, diluir otra vez y vuelta a contar.

Otro inconveniente está en el medio de cultivo. En análisis de agua, por ejemplo, es fácil darse cuenta de la importancia del medio de cultivo en cuanto al resultado numérico, en cuanto al análisis cuantitativo se refiere. Nosotros tenemos hecha una curiosa estadística en este sentido; según ella, la diferencia en número de las siembras en agar y en gelatina, llega en ocasiones a la proporción de 1 : 4, si bien de ordinario oscila en alrededor del 1 : 2, es decir, que la misma muestra de agua da un número de colonias bastante variable según el medio, por lo cual, dicho sea de paso, en análisis de agua preconizamos el empleo de ambos, agar y gelatina.

La numeración de gérmenes depende mucho de la especie microbiana, pero, en general, es preferible sembrar en placas de gelatina o de agar-gelatina, pues necesitándose tan sólo

veinticuatro o cuarenta y ocho horas, aunque el microbio licúe la gelatina no entorpece el resultado, porque la mayoría de los conocidos, y desde luego los destinados a preparación de vacunas, tardan tres días, cuando menos, para ello.

Todas estas indicaciones son aplicables a los microbios no muy exigentes, coli, Eberth, estafilo, etc., que cuando se trata de otros, gonococo, pneumococo, etc., no debe recurrirse a este método de numeración porque, aun en el caso de emplear los medios de cultivo más convenientes para la especie en cuestión, nunca se obtienen tan buenos resultados como con cualquier otro.

En resumen: el método de dilución y siembras sólo debe emplearse en ciertos microbios a título de orientación o combinado. Supongamos disponemos de una vacuna de titulación conocida y de la misma especie bacteriana de la que tratamos de titular: en este caso, una siembra por dilución nos permite orientarnos debidamente más que el examen comparativo de los tubos.

**Volumen.**—Se ha ideado un aparato especial, cuya parte fundamental es un tubo capilar que permite darse cuenta bastante aproximada del número de bacterias que hay en un volumen dado de líquido.

Las emulsiones bacterianas dispuestas en los tubos capilares o, con la parte inferior, nada más, capilar, se someten a centrifugación durante un tiempo dado y con una velocidad conocida. Terminada la operación se lee en el tubo capilar calibrado la altura de la columna de microbios, por la cual se juzga.

No conocemos trabajo alguno que suministre los datos correspondientes a las diversas bacterias según su tamaño, pero creemos puede servir previo un estudio comparativo que nosotros mismos podemos hacer disponiendo de un centrifugador y tubos capilares adecuados.

**Asas de cultivo.**—También se ha intentado implantar este método para la dosificación de vacunas, pero nos parece poco práctico, mejor dicho, muy expuesto a errores.

Sabido es que un asa de cultivo en medio sólido, que es para el cual se emplearía, representa, aproximadamente, dos miligramos de substancia bacteriana, los que, si mal no recordamos, corresponderían a unos mil millones de bacterias.

Para preparar vacunas con un número aproximado de gérmenes recurriendo a la numeración por este procedimiento, hay que tener muy en cuenta que la asa, aunque se haga con el aparato medidor ideado por Czaplewsky y resulte de un tamaño igual para todas según la abundancia y viscosidad del cultivo, según la opinión del operador en cuanto a lo que debe entenderse por asa, etc., puede llevarnos a errores que me parecen de suficiente importancia, tal vez porque nunca he podido convencerme de la importancia de este aparato como medidor.

Por otra parte, si un asa normal corresponde a mil millones de bacterias, cosa que no puedo afirmar por ignorar dónde he adquirido ese dato, como el volumen de las bacterias varía mucho cuando se las compara entre sí, sería necesario un trabajo demasiado pesado, el cual retardaría la preparación complicando la técnica.

Aceptando esta cifra (en el caso de ser otra no daría lo mismo), para preparar emulsiones que tengan, por ejemplo, 100, 200, etc., millones al centímetro cúbico, será suficiente diluirla en 10, 5, etc., c. c. de suero fisiológico.

Si necesitamos emulsiones de 50 millones al c. c., será suficiente diluir 1 c. c. de la emulsión de 100 en otro c. c. de suero fisiológico, y así sucesivamente.

**Sulfato de bario y Nephelometer de Mc. Farland.**—El empleo del sulfato de bario, y mejor el nefelómetro de Mac Farland, se emplean mucho para la numeración de gérmenes.



Pueden presentarse dos casos. El práctico desea preparar vacunas y, poseyendo sulfato de bario, pretende hacer una titulación lo más aproximada que le sea posible, para, luego, preparar la solución de sulfato, que, resultando a la vista igual a la emulsión de bacterias, le evite nuevas numeraciones.

Para resolver del mejor modo posible esta situación, muy delicada para los aficionados, y no tan compleja como pudiera parecer, es recomendable ensayar buen número de veces el método de Wright, en primer lugar, y el de las siembras, si es posible, hasta adquirir la práctica obligada.

En posesión de ella, se preparan diversas emulsiones, se hace la numeración por el procedimiento recomendado y, luego, se puede pasar al sulfato de bario, cuyas diluciones, una vez que por comparación con las de bacterias nos dejen satisfechos, pueden conservarse para ahorrarnos nuevas titulaciones.

En el segundo caso puede suceder dispengamos de vacunas cuyo contenido en gérmenes nos es conocido y en las que tenemos confianza por haberlas adquirido en Laboratorios reputados o de bacteriólogos reconocidos competentes. El problema queda reducido a preparar suspensiones de sulfato de bario, que, comparadas con las vacunas tipos, nos den, de un modo indirecto, la numeración.

