

CAPÍTULO XVIII

Vacunación contra las enfermedades infecciosas.—Sueroterapia.—Sueroterapia de la tuberculosis según el Dr. Ferrán.

BIBLIOGRAFÍA.—A. Gautier: *Les toxines*.—Kitasato: *Deut. Med. Woch*, pág. 1113.—J. Ferrán: *Sueroterap. de la tuberculosis*.

Vacunación contra las enfermedades infecciosas. — La palabra vacunación es impropia, toda vez que está tomada del transporte de la linfa variolosa de la vaca en la enfermedad variolosa; pero se ha generalizado haciéndose vulgar porque expresa bien la idea de profilaxis para los profanos. No siendo nuestro propósito discutir palabras, aceptamos esta denominación y nos concretaremos á la consignación de hechos y á su posible explicación.

La vacuna es un agente capaz de imprimir á las células y á la economía viva una modificación duradera que las hace reaccionar eficazmente contra las intoxicaciones correspondientes. Las vacunas obran como los fermentos solubles, y su efecto inmediato consiste en provocar en el organismo la formación de verdaderos agentes venenosos directos. Pero la vacuna por su acción profiláctica no es un agente directo sino que excita á las células y les imprime la modificación nutritiva que determina la formación de las antitoxinas.

Las materias vacunantes son generalmente virus atenuados y en tal concepto su composición es muy compleja, lo mismo que sus efectos. El microbio no constituye el agente vacunante esencial, porque empleando el calor ó la filtración, añadiendo diversas esencias microbicidas, pero sin acción sobre los alcaloides, los albuminoides ó las diastasas, se puede suprimir el microbio sin que la vacuna pierda sus propiedades esenciales.

También se pueden atenuar los virus haciéndolos pasar de una especie á otra, pudiéndose también quitar al mismo virus toda ó casi toda acción tóxica posible sin que deje de ser vacunante. Parece, pues, que la eficacia de una vacuna no está relacionada con

su grado de toxicidad como sucede con los venenos que, como sabemos, son tan parecidos á los virus.

Hemos dicho que las diversas vacunas sólo obran indirectamente excitando las células de la economía, pudiendo no ser esencialmente específicas, porque se comprende que esta misma excitación puede producirse por medios muy diversos.

Desgraciadamente se sabe aún muy poco con relación á las vacunas. Al parecer poseen los caracteres de las zimosas en cuanto son muy sensibles á la acción del calor y en cuanto obran en cantidades frecuentemente imponderables. Las esencias de ajo, de mostaza, de timol, los antisépticos más enérgicos pueden ser mezclados con las vacunas sin disminuir su eficacia, al igual de lo que sucede con los fermentos solubles.

Químicamente consideradas la mayor parte de las vacunas animales parecen estar constituidas por mezclas de albúminas, de globulinas y acaso de albumosas. Su parte activa parece difícilmente dialisable. Precipitan por el alcohol fuerte y este precipitado se redisuelve en el agua con tal de que no haya estado durante mucho tiempo en contacto con el alcohol concentrado. Las sustancias esenciales de estas vacunas parece que se disuelven bien en las soluciones concentradas de glicerina, de las cuales precipitan por un exceso de alcohol.

La hipótesis por la cual el poder vacunante debe ser atribuido á las sustancias solubles puramente químicas pero fabricadas por los microbios, se emitió por primera vez por M. Toussaint como consecuencia de sus experimentos de vacunación por medio de sangre carbuncosa calentada á 58°.

En todas las observaciones verificadas hasta hoy, la materia vacunante es proporcionada por un ser vivo, por un microbio, específico ó no, de la enfermedad que se combate. El principio activo de estas vacunas es una especie de fermento soluble, una diastasa que excita la economía para producir sus antitoxinas. Pero no sabemos si esta excitación específica del organismo podría producirse ó despertarse bajo la influencia de una materia química definida, orgánica ó mineral.

Sueroterapia. — Partiendo del principio de que la sangre de un animal vacunado contra una enfermedad infecciosa contiene sustancias que destruyen el efecto de las toxinas, se ha creído que inoculando el suero de la sangre de un animal vacunado á un animal enfermo ó en peligro de infección, se empleaba un medio de prevenir ó combatir la enfermedad infecciosa.

Numerosas investigaciones en este sentido verificadas desde 1877 han resultado poco fructuosas hasta las últimas investigaciones hechas en 1890 por Behring y Kitasato sobre las propiedades antitóxicas y curativas del suero de animales inmunizados contra el tétanos y la difteria. Aunque los primeros resultados terapéuticos no fueron decisivos, hay que reconocer que Behring trató

con resultado y por medio de su suero anti-diftérico los enfermos de difteria.

En 1894, en el Congreso Internacional de Buda-Pesth, M. Roux anunciaba definitivamente los resultados favorables que había tenido en el tratamiento de 300 casos de difteria humana tratados en los hospitales de París por el método de las inyecciones del suero antidiftérico.

Los animales, especialmente los caballos, destinados á proporcionar el suero curativo, son preparados inoculándoles, si se trata del suero antidiftérico, con un cultivo del bacilo diftérico filtrado y adicionado con una solución de yodo con el yoduro de potasio. Cuando en virtud de las inyecciones sucesivas de la toxina así modificada se ha conferido al caballo la inmunización máximum, se pueden sacar de su yugular cada 10 ó 15 días muchos litros de sangre y obtener con las precauciones debidas de antisepsia un suero que se conserva bien, sobre todo al abrigo de la luz, y que inyectado bajo la piel de los animales ó del hombre á la dosis de 20 gramos, repitiendo la operación algunos días si es preciso, no solamente da la inmunidad contra la difteria, sino que detiene la enfermedad cuando empieza á desarrollarse.