Todavía podemos llegar a más. Una vez en posesión de emulsiones microbianas cuyo número de microbios al centímetro cúbico conozcamos, o, por otra parte, con suspensiones de sulfato de bario, fácilmente podremos ensayar el método «numeración por centrifugación o volumen», haciendo construir los tubos con fondo capilar y trazando en el cristal, después de un centrifugado y tiempo conocido, una raya, según el volumen alcanzado por cada emulsión, tubos que conservaremos para titulaciones sucesivas.

Excusado nos parece el decir que el *Nephelometer* de Mac Farland no es otra cosa que un aparato con soluciones distintas de sulfato de bario y que corresponden a emulsiones de bacterias de título conocido.

He aquí un procedimiento seguido por Seddon en la preparación de emulsiones bacterianas del bacilo del aborto contagioso de las vacas, emulsiones a emplear en la aglutinación, pero que puede servir de indicador. «Un 1 por 100 de solución de cloruro de bario en agua destilada y un 1 por 100 de solución de ácido sulfúrico en agua. Tres c. c. de la solución de bario se mezclan con 97 c. c. de la solución ácida, se agitan y se dejan en reposo hasta llegar a un estado de equilibrio químico...

«Para la comparación, se agita la mezcla de sulfato de bario y se llena un pequeño tubo de 1 cm. de calibre; los líquidos que van a ser comparados se colocan en tubos del mismo diámetro, haciéndose las comparaciones sobre un papel impreso».

Este mismo procedimiento puede servir para la preparación de emulsiones: esto es, de la solución de sulfato de bario con solución ácida puede partirse para preparar las que se deseen y compararlas con los tubos de igual diámetro de la emulsión con número conocido de gérmenes al centímetro cúbico.

Conviene mucho, por razones fáciles de comprender, que, tanto en emulsiones para aglutinación como para empleo como vacunas, se parta siempre de una preparada con arreglo a técnica que permita tener otra del mismo número (aproximado siempre), de microbios cuando se desee. Los términos de *emulsión a simple vista nublada*, más o menos *débilmente nublada*, *sin nebulosidad*, etc., son demasiado poco valiosos para tomarles como norma.

De todos modos hemos de insistir en la práctica individual del método de Wright, que continúa siendo el más aceptable y en no trabajar a base de las soluciones de sulfa-

to de bario hasta no tener la seguridad, que será siempre de valor relativo, de haber triunfado en esta técnica.

**NÚMERO DE BACTERIAS QUE PUEDEN INYECTARSE.**—Ni los experimentadores, ni los prácticos, están de acuerdo, y es razón que así sea.

El número de gérmenes, a inyectar, varía, en primer lugar, según la enfermedad de que se trate; varía también, dentro de la misma dolencia, según la localización, curso, microbio, si se trata de vacunas autógenas, polivalentes, sensibilizadas, etc., y como no podía menos, cambia con el individuo enfermo y con el criterio del médico o veterinario. Por estas razones, las cifras que damos a continuación no pueden tener otro valor que el relativo, general en estas cuestiones.

Si nos fijamos en las vacunas preparadas por algunos Institutos acreditados, podemos trazar una orientación. El Instituto de Dresda, por ejemplo, da para las polivalentes las siguientes:

*Antiestafilocócicas:* seis ampollas con 10, 20, 50, 100, 200 y 500 millones.

*Antistreptocócicas:* seis ídem, con 1, 2, 3, 5, 10 y 20.

*Anticolibacilares:* seis ídem, con 1, 3, 5, 10, 20 y 50.

*Antineumocócicas:* seis ídem, con 5, 10, 20, 30, 50 y 100.

*Antigonocócicas:* seis ídem, con 5, 10, 20, 30, 50 y 100.

Tal vez son, en lo que es posible, muy aproximadas a la verdad, pero el mismo Instituto, ofreciéndose a preparar vacunas con mayor número, viene a confirmar cuanto llevamos dicho y que se desprende fácilmente, pues no hay razón para tratar una blenorragia crónica o localizaciones blenorragias, con las mismas dosis que una reciente.

El Instituto Evans de Runcorn (Inglaterra), nos da todavía algunos ejemplos:

*Vacuna contra el acné:* conteniendo 5 millones y más (1 c. c.)

*Vacuna contra el catarro:* conteniendo hasta 1.000 o de mil millones en adelante al centímetro cúbico.

*Vacuna antineumocócica:* hasta 500 y de 500 en adelante al centímetro cúbico.

*Vacuna antiestafilocócica:* conteniendo 250 (o lo que se desee) al centímetro cúbico.

*Vacuna antistreptocócica:* hasta 300 y de 300 en adelante al centímetro cúbico.

*Vacuna séptica:* con 250 millones de estrepto, 250 de estafilo, etc.

*Tífica, paratífica y mixta:* De 50 a 1.000 millones (y más si se desea).

*Tífica, paratífica y cólera mezclada:* B. typhosus, 500 millones; B. para A, 500 ídem; B. para B, 500 ídem; Vibrión cólerico, 1.000 ídem.

*Melitococia o meliténica:* 25 millones o más.

*Meningocócica:* hasta 500 y más.

*Colibacilar:* De 5 a 200 millones (y más).

*Gonocócica:* De 5 a 500 (y más).

En general, las emulsiones bacterianas se buscan con unos 50 millones de gérmenes al centímetro cúbico para luego inyectar la cantidad que se desee.