Por lo que se refiere á la sueroterapia, sólo se conoce hasta hoy con alguna certeza los efectos de los sueros antitóxicos de animales intoxicados contra la difteria, el tétanos y el estreptococo de la erisipela.

Recientemente ha publicado M. Broca interesantes resultados sobre el tratamiento de las tuberculosis cutáneas por el suero de sangre de perros inoculados con esta enfermedad.

Sueroterapia de la tuberculosis según el Dr. Ferrán. — En una nota reciente, publicada por el bacteriólogo español, se consignan los siguientes hechos cuya importancia es imposible desconocer:

«Aun cuando sea problema complejo y difícil el de la curación de la tuberculosis, los casos evidentes de enfermos que han sanado sin intervención ninguna, demuestran que no debemos tenerlo por irresoluble.

»Sorprender el secreto de estas curaciones es lo que importa; logrado esto, todo queda reducido á reproducir artificialmente aquellas condiciones de curabilidad que la ciega naturaleza consigue pocas veces reunir. Hoy podemos plantear con buena base este problema, gracias á que muchos sabios han ido acumulando datos tan interesantes y numerosos, que las dificultades principales que se oponían á todo progreso, están vencidas.

»Demostrada por Villemin la contagiosidad de la tuberculosis, descubierto por Koch su agente microbiano y por Behring y Kitasato el secreto de defensa del organismo por las antitoxinas, quedaba hecho lo fundamental para que el avance hacia una solución definitiva se hiciese con orientación segura.

»En vista de los primeros éxitos de la sueroterapia, pareció ló-

gico suponer que el bacilo de la tuberculosis ha de producir antitoxinas defensivas, como las producen el bacilo del tétanos y el de la difteria. Esta unánime convicción nos indujo á muchos (1) á hiper-inmunizar animales con virus tuberculoso, siguiendo á poca diferencia la pauta trazada por Behring, Kitasato y Roux, para la obtención del suero antidiftérico.

»En mi Laboratorio inauguráronse, en 1894, los trabajos encaminados á este objeto, y si no he logrado la resolución completa de problema tan difícil, en cambio creo haber descubierto dificultades no previstas, que resultan por demás instructivas por la luz que arrojan sobre el mecanismo general de la producción de antitoxinas, sobre la patogenia de la tuberculosis y sobre los nuevos derroteros que hay que seguir para poder obtener una antitoxina curativa.

»He aquí la exposición sucinta de estos trabajos.

»Tres procedimientos distintos he seguido para hiper-inmunizar mulos y asnos destinados á estas investigaciones. De estos animales unos fueron hiper-inmunizados inyectándoles dosis progresivamente crecientes de cultivos del bacilo de la tuberculosis humana. Otros inyectándoles pus tuberculoso puro, procedente de abscesos caseosos; y otros inyectándoles esputos bacilados.

»Siempre estos productos se inyectaron, como es de suponer, esterilizados, con el objeto de no inyectar bacilos vivos.

»Los fenómenos que se observan en los animales hiper-inmunizados por estos tres procedimientos, son á poca diferencia idénticos. Las pequeñas dosis de las referidas materias virulentas provocan la formación de un nódulo inflamatorio en el sitio de la inyección, que, aunque muy lentamente, acaba por resolverse.

»Si las dosis son mayores, se forma absceso que se abre espontáneamente: esto no es bueno que suceda, porque son precisamente los leucocitos de que está constituido el pus los que, digeridos por los fermentos celulares, se transforman en antitoxina, y por este motivo toda evacuación purulenta constituye una gran pérdida de trabajo, que hay que evitar. Cuando se ve que la apertura de uno de estos abscesos es irremediable, cabe el recurso de aspirar el pus, esterilizarlo, emulsionarlo luego finamente, é inyectarlo al mismo animal en sitios distintos: esto lo hemos practicado algunas veces.

»Toda nueva inyección dada antes de que se haya resuelto el nódulo producido por la inyección anterior, provoca en éste una activa inflamación que determina la fusión purulenta del tejido indurado.

»Conviene por lo tanto no precipitarse, porque si para ganar tiempo no se procede con la debida parsimonia, los animales atra-

(1) Behring, Bernheim, Ch. Bichet y Hericourt, Maragliano, Redon y Chenot, Viquerat y probablemente otros muchos han estudiado también esta interesante cuestión.

viesan un período crítico del cual salen con dificultad; se ponen flacos, pierden el apetito y andan con pena, como si les doliesen los huesos. Esto sólo se evita procediendo con mucha lentitud, pesándolos con frecuencia y suspendiendo el tratamiento desde el momento en que la báscula señale una disminución de peso que valga la pena de ser tomada en cuenta. En este caso se suspenderán las inyecciones todo el tiempo que necesite el animal para recobrar su peso primitivo.

»A los seis meses de tratamiento, el suero de los animales de este modo tratados posee las siguientes propiedades:

»Inyectándolo á conejos de Indias sanos, á la dosis de $\frac{1}{2}$ á 1 cc. cada tres ó cuatro días, los caquectiza y mata.

»Inyectándolo á igual dosis á los conejos de Indias tuberculosos, acelera la marcha de la enfermedad de tal modo, que los animales tratados mueren antes que los testigos.

»Tanto en los conejos de Indias sanos como en los tuberculosos, los efectos locales de las primeras inyecciones son nulos; pero conforme aumentan en número, van éstas seguidas de la formación de un ligero edema que dura de dos á tres días.

»Los conejos de Indias sanos que han recibido unas cuantas inyecciones de suero, se tuberculizan antes que los testigos, cuando se les inocula esputo bacilado.

»A las indicadas dosis, el suero no ejerce, pues, acción profiláctica ni curativa; antes al contrario, favorece de un modo evidente el desarrollo de la tuberculosis.

»Si en vez de inyectar las cantidades expresadas, se inyectan dosis de un centigramo repetidas cada tres, cuatro ó cinco días, su acción ya no es aceleradora: entonces modera de un modo evidente la marcha de la enfermedad. Poseemos conejos de Indias tuberculosos, que fueron infectados en Noviembre del 96, que se conservan todavía en buen estado, mientras que los testigos murieron entre el tercero y cuarto mes.

»Muy raras veces se logra curar un conejo de Indias tuberculoso con el suero inyectado á pequeñas dosis; por esto debemos consignar de un modo bien explícito, que los éxitos no son de tal índole que consientan una demostración experimental de su eficacia curativa amoldada al patrón clásico, sin que uno se exponga á un fracaso.

»Se explica, pues, que el Dr. Maragliano haya, hasta cierto punto, evadido el tratar la cuestión bajo un punto de vista exclusivamente experimental, pues el suero que él prepara produce á las indicadas dosis los mismos efectos que el nuestro, y así debe ser, ya que el modo como le obtiene, no difiere fundamentalmente del método clásico antes apuntado.

»Además, como luego se verá, procediendo como hemos procedido todos los que esto hemos intentado, no es posible obtener un suero antituberculoso que colme las aspiraciones del clínico, por-

que á ello se oponen las leyes por que se rige la formación de antitoxinas en el proceso infectivo de que se trata: por lo tanto, es inútil cuanto se haga para obtener suero verdaderamente antituberculoso mientras no se varíe de procedimiento, ó no se complete el que está en uso.

»¿Es esto decir que los sueros antituberculosos que hoy se obtienen están totalmente desprovistos de acción antitóxica? En modo alguno; y en prueba de ello, reflexiónese sobre los hechos siguientes:

»Una gota de suero procedente de un animal fuertemente hiperinmunizado mezclada con 5 cc. de un cultivo del bacilo de la tuberculosis hecho en condiciones tales que vegete sin aglomerarse y que pueda por lo tanto formar emulsiones persistentes, produce de un modo el más característico, la reacción aglutinante Gruber Pfeiffer. A las 22 horas todos los bacilos quedan aglomerados en el fondo del tubo, dejando el líquido diáfano, mientras los tubos testigos continúan opalescentes.

»Y no es ésta la prueba más valiosa que puede darse de que estos sueros contienen antitoxina: las siguientes poseen un valor incuestionablemente mayor.

»Si á la cantidad mínima de tuberculina que sea capaz de producir la muerte de un conejo de Indias tuberculoso, se le mezcla la cantidad conveniente de suero, sus efectos letales quedan por completo anulados. Esto, que lo afirmó el Dr. Maragliano, es rigurosamente cierto.

»Y otra prueba de que en realidad estos sueros bien administrados poseen una acción verdaderamente antitóxica, la hemos adquirido estudiando las historias clínicas que nos han facilitado los colegas que los han usado, y estudiando personalmente su acción en el tratamiento del lupus. De los datos que sobre este particular posemos, hasta parece más fácil revelar la eficacia del suero en el hombre que en las cobayas; pues en la clínica se dan casos en que, con rapidez suma, los enfermos, con sólo recibir un par de inyecciones semanales de suero, se reponen de un modo sorprendente. Esto no obstante, por más que este remedio, hábilmente manejado, supere en ventajas á todos los otros recursos de la clásica terapéutica, no debemos forjarnos ilusiones: con el suero que hoy obtenemos dudo mucho que las curaciones que se citan sean firmes, y no vacilo en creer que, aun cuando no son raros los casos de tuberculosis pulmonar cavitaria que mejoran, ninguno de estos enfermos logrará con el suero su completa curación. Consignemos aquí que todo el secreto de los éxitos relativos que se obtienen, consiste en el empleo de pequeñas dosis y en el aumento muy gradual de las mismas.

»Desde luego ha de llamar poderosamente la atención del terapeuta, la diferencia notable que hay entre la gran tolerancia del organismo para los sueros antidiftérico y antitetánico y su escasa

tolerancia para el suero antituberculoso. Yo he visto niños que han tolerado con indiferencia 200 cc. de suero antidiftérico, dotado de 100,000 unidades antitóxicas ($\frac{1}{50}$ de gota neutralizaba la cantidad mínima mortal, de toxina, para 100 gramos de conejo de Indias) y lo mismo puedo decir del suero antitetánico que he administrado á grandes dosis sin ocasionar el menor trastorno.

»En cambio los sueros antituberculosos en uso, todos agravan la situación del enfermo, cuando no se manejan con prudencia. Diríase que estos sueros contienen tuberculina, ya que, como esta substancia, sólo á pequeñas dosis es como ponen de manifiesto sus propiedades terapéuticas; y tanto es así, que al principio de mis estudios llegué á creer que, en efecto, su acción caquetizante era positivamente debida á la presencia de una pequeña cantidad de tuberculina de la que se inyectaba á los animales con los cultivos; mas luego me convencí de que el fenómeno obedece á otra causa, explicándose por las siguientes consideraciones.

»El tóxico que mata á los tuberculosos, no es la tuberculina, ni el protoplasma venenoso del bacilo, ni las células que él necrosa: ninguno de estos agentes es causa directa del marasmo y de la consunción de los tísicos.

»El responsable directo de todo el daño, es el producto que resulta de la digestión de los leucocitos necrosados, efectuada por los fermentos de origen celular que contiene la sangre.