Según Gauthier, una autoridad en la materia, en los estafilococos se emplean 100, 200 y 500 millones; en los neumococos, estreptos y gonococos 5 y 10 millones. Nosotros sólo podemos decir, por preparar con frecuencia, especialmente antigonocócicas, que se llega a inyectar fácilmente más de 5, 10 y 20 millones, teniendo casos donde se inyectaron más de 50 millones de gonococos, de una vez, con buenos resultados.

«La casa Parka Darvis de Londres—dice Citrón—expone vacunas precisamente según prescripción de Wright, a saber: 1.º Vacunas de estafilococos preparadas mediante la extracción de cultivos recientemente aislados de *citrus* y *albus*, preparando tres concentra-



ciones, una que contiene 100 millones, otra 200 y otra 500 de cocos por centímetro cúbico; 2.º, vacuna estreptocócica del *Streptococcus erisipelatis*, preparadas concentraciones, una de 5 y otra de 10 millones; otra gonocócica con 5 y 10; 3.º, vacuna tífica, en dos concentraciones; una de 1.000 millones y otra de 2.000 millones de bacilos por c. c. (para vacunación preventiva).»

Lo mejor es prepararlas en concentraciones aproximadas a lo necesario y variar la dosis.

En cuanto a las sensibilizadas, pasa exactamente lo mismo, si bien el número es mayor.

Gordon, en el tratamiento de la erisipela con vacuna estreptocócica sensibilizada, empleaba: primera dosis, 500 millones; segunda dosis, veinticuatro horas más tarde, 1.000 millones; tercera dosis, veinticuatro horas después, 2.000 millones.

Gay y Force emplearon dosis de 500 millones de bacilos tíficos muertos sensibilizados, con intervalos de dos o tres días para la inmunización preventiva» (Mulford).

Podríamos citar muchas, pero como no servirían para otra cosa que para orientarnos, nos son suficientes las citras anotadas.

Hay que hacer constar que, con las auto-cultivadas y auto-sensibilizadas, los experimentadores de Chicago (Hospitales Murphy) afirman puede inyectarse un número diez veces más elevado, lo cual es muy lógico y no necesita más argumentación que la expuesta en apartados anteriores.

**APLICACIÓN PRÁCTICA.**—Sin duda podemos ya darnos una idea clara del valor práctico de la Vaccinoterapia, aunque sea sólo de un modo general.

Desde el punto de vista de la aplicación en la clínica pueden presentarse tres casos, dos de ellos en los que este tratamiento está poco o nada indicado y el otro, el verdadero y en el que la vaccinoterapia tiene toda su aplicación.

*Primero.* Incluiremos en él las enfermedades agudas generalizadas, fiebre tifoidea, septicemia estafilocócica, etc. En estas enfermedades no está indicada, en general, la antigenoterapia. La razón de ello hay que buscarla en que las vacunas, aun constituidas por cadáveres microbianos, son tóxicas, y aunque están imposibilitadas para provocar infecciones, no así para intoxicar, dando lugar, a la vez, a reacciones, que si bien en condiciones normales son insuficientes para poner en peligro la vida del enfermo, cuando éste reacciona contra una infección aguda podrían agravar el proceso o precipitar un desenlace funesto. Por otra parte, la cantidad de gérmenes en el interior del organismo hay que creer está en número suficiente para obligar a los diferentes tejidos y órganos de la economía a reaccionar contra ellos, sea por medio de elementos antagónicos, sea activando la fagocitosis. Sólo en el caso de tendencia a localización es cuando convendría intervenir, para no dar lugar a que los tejidos se acomoden a la presencia del microbio y éste se vacuna contra las defensas.

No quiere esto decir no se haya empleado en algunas de estas enfermedades, sobre todo en la fiebre tifoidea, pues recientemente en los Balkanes se hizo uso de este tratamiento con buenos resultados.

En estas infecciones agudas ya localizadas más o menos, cual pueda ocurrir con la *linfangitis*, *osteomielitis*, *artritis gonocócicas*, *peritonitis*, etc., para poder recurrir a la antigenoterapia es necesario establecer pronto el diagnóstico o intervenir lo antes posible con pequeñas dosis, pues con grandes cantidades de vacuna, la llamada fase negativa, empleando los términos de Wright, puede ser un peligro difícil de evitar.

*Segundo.* Trátase de procesos crónicos, pero de naturaleza especial, *osteomielitis cró-*

*nicas, infecciones colibacilares de las vías urinarias, tuberculosis genitales, peritonitis de útero, cas, pleuresías, tuberculosis óseas, pulmonares, actinomicosis» (Darier) en los que a veces está muy indicada y otras no, pero siempre empleada con método y cuidado especial.*

*Tercero.* Hemos de referirnos a los procesos netamente localizados, en los que hay esa acomodación por parte del organismo y esa adaptación o vacunación de bacterias, siendo escasa la reacción o no surtiendo efectos notables: «forúnculos, inflamaciones de la vejiga, de la conjuntiva, del epidídimo, la bacilosis localizada, la uretritis gonocócica», etcétera.

Con respecto a la forunculosis, dice Gauthier: «En la forunculosis, se puede decir que es el triunfo del método de las vacunaciones practicadas sin el control delicado de la medida opsonimétrica. Si se trata, por ejemplo, de un forúnculo que comienza en un individuo presentando una forunculosis con repeticiones, con el objeto de hacer abortar este nuevo brote, se inyectarán 50.000.000 de estafilococos y se espera cuatro días. Si hay mejora, es evidente que la dosis era lo bastante para producir una elevación de sustancias protectoras suficientes con aborto de la lesión, etc., pudiendo hacerse nueva inyección, con la misma o ligeramente mayor dosis, pasado cierto tiempo. Si no se observa alteración alguna, «una dosis más considerable de vacuna está indicada para la inoculación siguiente», dosis crecientes hasta 400 y 500 millones, inyectadas primero cada semana y luego a intervalos más largos.»