»El protoplasma bacilar, que es tóxico *per se*, y el protoplasma leucocitario, poseen afinidades químicas dotadas de predilección recíproca; por eso está dotado el bacilo de propiedades químio tóxicas positivas tan enérgicas, y por eso también su acción química se desenvuelve sin producción directa de veneno difusible y sin otras consecuencias que la esclerosis y muerte del leucocito. Esta célula, al reaccionar con el veneno bacilar, se modifica de tal modo, que muere y se vuelve tóxica como el mismo bacilo, y casi tan resistente como éste para dejarse atacar por los fermentos solubles del organismo; esto no obstante es lentamente digerida, y lo que resulta de su digestión es el verdadero veneno que caquetiza y mata. A la mayor ó menor producción de este veneno y á la facilidad con que se elimina ó destruye, está casi por completo subordinada la evolución de este proceso infectivo.

»Muy probablemente, es éste el tóxico que, prosiguiendo la serie de sus transformaciones, acaba por convertirse en antitoxina perfecta, esto es, en una substancia que, estando por completo exenta de toda acción tóxica, posee propiedades exclusivamente curativas.

»Si de hecho se opera semejante transformación, ¿cómo se explica que habiendo en la sangre elementos de defensa, no se cure la tuberculosis con facilidad ni posea el suero mayor eficacia? A nuestro juicio, la causa de esto debe de consistir en que las antitoxinas no son retenidas por el organismo ó son tal vez destruidas por alguna de sus entrañas toxífagas: si así no fuese, se acumularían en la

sangre y acabarían por parar los progresos de la intoxicación tuberculosa. Así pues, yo me inclino á creer que la serie no se detiene por completo en el término que nos es conocido y cuya presencia en el suero se revela de la manera que llevamos indicada, esto es, ejerciendo funciones tóxicas y antitóxicas: es más, quizás esta doble función dependa de que contiene mezclados los distintos términos de la serie, en cuyo caso nada tienen de particular la duplicidad de efectos y el predominio de la acción tóxica sobre la acción curativa.

»Por lo expuesto se adivina que, entre el suero de un tuberculoso en cuyo organismo se opera la digestión lenta de grandes masas de leucocitos necrosados, y el suero de un mulo ó de un asno sometidos al tratamiento expuesto, no caben diferencias fundamentales. La única diferencia que hay entre uno y otro, estriba en que el del tuberculoso contiene todos los elementos de la serie, con predominio de los tóxicos, mientras que el otro, como quiera que desde el momento en que se suspende el tratamiento cesa la producción de leucocitos necrosados y una vez completada la digestión de los que en aquel momento existen, cesa forzosamente la producción de los venenos superiores de la serie, que son los más tóxicos, este suero sólo puede contener los eslabones intermedios, á condición, se entiende, de practicar la sangría en plazo oportuno, esto es, después de dos meses de interrumpidas las inyecciones hiperinmunizantes.

»Suspendidas éstas, los venenos caquectizantes, por evolución química progresiva, oxidación, hidratación ó lo que sea, se transforman en productos menos tóxicos, y como cada elemento de esta serie es antitóxico con relación á los que le preceden, por esto el suero obtenido dos meses después de suspendidas dichas inyecciones, posee propiedades terapéuticas evidentes. Nada tiene por consiguiente de particular que una cantidad conveniente de suero administrada á un enfermo pueda rebajar la tonalidad tóxica de aquella porción de la gama de venenos circulantes que está por encima del tóxico más potente contenido en el suero terapéutico, como tampoco tiene nada de extraño que la dosis mínima mortal de tuberculina pueda ser neutralizada por este agente antitóxico, ni que una dosis exagerada del mismo agrave la situación del paciente. En este último caso, como cada dosis de suero supone un gran empujón hacia abajo dado á la serie en conjunto, si los emunctorios ó las entrañas toxífagas no pueden contrarrestar, con un exceso de trabajo, la oleada tóxica descendente, los efectos de la acumulación déjense sentir en el acto.

»Estos ensayos de sueroterapia antituberculosa, al darnos una idea más exacta de la patogenia de esta enfermedad, nos enseñan toda la importancia que tiene para el éxito del tratamiento la oportunidad con que se administra el suero: comenzándole cuando la invasión tuberculosa es extensa, podrá indudablemente reportar

alguna ventaja, pero poca; en cambio, en los comienzos de la infección, si ésta debuta por una zona poco extensa, el tratamiento sueroterápico, á pesar de sus imperfecciones, dará brillantes resultados.

»Por el contrario, si el proceso infectivo comienza desde un principio, como ocurre á veces, por una extensa zona, los resultados no serán tan ostensiblemente favorables; en una palabra, más bien que de la antigüedad de la infección, depende el éxito de la extensión que la misma tenga. De todos modos se impone al terapeuta la adopción de la tuberculina como agente revelador, siempre y cuando un síndrome obscuro y sospechoso permita suponer que se trata de un caso de tuberculosis. Salir de dudas con oportunidad, puede valerle al enfermo años de vida, tanto si se emplea el suero, como si se prefiere la administración de los remedios usuales. No se olvide, pues, que por ser de sí el proceso químico de la tuberculosis de una lentitud desesperante, cuanto más extensa sea la infección tuberculosa, no sólo los éxitos serán más inciertos, sino que serán también más lentos. Este punto no deben echarlo en olvido aquellos que acostumbrados á ver cómo se inicia un cambio favorable en la difteria pocas horas después de inyectado el suero, esperan de la antitoxina tuberculosa igual rapidez en sus efectos.

»Se dirá, tal vez, que lo expuesto sobre el quimismo de este proceso infectivo constituye una mera especulación teórica; puede que en parte sea así, pero es innegable que los siguientes hechos prestan gran apoyo á nuestro modo de discurrir sobre este particular.

»Hemos manifestado que el agente caquectizante es el producto de la digestión de los leucocitos necrosados, operada por los enzimas del organismo; pues bien, nada más fácil que demostrarlo operando esta digestión *in vitro*. He aquí, sobre esto, un experimento que cualquiera puede repetir.

»En suero normal de caballo, recién obtenido, emulsióñese pus caseoso procedente de un ganglio tuberculizado; agítese esta emulsión con alguna frecuencia, y á las 48 horas filtrese dos ó tres veces á través de papel Berzelius; el suero diáfano que pasa á través del filtro, posee todas las propiedades que hemos señalado en el suero procedente de solípedos hiper-inmunizados; caquectiza y mata á grandes dosis, modera la marcha de la infección tuberculosa á dosis pequeñas, y produce también la reacción Gruber Pfeiffer con los cultivos del bacilo tuberculógeno.

»El éxito de este experimento es el mismo si antes se lava el pus con agua esterilizada con objeto de quitarle el tóxico preformado que puede llevar consigo; es, pues, evidente que los fermentos solubles contenidos en el suero sanguíneo normal, operando la digestión parcial de los leucocitos necrosados, adquiere propiedades tóxicas y antitóxicas.

»He aquí otro hecho que tiende á probar lo mismo. En un frasco de boca ancha, de suficiente capacidad, pónganse unos 500 cc. de

esputos bacilados y abandonense en sitio obscuro un par de meses, para que fermenten espontáneamente. Transcurrido este tiempo, mézclense con un volumen igual de glicerina y filtrense con esmero. El filtrado determina con energía la reacción Gruber Pfeiffer y posee las demás propiedades señaladas en el suero antituberculoso. Las toxinas resultantes de la acción de las bacterias que intervinieron en la fermentación, no revelan su presencia con los efectos que eran de esperar; sin duda los leucocitos muertos, que no todos estarán en igual grado atacados por la toxina tuberculógena, combínanse también con fermentos bacterianos, y de ahí el que éstos sean poco potentes para comunicarle al producto una toxicidad extraordinaria.

»En cuanto al poder aglutinante del líquido así obtenido, si se ensaya con cultivos de bacilos de la tuberculosis viejos y obtenidos conforme se indica en nuestra nota del 6 del corriente, la reacción alcanza hasta digerir todos los bacilos viejos, y la emulsión se aclara sin formar apenas precipitado.

»De otro modo puede también obtenerse un producto parecido á los antes citados.

»Abandónese tres ó cuatro meses á espontánea fermentación, sin tener cuidado antiséptico de ningún género, un litro de suero normal de carnero ó de caballo; hágase esto en un bocal de dos litros de capacidad no esterilizado y mantenido á la temperatura del ambiente en sitio obscuro. Cuando la producción bacteriana haya sido tan abundante que los microbios sedimentados formen en el fondo del frasco un estrato equivalente al quinto de la altura total de la capa de suero, mézclase todo con un volumen igual de glicerina y filtrense guardando los mismos cuidados que antes se indicaron.

»El líquido filtrado contiene, casi siempre, zimasas bacterianas capaces de digerir los leucocitos contenidos en los esputos bacilados.

»Si en un tubo de ensayo se ponen 20 cc. del filtrado y luego se le emulsiona 1 cc. de esputo, como no hayan intervenido en la fermentación del suero mucedíneas ó bacterias perturbadoras, ocurre que la emulsión, antes de las 24 horas pierde su homogeneidad, se forman grandes glomérulos que flotan como nubes y se precipitan lentamente.

»Este fenómeno se parece mucho á la reacción aglutinante Gruber Pfeiffer que produce el suero de los animales hiper-inmunizados, en los cultivos del bacilo de la tuberculosis, hechos de modo que cada bacteria vegete sin adherirse á las demás.

»Dejando los tubos en reposo, las masas nebulosas sedimentadas disminuyen gradualmente hasta el punto de que á los 15 ó 20 días, el examen óptico no revela en el sedimento la presencia de leucocitos y, á veces, ni de bacilos. Con frecuencia, una vez operada esta digestión, no ya el examen óptico, pero ni tan siquiera las inoculaciones en conejos de Indias, revelan la presencia del bacilo de la

tuberculosis en este suero. Si una vez terminado este trabajo digestivo, para mayor garantía de asepsia se filtra el líquido resultante, pueden obtenerse con él exactamente los mismos resultados que se obtienen del suero procedente de animales hiper-inmunizados, exceptuando la reacción aglutinante; esta propiedad quedó sin duda agotada con la aglutinación de los leucocitos.

»Merece consignarse el hecho de que todas estas substancias administradas á gotas por vía gástrica, producen efectos terapéuticos favorables.

»Infiérese de lo expuesto:

»1.º Que en el caso particular de la tuberculosis y probablemente en otros muchos, la toxina no se transforma de un salto en antitoxina, sino que entre una y otra media una serie más ó menos larga de estados intermedios, de cuya estabilidad química y facilidad de eliminación depende quizás el que puedan obtenerse sueros curativos más ó menos eficaces.

»2.º Que el suero para combatir la tuberculosis, tal cual hoy se obtiene, será tóxico ó antitóxico, según á qué dosis lo empleemos.

»3.º Que puede obtenerse *in vitro*, haciendo obrar los fermentos solubles contenidos en un suero normal, sobre los leucocitos necrosados por el bacilo de la tuberculosis.

»4.º Puede igualmente obtenerse *in vitro* mediante la acción de los fermentos bacterianos sobre los expresados leucocitos.