Cuando el forúnculo va a supurar, «una fuerte dosis debe ser inoculada inmediatamente, 500 millones, por ejemplo», si bien Nanté piensa no hay inconveniente en inocular 1.000 y hasta 1.500 millones.

En casos de localizaciones blenorragias tampoco puede indicarse un plan. En general es preferible empezar por dosis relativamente pequeñas (un millón a cinco) y seguir el aumento conforme a las indicaciones clínicas obtenidas por las primeras inoculaciones, según la localización fácilmente perceptibles (temperatura, trastornos locales, dolores, etcétera). La vaccinoterapia colibacilar de las vías urinarias también se sigue de buenos resultados, siendo las dosis preferibles de 50 a 500 millones.

Aunque ya nos hemos ocupado de las dosis y del valor relativo que puede concederse a estas cifras, queremos insistir diciendo que en la práctica es frecuente encontrarse con que ciertas vacunas dan, con dosis más bajas, mayor reacción, y otras peores resultados.

Una de las causas de esto, estriba en lo que hemos dicho, que no todas las razas son igualmente buenas como antígenos, aunque sean muy virulentas, porque la virulencia y la propiedad antigénica no siempre están en razón directa.

Por otra parte, no hay que olvidar el medio donde se han cultivado las bacterias y la antigüedad de éstas, pues, empleadas viejas, puede suceder se hayan producido y liberado sustancias tóxicas por simple metabolismo nutritivo o por disolución de las bacterias, en cuyo caso la toxicidad de las vacunas sería mayor que no empleando cultivos recientes. Por esta razón y, además, por evitar que se recojan albúminas, es porque los cultivos para vacunas deben hacerse siempre en medio sabido, toda vez que la superficie germinadora de los tubos puede ser separada del medio nutritivo sin elementos de éste.

Como con mucha frecuencia se recurre a las vacunas polivalentes, dada la especificidad microbiana, otra causa más de resultados menos seguros estriba en esto, aunque, sin duda, se ha exagerado bastante.

Por último, las cifras ya sabemos varían mucho según sea la vacuna: desde medio millón que se preconiza como primera inyección para algunas, hasta la cifra de 80 mil millones (estrepto-stafilo-mixta) que se ha inyectado, sin reacción notable, en las auto-culti-



vadas y auto-sensibilizadas, hay una diferencia imposible de someter a reglas fijas, por otra parte imposibles.

En Cirugía, la vaccinoterapia puede prestar algunas indicaciones, no como algunos pretendieron limitando el empleo del bisturí, el cual es insustituible en el tratamiento de las afecciones que estén a su alcance, sino obligando al organismo a disponer en sus plasmas de defensas específicas a utilizar contra los agentes que pueden penetrar durante la operación. Tal vez en algunos otros casos pudieran tener aplicación, pero no conviene exagerar la nota aun en caso de ser verdad.

**LA VACCINOTERAPIA Y EL ÍNDICE OPSÓNICO.**—Antes de ocuparnos del valor del índice opsónico en el tratamiento por vacunas, debemos dedicar unas líneas a las opsoninas.

**Opsoninas.**—Las opsoninas serían, según Wright y Douglas, sustancias solubles contenidas en los sueros normales e inmunisueros, intermediarias a los fagocitos y a los microbios y que intervienen en el acto de la fagocitosis para exagerarla y hacerla más eficaz.

Los siguientes párrafos, extracto del capítulo correspondiente de mi libro *Resumen de Bacteriología general*, dan una idea clara de las opsoninas y bacterio-tropinas o inmuno-opsoninas.

Para Metchnikoff, los sueros específicos tendrían una acción estimulante de la fagocitosis; fué tal vez la primera idea. Después descubrieron esas sustancias Wright y Douglas, llamándolas opsoninas y sin las que no existiría fagocitosis. La creencia más general, con respecto a la especificidad, es que hay un principio de ella; en cambio se ha discutido mucho si son o no sustancias nuevas.

En cuanto a las opsoninas de los sueros normales, después de los argumentos invocados por Levaditi e Immann, Kraessler (1907), Hata, Muir y Martin Hartoch y Maria Villein, Mutermilch, Capin, Cowie y Bohme, que en la obra citada se registran y que hacen referencia a la termolabilidad (destrucción por temperatura inferior a 60°), pérdida del poder opsónico del suero de conejo cuando se une a bacilos tíficos, estafilococos, etc., disminución de la fuerza opsónica de un suero al unirse con emulsiones de órganos; no existir en el humor acuoso; descomponerse en dos partes, media (*Mittelstrik*) y terminal (*Endstrik*); desaparición en ciertas enfermedades, etc., al igual que para con el complemento hay suficiente apoyo para concluir en que las opsoninas normales no son cosa distinta del complemento.

En cuanto a las de los sueros inmunes, inmunoopsoninas o bacteriotropinas de Neufeld, los mismos trabajos de Levaditi e Immann, Mutermilch, Milhit, permiten concluir con éste: «Las opsoninas normales se asemejan más bien a los complementos; las de los inmunisueros a las sensibilizadoras. No deben, sin embargo, identificarse unas con otras. Aquéllas presentan analogías con los unos y las otras; son a la vez una mezcla de sensibilizadoras y complementos, en parte termoeestables y, sobre todo, termolábiles, y no un principio perfectamente aislable del suero».

Con estas nociones generales acerca de las opsoninas hay que entrar con reservas en el método opsónico como guía de tratamiento. Más cautela impone después de los párrafos siguientes de la obra citada: «Por la alcalinidad, por ejemplo, se sabe que el máximo de efecto se obtiene en medio neutro, que a más de 1,8 c. c. en álcali y 0,5 c. c. en ácido a 1 por 20 N., impiden la acción opsónica de 1 c. c. de suero. Muchos sueros en los que se da como normal una alcalinidad de 0,8 c. c. al 1 por 20 N., al ser disminuida se sigue igualmente de disminución del poder opsónico que puede elevarse por neutralización del álcali, no haciéndose definitiva la alteración del poder opsónico más que próxima-

mente a 1 N. en ácido o álcali.» (Noguch). Influyen, además, notablemente en la opsonización, la naturaleza y calidad de los leucocitos, las bacterias, el frío, el calor, la duración y varias sustancias; cloruro y fluoruro de sodio, sales de calcio, etc.

«Wright mismo, notó muy pronto que la cantidad de opsoninas contenidas en un suero podían variar según la especie animal y en el individuo mismo según ciertas condiciones (ayuno, digestión, embarazo y edad), pues es menor en el niño que en el adulto, y mayor en el niño de pecho (Milhit) y en las enfermedades infecciosas, estados tiroideos (Marbó), etcétera.

Neufeld dijo: «Cuando en el curso de un tratamiento por la tuberculina o estafilococos matados se ven aparecer opsoninas, no debe interpretarse la aparición de otro modo que se hacía para las aglutininas, sino que se asiste a una reacción específica del organismo a las sustancias inyectadas: *de esto, a ver en las opsoninas los inmunocuerpos que preceden a la curación o bien considerálas como expresión de la inmunidad adquirida, hay mucha distancia.*»

Quizá nos hemos separado aquí del plan general de esta monografía al profundizar un poco en este asunto, pero es que a ello nos vemos forzados por el tema y, además, por ser decidido propósito nuestro el someter a crítica razonada lo que pudiera considerarse como algo trascendental en Medicina, siendo así, que de la parte referente a las opsoninas y al valor del índice opsonico, dentro de pocos años quedará muy poco.

Esto no es regatear méritos a los descubridores ni a los preconizadores: es sólo poner las cosas en su lugar. Ellos satisfechos pueden quedarse con el triunfo del verdadero descubrimiento, el tratamiento por vacunas.

*Índice opsonico.*—La relación que existe entre el poder fagocitario del suero normal y el del individuo enfermo o vacunado fué llamado por Wright, «índice opsonico».

Para la práctica del método hay que disponer de una emulsión de bacterias, del suero y de leucocitos lavados por centrifugación. Cuando se colocan en el tubo del centrifugador sangre y suero fisiológico y se hace dar vueltas, no a grandes velocidades, sobre la capa de glóbulos rojos llevados al fondo, se reúnen los leucocitos, los cuales, tomados con pipeta son nuevamente lavados por el mismo sistema con suero fisiológico y en tubo aparte.

Con una pipeta calibrada se toma una parte de emulsión de leucocitos, otra igual de suero y otra de microbios; bien mezcladas o sobre un cristal de reloj o porta-objetos, se vuelven a tomar con la pipeta, la cual cerrada a la lámpara por el extremo afilado, se pone quince minutos a 37° para que la fagocitosis tenga lugar.

Transcurridos estos minutos se rompe el extremo y se depositan varias gotas en otros tantos portas, extendiendo y fijando por los procedimientos corrientes: se tiñe con el colorante indicado para el microbio en cuestión y se examina de preferencia en los bordes: se verifica esto anotando el número de bacterias fagocitadas, por ejemplo, en 50 leucocitos, y esta cifra sirve de divisor al número de microbios fagocitados.

Así:

$$\frac{\text{Número de microbios fagocitados en 50 leucocitos}}{\text{Por cincuenta leucocitos}} = \text{Poder opsonico.}$$

Se verifica luego la misma operación con el otro suero y obtendremos el poder opsonico, partiendo el resultado en cada caso.

Así:

$$\frac{\text{Poder opsonico suero A (especifico o sospechoso)}}{\text{Poder opsonico suero B (normal)}} = \text{Índice opsonico.}$$



No hemos de criticar el índice opsonico como procedimiento de Laboratorio y de clinica. Para nosotros todo es cuestión de práctica, con todo y revelárenos complicado, particularmente en la obtención de leucocitos y de escaso valor para el clínico: esto sin tener en cuenta lo que puede influir el no preparar la emulsión bacteriana con arreglo a las exigencias dadas para las vacunas, que sería necesario. Sin embargo, y aunque sea en pocas líneas, debemos dar cuenta del juicio general merecido por el índice opsonico como guía de tratamiento por vacunas. No lo hacemos extensamente, tanto porque este trabajo va resultando demasiado largo, como porque aun después de escribir 50 cuartillas más, habríamos de concretarnos a unas semi-conclusiones, que serán las que ahora daremos.

Ya hemos visto las causas que pueden hacer variar la cantidad de opsoninas en el suero; si agregamos a éstas las que pueden resultar del procedimiento de investigación del índice opsonico y las que siempre resultan del examen hecho en condiciones muy diferentes a las normales, esto es, la misma prueba hecha por y en el organismo, forzosamente hemos de concluir que el valor de la medida opsonimétrica, en general, queda bastante reducido.

Si profundizásemos en el mecanismo de la inmunidad tratando de aquilatar las hipótesis inventadas para explicarla, la fagocitosis tampoco quedaría en lugar preferente.