»El problema, como se ve, no queda resuelto de un modo que satisfaga las exigencias del médico práctico; y como quiera que la substancia que mata deriva de los leucocitos necrosados, y no directamente del bacilo, éste, inyéctese atenuado ó como se quiera, no inmuniza contra los efectos de aquélla; y como además, según se desprende de nuestros experimentos, es dicha substancia de aquellas cuya formación queda favorecida cuando el medio en que ha de originarse contiene preformada una cierta cantidad de la misma, y para que las dificultades lleguen al colmo, más bien que acción microbida parece ejercer una acción favorable á la perpetuación del microbio en el organismo, por mucho que supere la eficacia del suero á la de los remedios clásicos, no representa, como queda ya indicado, más que una solución aproximada, de un valor muy relativo, que nos alienta á proseguir este trabajo dejándonos entrever nuevos derroteros que quizás conduzcan á la solución definitiva que con tanto afán perseguimos.

»Desde luego nos ha permitido formular nuevas hipótesis que hemos sometido al crisol de la experimentación con resultados que publicaremos cuando sea oportuno; así, por ejemplo, nos hemos preguntado si el suero que hoy obtenemos es capaz de completar su transformación en antitoxina pura, considerándole como toxina é hiper-inmunizando con él mulos y asnos en vez de hiper-inmunizarles con cultivos ó con productos tuberculosos; ó si podrá obtenerse una antitoxina más eficaz completando *in vitro* la trans-

formación del suero que hoy se obtiene mediante la acción de microorganismos cuyo quimismo resulte semejante al de las células de los organismos superiores.

»Y por si acaso la acción ambigua del suero fuese debida á la mezcla en el mismo de albúminas tóxicas y antitóxicas, cabe ensayar su separación mediante procedimientos químicos.

»Aparte de estas soluciones hipotéticas, el conocimiento de los nuevos estados del bacilo de la tuberculosis nos deja entrever otras soluciones cuyo valor positivo ó negativo aquilatarán los trabajos que estamos llevando á cabo y que, quizás muy en breve, nos den ocasión de publicar otras notas sobre estas interesantes cuestiones.»

CAPÍTULO XIX

Hechos y teorías.—Acción de los fermentos solubles de origen microbiano.—Nuevo *Streptothrix* aislado en la vacuna de ternera.—Producción de una substancia mucinoide por las bacterias.—Modo de desarrollo del pneumococo en diferentes sueros.—Producción de mucinas por las bacterias.—Acción neutralizante de la neurina sobre la toxina tetánica.

BIBLIOGRAFÍA.—Lepierre: *Annal. de l'Inst. Pasteur*. — Charrin et Desgrez: *C. R. Soc. Biol.*—Openschwsky: *Arch. f. Physiol.*—Roger et Josue: *C. R. Soc. Biol.*

Acción de los fermentos solubles de origen microbiano. — Los fermentos solubles cambiando el número de moléculas del medio en el cual han sido segregados, hacen variar la presión osmótica de este medio, como se comprueba observando que el bacterium coli aumenta la presión osmótica del caldo en que se cultiva.

Según Charrié, este aumento es tanto mayor cuanto el cultivo ha tenido más tiempo para desarrollarse, pues en efecto, el descenso del punto de congelación del líquido sembrado, que es proporcional al crecimiento de la presión osmótica, crece con la edad del cultivo.

Con un caldo que se congelaba á $-0^{\circ}63'$ el bacterium coli ha dado 10 horas después de la siembra $-0,65^{\circ}$; con un caldo que se congelaba á $-0^{\circ}95'$ ha dado después de 15 horas $-0^{\circ}98'$ en un tubo, $-0^{\circ}98'$ en otro y $-1^{\circ}20'$ en un tercero. Vese, pues, que en general el descenso es más marcado cuanto más viejos son los cultivos.

Estos resultados demuestran como la célula puede reaccionar en presencia del fermento microbiano; pero conviene tener presente de qué manera el sistema nervioso viene á su vez en ayuda de la célula permitiéndole limitar sus defensas á los medios de que dispone.

En efecto, si consideramos no sólo la presión osmótica, sino la presión en el sentido corriente que tiene en hidrostática, y si suponemos que ésta última viene á acrecentarse en el medio en el cual el fermento microbiano provoca los desdoblamientos moleculares, la corriente de agua dirigida desde el interior de las células hacia el

medio en el cual vive el microbio, será más lenta y podrá detenerse. Esto resulta rigurosamente de las experiencias clásicas sobre el movimiento de los fluidos en el estudio de la presión osmótica, á condición de que este aumento de presión no sea bastante fuerte para alterar la naturaleza física de la pared semipermeable de la célula.

Compréndese, pues, que las células no quedarán en la necesidad de perder su agua ó de fabricar nuevas moléculas para mantener el equilibrio osmótico entre su contenido y el líquido exterior en contacto del cual se encuentran.

De aquí resulta que en el caso en que el fermento microbiano provoca las multiplicaciones, el aumento de presión natural ó provocada será de grande utilidad. Se ve igualmente, que en el caso en que el fermento microbiano obra para disminuir el número de moléculas, la reacción del sistema nervioso deberá disminuir la presión en lugar de aumentarla, y entonces será ventajoso, y por las mismas razones, provocar la disminución de esta presión.