Por último, si tomásemos la cuestión desde el punto de vista clínico, en la mayoría de los casos (no quisiéramos exagerar), el índice opsonico sería de un valor inferior a la observación clínica, especialmente en forunculosis, estafilococia, gonococias, etc., según ha reconocido Mathews, de Londres.

Teóricamente, la cuestión es sugestiva. La inyección de vacunas, a juicio de Wright, momentáneamente privaría al organismo de parte de sus elementos defensores (disminución del índice opsonico: fase negativa (1); pero, después, el índice aumenta (en virtud de mecanismo hipotético), gracias a una excitación celular, que no sabemos a qué es debida aunque podríamos intentar la explicación, la cual se traduce en una formación mayor de sustancias protectoras, esto es, de opsoninas (fase positiva o *reflujo* de Wright). El objeto del clínico es ver el medio de mantener ese aumento de producción («marca ascendente de la inmunidad»).

Para esto es necesario saber qué sucede en el organismo cuando se inyectan las vacunas, reacción orgánica observada a través del índice opsonico.

«Una inyección de una pequeña dosis de vacuna—dijeron Wright y sus discípulos—provoca un alza del índice, pero que no dura más que dos o tres días; después todo vuelve a lo normal. Con una dosis media, se aprecia primero una baja (fase negativa); después una elevación, después de nuevo una ligera baja, pero que se mantiene siempre un poco por encima del índice apreciado en el primer día de la enfermedad (fase positiva); el ciclo es recorrido en diez a catorce días. Con una dosis muy fuerte, la curva opsonica denota una *disminución considerable del índice*, que permanece mucho tiempo en esta fase negativa» (Darier).

Resulta de esto que la dosis tiene importancia grande, como también la tiene el momento para intervenir, pero, así y todo, teniendo en cuenta las variaciones que puede presentar el poder opsonico, las dificultades técnicas; la existencia en la mayoría de los casos, de síntomas fácilmente apreciables; y, por otra parte, las enseñanzas que se deri-

(1) La fase negativa ha sido negada por algunos.

van del mecanismo general de la inmunidad; la menor importancia, con relación a lo que se creyó al principio de la fase negativa, etc., etc., bien se puede concluir lo siguiente: A. El índice opsónico, como guía de tratamiento, sólo es conveniente en contadas enfermedades (tuberculosis), y para poder fiarnos de él debe practicarse por persona especializada. B. En la mayoría de los casos, y, desde luego, en la práctica corriente que nos ocupa mucho tiempo, el clínico, debe guiarse por los síntomas, etc., que presente el enfermo a consecuencia de la primera inyección, tanto más intensa, se dice, cuanto más crónica es la dolencia a tratar.

Como consecuencia: *Ningún clínico debe desear el tratamiento por vacunas, en aquellos casos en que esté indicado, ante el temor de no disponer de medios para guiarse por el índice opsónico. Un interrogatorio minucioso, un buen espíritu de observación y juicio crítico, son suficientes:* en particular si el práctico ha conseguido compenetrarse con los fenómenos de inmunización activa y mecanismo supuesto que las preside. Debemos decir que la vaccinoterapia no excluye otro medio terapéutico que se haya revelado conveniente; antes, al contrario, debe emplearse, como también las medidas higiénicas adecuadas al caso en cuestión.

CONCLUSIÓN.—La antígeno o vaccinoterapia, empléense vacunas autógenas, polivalentes, autosensibilizadas, etc., constituye una mejora grande para el tratamiento de ciertas enfermedades (véase el texto). Con ella se establece en el organismo infectado un verdadero estado de inmunización activa.

Siempre que sea posible se emplearán vacunas autógenas y autógenas auto-cultivadas y auto-sensibilizadas.

En la preparación de las vacunas conviene tener cuidado en la numeración de gérmenes, pero no puede precisarse el número a inyectar por depender de una serie de factores dignos de tenerse en cuenta.

En la mayoría de los casos no es necesario guiarse por el índice opsónico, por las razones que se indican y por ser suficientes los signos clínicos.

Tanto para preparar vacunas como para la práctica de la medida opsonimétrica, aun no siendo necesario un gran Laboratorio, se impone, o estar en relación con uno a quien remitir productos, presentar el enfermo, etc., o prepararse previamente.

## Enfermedades infecciosas y parasitarias

BELIN.—DE LA «OXIDOTERAPIA» EN EL TRATAMIENTO DEL TÉTANOS.—*Comptes rendus des seances de la Société de Biologie*, LXXXI, 172-174, sesión del 23 de Febrero de 1918.

Prosiguiendo el autor sus interesantes estudios sobre la oxidoterapia antitetánica (véase, t. VII, p. 345 y 347), ha podido comprobar que, en el caballo, se obtienen, en la clínica, resultados análogos a los obtenidos experimentalmente en el conejo, mediante la inyección intramuscular de permanganato de potasa, cuyos resultados se traducen por una atenuación de los síntomas que se manifiesta poco tiempo después de las inyecciones oxidantes, acción que es tanto más clara cuanto más pronto se interviene.

H. G. SIMPSON.—LA REACCIÓN A LA MALEINA Y SUS ANOMALÍAS.—*The veterinary Record*, XXV, 417-430, 6 de Enero de 1912.

Los resultados de ciertas reacciones a la maleína no son siempre de una interpretación fácil; en muchos casos, las manifestaciones locales y térmicas presentan caracteres



tales que es muy difícil formarse una opinión. A fin de demostrar la necesidad de una vigilancia de estos animales sospechosos, relata el autor tres observaciones: en las dos primeras se trata de yeguas que habían sido maleinizadas dos veces y habían sido declaradas sanas después de haber dado reacciones mal definidas, y, sin embargo, antes de un mes, presentaron signos clínicos de muermo; la tercera observación se refiere a otra yegua, que, después de dos maleinizaciones dudosas, fué sacrificada, resultando muermosa en la autopsia.

Por esto dice el autor que es preciso separar de los efectivos indemnes los équidos que reaccionan de una manera mal definida a la maleina, sometiéndoles, bajo la vigilancia de las autoridades, a maleinizaciones sucesivas y frecuentes.

*Valor relativo de las reacciones local y térmica.*—Simpson, basándose en más de 2,000 pruebas, practicadas en diez y ocho meses, concede más importancia a la reacción local que a la reacción térmica, la cual encuentra menos fiel y puede ser influida por numerosas circunstancias ajenas a la maleinización. Las ligeras fluctuaciones que resultan de ello adquieren una importancia considerable cuando basta una elevación o un descenso mínimo para hacer cambiar el resultado de la prueba. Se observan también con frecuencia elevaciones y descensos bruscos de la temperatura; pero estas oscilaciones se comprueban lo mismo en estado normal que mientras dura la prueba, lo que parece indicar que deben referirse a causas ajenas al muermo. Es interesante advertir que en la autopsia de los caballos que habían presentado en vida tales manifestaciones, el autor ha encontrado siempre o muermo o lesiones crónicas de los pulmones y, sobre todo, pulmonía. De aquí que el autor se pregunte si, en ciertos casos, no podría denunciar la maleína afecciones distintas del muermo, o si estas lesiones pulmonares no serían lesiones muermosas curadas.

*Relación entre las reacciones local y térmica y el número y la antigüedad de las lesiones encontradas en la autopsia.*—No existe ninguna relación entre la amplitud de la reacción y la extensión de las lesiones; pero no sucede lo mismo con la antigüedad de ellas, pues parece que el muermo crónico produce una reacción térmica menor que las lesiones recientes, sobre todo cuando asientan en el pulmón.

*Reacciones locales atípicas.*—Es casi imposible atribuir caracteres específicos a la reacción local, pues el contorno y la extensión pueden variar considerablemente. Los principales caracteres de una reacción local positiva residen en el grado de sensibilidad y la persistencia más bien que en la extensión y la forma, que son, sin embargo, elementos importantes del diagnóstico.

*Reacciones locales diferidas y falsas reacciones.*—El momento de la aparición de la reacción local puede variar de media hora a tres días. En las pruebas efectuadas por el autor, los tiempos extremos fueron tres horas y media y tres días. Esta reacción diferida de tres días se registró en un caballo que se creía indemne, el cual, en la autopsia, se encontró portador de lesiones recientes.

En algunos animales ocasiona la inyección de maleina la producción casi inmediata de un ligero edema; en otros aparece media hora o una hora después de la inyección una amplia hinchazón, de 6 a 8 centímetros de diámetro, que desaparece completamente en una o dos horas. Estas manifestaciones locales fugitivas son, verdaderamente, la consecuencia de la irritación producida por la maleina o por una aguja no esterilizada.

Simpson, después de referir estas anomalías de la reacción a la maleina expone observaciones numerosas y publica varios cuadros, que se pueden resumir de la manera siguiente:

De 28 caballos, a los que se separó del control oficial, pero mantenidos en observación y aislados como sospechosos, 2 se revelaron clínicamente muermosos al cabo de un mes escaso, 19 se encontraron muermosos en la autopsia y 7 no presentaron muermo, sino lesiones de neumonía crónica.

W. KOLLE, O. HARTOCH, M. ROTHERMUNDT Y W. SCHURMANN.

SOBRE UNA NUEVA SUSTANCIA TERAPÉUTICA PARA EL TRATAMIENTO DE LAS TRIPANOSOMIASIS.—*Deutsche medizinische Wochenschrift*, 85, 1913.

Los autores dicen haber descubierto una sustancia, mucho más activa que todas las empleadas en la quimioterapia de las tripanosomiasis. Esta sustancia es el óxido de antimonio,  $Sb_2O_3$ , y la emplean bajo el nombre de *trixidina* en emulsión al 30 por 100 en aceite a causa de su insolubilidad en el agua.

Han experimentado los autores esta sustancia en los tripanosomas del nagana, de la enfermedad del sueño y de la durina, sirviéndose del ratón para realizar sus experiencias. Los resultados fueron notables. La superioridad de la trixidina reside en el hecho de que la relación de la dosis tóxica a la dosis terapéutica alcanza a 100, mientras que, por ejemplo, es de 15 para el emético. No es, pues, tóxica como el antimonio metálico, el cual, con una toxicidad aguda a 5 miligramos por 10 gramos de ratón, cura con toda seguridad los ratones naganados a la dosis de 1 miligramo, pero provoca su muerte por intoxicación crónica. La trixidina no es mortal más que a la dosis de 100 miligramos para 10 gramos. Cura seguramente con 1 miligramo, y ni siquiera con dosis muy superiores se observa nunca envenenamiento crónico como con el antimonio metálico.

Los autores han ensayado también una combinación orgánica insoluble, constituida por una asociación de triclóruro de antimonio con su compuesto de mercurio-antipirina. Esta preparación, llamada *argulan*, se ha mostrado eficaz.

En fin, los autores aconsejan, en el empleo del antimonio metálico o de las combinaciones orgánicas, para evitar las intoxicaciones crónicas, la forma de pomadas aplicadas sobre la piel. Con una o dos aplicaciones se llega a curar del 60 al 70 por 100 de los ratones o de otros animales infectados con tripanosomas del nagana, de la durina o de la enfermedad del sueño.