Nuevo *Streptothrix* aislado en la vacuna de ternera. — Cuando se practica durante la estación de verano siembras de pulpa vacuna fresca tomada sobre la ternera, se aísla entre otros microbios secundarios un *Streptothrix*, cuya frecuencia es tal que, según Sabrazés, en 20 siembras en que lo ha cultivado, se ha desarrollado cinco veces este hongo. También se han obtenido colonias del mismo dejando en contacto de la gelosa las moscas cogidas sobre la piel de una ternera inoculada. Si se transporta sobre los medios nutritivos la pulpa vacuna incorporada á partes iguales de glicerina neutra, se sabe que el número de los diversos microorganismos asociados al virus vacunante disminuye progresivamente, pero el cultivo del citado *Streptothrix* permanece positivo en estas condiciones.

Los cultivos iniciales tienen el aspecto de islotes blancos, planos, redondeados, con bordes concéntricos, dentellados y con un pequeño botón en el centro; la cara profunda es amarillo agrisada. El examen microscópico hace ver un micelio fino, muy ondulado, ramificado, no segmentado y que sostiene filamentos que por su extremidad libre dan esporos redondos cuyo diámetro no pasa de 1'20 μ . Este hongo estrictamente aerobio se desarrolla á la temperatura de 15 á 40°, siendo sus condiciones 37° sobre albúmina de huevo coagulada y sobre gelosa. Germina sobre los medios sólidos bajo la forma de una membrana granulosa empolvada de blanco y con un fuerte olor á enmohecido. Sobre los medios líquidos, crece principalmente en la superficie; en la leche se nutre á expensas de la manteca y de la caseína y no ataca la lactosa sino muy débilmente.

Hace líquida la gelatina, el suero sanguíneo y la albúmina de huevos coagulados; cubre la patata de una vegetación de aspecto de yeso y le da un pigmento gris verdoso. Hace virar la patata dulce al tinte verde amarillento. Este hongo puede vivir también

sobre la paja húmeda y en la superficie de las hojas de encina. Sus esporos no resisten á una temperatura de 75° durante un cuarto de hora. El micelio y los esporos se colorean por el método de Gram, y conservan el color rojo de la fuchsina fenicada después de la acción del ácido sulfúrico á $\frac{1}{5}$, ó del clorhidrato de anilina al 2 por 100 asociado con el alcohol absoluto.

Su temperatura óptima que es de 37° y su propiedad notable de peptonizar las materias albuminoídes están en favor de la posibilidad de una adaptación parasitaria de este hongo. Sin embargo, hasta ahora sólo puede considerarse como saprofito y se estudian sus condiciones para investigar si puede ser patógeno.

Producción de una substancia mucinoide por las bacterias. — Charrin y Desgrez han publicado recientemente interesantes datos con relación á las energías químicas de las bacterias. Según estos autores, ciertos cultivos del bacilo piociánico toman una consistencia viscosa, filante, que hace suponer en los líquidos la presencia de una substancia albuminoide, análoga á la mucina. Esta substancia se forma en los caldos preparados, segun la técnica habitual, con carne. No se encuentra, ó sólo se notan vestigios de ella, si los caldos no contienen más que substancias minerales ó peptona en la proporción de 1 por 100. Además, no hay ninguna relación entre la fabricación de este producto y la formación de piocianina.

Los cultivos que contienen moco precipitan por el alcohol, el ácido acético, los ácidos minerales, la sal marina y el sulfato de magnesia. El precipitado formado por el alcohol se hincha en el agua y de tal manera se disemina que parece disolverse, en cuyo estado puede atravesar los filtros.

El precipitado obtenido con el ácido acético es insoluble en un exceso de reactivo, pero se redisuelve en los álcalis y sus carbonatos dilatados. Los ácidos minerales en exceso redisuelven igualmente el precipitado, al cual dieron origen en un principio.

Estos caracteres, función ácida, insolubilidad en el agua y en el ácido acético, son los principales de los compuestos mucinoídes. En cuanto al desdoblamiento con los ácidos dilatados con producción de una goma reductriz, desdoblamiento característico de las verdaderas mucinas, sólo se ha encontrado en algunos cultivos. La investigación del fósforo en el precipitado ha dado resultados positivos en ciertos cultivos viejos, en cuyo caso es autorizada la suposición de que esta substancia mucinoide va acompañada de una núcleoalbúmina, como ha hecho notar Weyl en los cultivos del bacilo de la tuberculosis. En el caso presente se podría admitir que el microbio, según las condiciones, fabrica un producto más ó menos perfeccionado.

Las masas viscosas existentes en los cultivos que han dado las reacciones indicadas, no están constituidas exclusivamente por conjuntos de microbios, pues el microscopio sólo revela las bacterias en número limitado. Además, los cultivos en medios minerales

ó peptónicos, que no dan las mismas reacciones, contienen poco más ó menos tantas bacterias como los primeros.

Esta substancia mucinoide disuelta en el carbonato de sosa dilatado é inyectada en la vena marginal de la oreja de un conejo, á la dosis de 0'15 gramos por kilogramo de animal, ha producido una serie de accidentes. La temperatura rectal baja desde el primer momento; sobreviene la diarrea y puede ocasionarse la muerte en menos de un día. Con dosis menos fuertes, el animal enflaquece rápidamente, pierde un cuarto de su peso en cuatro días y sucumbe por albuminuria, presentando en la autopsia señales de enteritis y de hemorragias intramusculares.

Estos resultados demuestran que la substancia mucoide ó acaso un principio arrastrado por ella á la manera de las diastasas, produce accidentes que recuerdan hasta cierto punto la intoxicación piociánica. Puede dudarse, efectivamente, si en los cultivos microbianos entran ó no principios que puedan ser arrastrados por otros elementos y en particular por el cuerpo de las bacterias. La rapidez de las perturbaciones producidas, la ausencia de toda incubación y resultado negativo de las siembras, demuestran que en este caso se trata de un proceso tóxico y no bacteriano. El tratamiento por el ácido acético, repetido para la purificación del principio, bastaría además para atenuar, sino para destruir, los microbios del pus azul.