## AUTORES Y LIBROS

I. GUERRICABETTA.—MEMORIA SOBRE LOS TRABAJOS EFECTUADOS ACERCA DE LA DIFERENCIACIÓN DE CARNES EN TROZOS PEQUEÑOS Y, SOBRE TODO, EN EMBUTIDOS, POR EL MÉTODO BIOLÓGICO DE INMUNIDIAGNÓSTICO.—*Un folleto en 4.º de 52 páginas. Bilbao. Imprenta, M. Fuentes, 1917.*

Impulsado el autor, que es veterinario municipal de Bilbao, por el deseo de desempeñar su cargo a conciencia, aprovechó un permiso de dos meses que aquel Ayuntamiento le concedió, para procurar documentarse experimentalmente en los procedimientos biológicos de diferenciación de carnes, pues sólo en ellos esperaba encontrar la posibilidad de descubrir las adulteraciones de los embutidos, que clandestinamente se introducen en Vizcaya procedentes de otras provincias limítrofes.

Con ese propósito llegó a Madrid, y aunque D. Dalmacio García Izcarra le recomendó



que desistiese de su propósito, «porque había de fracasar en el empeño», el Sr. Guerricabeitia no se dió por vencido, y en vista de que en Madrid no encontraba ambiente para los trabajos que pensaba realizar, se trasladó a Valencia, sin conseguir tampoco su propósito, y, por último, se fué a Barcelona, donde, por fin, gracias al entusiasmo de don Cayetano López, pudo empezar la realización de los trabajos que había proyectado.

Aunque la peregrinación fué penosa, el Sr. Guerricabeitia no tuvo que arrepentirse de su perseverancia, pues fruto de aquellos trabajos, realizados en el Laboratorio bacteriológico municipal de Barcelona bajo la dirección de los señores López y González, es este interesantísimo folleto, en el que, se registran los éxitos obtenidos con diferentes procedimientos biológicos de diferenciación de carnes, y se propone, como consecuencia de dichos éxitos, un proyecto de Reglamentación para la elaboración y venta de los embutidos, que será de indudable eficacia si se llega a aplicar en la práctica.

Felicítamos muy cordialmente al Sr. Guerricabeitia por su luminosa Memoria, que revela en él una gran vocación al estudio de los modernos problemas biológicos y unas estimables condiciones para la experimentación, que debiera aprovechar en bien de la ciencia veterinaria.



**ANTONIO PANÉS RODRÍGUEZ** —GANADERÍA MURCIANA.— *Un folleto en 4.º de 30 páginas, con 15 láminas de fotografados. Artes Gráficas «Mateu», Paseo del Prado, 34, Madrid.*

Este interesante trabajo fué premiado con 200 pesetas en el Concurso de Memorias últimamente celebrado por la Asociación general de ganaderos del Reino.

Para darse idea de la importancia de este folleto, bastará con un índice de los asuntos de que trata, que son los siguientes: Estadística pecuaria de la provincia de Murcia; lo que tenemos; lo que debiéramos tener; lo que perdemos. Especies de ganados que se explotan; las más importantes especies objeto de nuestro estudio y mejora. Ganado vacuno; su producción; variedades; funciones económicas; trabajo agrícola; producción de carne; mejora de la raza bovina murciana. Ganado de cerda; su producción; variedades; mejora y procedimientos para conseguirla. Ganado cabrío; su producción; variedades; funciones económicas; producción de leche y de carne; mejora de la cabra murciana. Ganado lanar; su producción; variedades; mejora. Medidas de higiene indispensables en la explotación pecuaria de la provincia.

El repaso de este sumario indica bien claramente que el autor ha planteado la cuestión con mucho tino, y si a esto se añade que el folleto está escrito con gran sobriedad, no exenta de elegancia, y que no se pierde el tiempo en divagaciones innecesarias, se comprenderá que el Sr. Panés ha colocado con fortuna una piedra más en el edificio en construcción de la zootecnia nacional.



NICÉFORO VELASCO RODRÍGUEZ.—EL GANADO OVINO DE LA PROVINCIA DE PALENCIA.—*Un folleto en 8.º mayor de 75 páginas, con varias láminas en negro, 1 peseta 50 céntimos. Talleres tipográficos de Monzón y Lliter, Calle del Conde de Garay, 6, Palencia.*

Esta Memoria del Sr. Velasco fué premiada por el Colegio de veterinarios de la provincia de Palencia en el Concurso de 1917, y bien merecido se tiene el premio, pues se trata de un trabajo muy completo y muy útil para los aficionados al estudio de la ganadería española.



Después de una interesante introducción, en la que el autor expone su entusiasmo por el fomento pecuario y el plan de la obra, pasa a estudiar, en varios capítulos el ganado lanar palentino siguiendo la pauta que se señala en el siguiente sumario: «El ganado lanar palentino: ¿qué ha sido? ¿qué es? ¿qué puede ser? Razas lanares existentes en la provincia de Palencia: raza churra y raza manchega. Defectos y medios de corregirlos.

Condiciones del medio. Métodos de reproducción. Elementos de fomento. Productos del ganado lanar e industrias de ellos derivadas. Medidas higiénicas. Mejoras susceptibles del ganado lanar palentino. El problema económico. Para terminar».

El folleto está bien escrito, con soltura y elegancia, y se lee sin ninguna fatiga y con creciente interés. A todos los veterinarios, y singularmente a los de Castilla la Vieja y León, interesa su lectura, mereciendo el autor de parte de todos una calurosa felicitación, pues con su trabajo contribuirá seguramente a despertar la afición entre los veterinarios de aquellas regiones por los interesantes problemas de zootecnia práctica.