Es muy interesante observar como la célula microbiana engendra una substancia análoga á la que producen las células del organismo y toda una serie de otras células vegetales. No es menos interesante el observar que las inflamaciones de las membranas mucosas van acompañadas frecuentemente de la formación de elementos mucosos y que en general dan las reacciones de la mucina. Es tan importante este carácter que se aplica á estos procesos la denominación de inflamaciones mucomembranosas.

Pero en tales afecciones las bacterias se desarrollan generalmente en abundancia, y es permitido preguntarse si estas bacterias no entran por una parte variable en la producción de tales substancias. Y la duda es tanto más legítima en cuanto más de una vez, especialmente en la enteritis mucomembranosa, las células normales de la mucosa se disgregan, mientras que las células bacterianas van aumentando sucesivamente.

Algunas investigaciones todavía incompletas, pero que van realizándose, relativas al estafilococo, al colibacilo y al virgula cólico, permiten afirmar que la formación de substancia mucinoide no es una propiedad especial del bacilo piociánico, pudiendo añadir igualmente que todas las diferentes razas de este bacilo son capaces de producir la misma substancia.

Modo de desarrollo del pneumococo en diferentes sueros. — El suero del hombre y de los animales presenta desde el punto de vista del cultivo, de la vitalidad y de la virulencia del pneumococo

que se siembra en él, diferencias profundas, según se trate de una especie sensible ó refractaria á este microbio.

Solamente el suero del conejo es el que hasta el presente ha sido objeto de un estudio profundo. En este medio, según Bezançon y Griffon, el cultivo adquiere rápidamente una abundancia extrema y es considerado como el más conveniente, como el mejor, para el desarrollo del pneumococo.

En cuanto á la vitalidad del pneumococo demuestran los citados autores que la que adquieren estos cultivos es efímera y no pasa de dos días, si bien en una segunda publicación le dan una sobrevivida mucho más larga. Realmente pueden presentarse las dos eventualidades; vitalidad corta ó larga. Las variaciones de vitalidad están reguladas por dos factores importantes: por una parte influye la edad de los animales que proporcionan el suero y por otra el grado de virulencia del pneumococo sembrado.

Entre el suero de un conejo joven y el de uno viejo considerados desde el punto de vista del cultivo del pneumococo, hay diferencias muy definidas. El pneumococo sembrado en el suero de conejo joven, de dos meses, por ejemplo, después de 24 horas á 37° produce un enturbiamiento muy espeso y un depósito que aumenta rápidamente. La vitalidad en este medio es siempre relativamente corta, limitada y proporcional al grado de virulencia del microbio sembrado, durando generalmente de 4 á 5 días, y no pasando de dos semanas.

El mismo microbio sembrado en suero de conejo viejo, de dos años por ejemplo, se desarrolla más pobremente. El medio queda límpido y el examen microscópico hace visibles los diplococos encapsulados como en el medio precedente, pero mucho menos abundantes. La riqueza en microbios parece está en relación con el estado claro ó turbio del medio y que es tanto mayor cuanto éste aparece más turbio.

Si el conejo es muy viejo, el suero permanece claro hasta la muerte del microbio; si el animal es de una edad media, el suero se enturbia poco á poco y presenta también un ligero depósito, encontrándose así entre los tipos extremos del suero todos los intermedios según la edad de los animales. La vida del microbio en un suero viejo no está limitada; desde algunos días, si el pneumococo está atenuado, se eleva de 2 á 3 meses, si se aumenta la virulencia del pneumococo por su paso á través del organismo de los conejos.

La importancia del factor virulencia puede ser comprobada además en todos los medios; en el caldo, donde el pneumococo no vive más que algunos días por regla general, han podido conservarse pneumococos muy virulentos desde quince días hasta cinco semanas y más.

Estas diferencias se encuentran cuando se emplea el suero de otros animales; el suero del perro joven se enturbia desde el pri-

mer día y pronto produce un depósito; el del perro viejo permanece claro y se comporta como el suero del conejo muy viejo.

El pneumococo parece que se desarrolla de igual manera en el suero del conejo doméstico. Se desarrolla también con mucha abundancia en el suero de la gallina, dando un precipitado y un depósito que acaso no se encuentran en los demás sueros, pero se desarrolla muy pobremente en los sueros de caballo y de buey, estudiados hasta hoy.

El suero del hombre es un medio diferente según la edad del sujeto; el cultivo es abundante, turbio en el suero del niño, y pobre y límpido en el del adulto y el viejo. Si en lugar de tomar el suero sanguíneo se experimenta sobre la serosidad de la ascitis ó de la pleuresía, el cultivo resulta aún más pobre. En el curso de la infección pneumocócica el suero de los enfermos experimenta modificaciones especiales, constantes, más ó menos marcadas, aplicables al diagnóstico de la enfermedad. El pneumococo se desarrolla mejor en el suero de un individuo infectado; entonces el medio se enturbia al principio, y después, á un grado más avanzado, todos los microbios están aglutinados en una verdadera falsa membrana que cae al fondo del tubo de cultivo.

La propiedad aglomerante se manifiesta en su máximo sobre la misma variedad del pneumococo como causa patógena. Su vitalidad en estos sueros, en estado normal ó de infección, está en razón inversa de la riqueza del cultivo; muy larga si el pneumococo es virulento, en el suero humano, normal y mucho más corta en el suero del pneumónico, se va haciendo más larga á medida que se toma el suero más lejos del período de infección.

Teniendo en cuenta que no deben generalizarse al organismo viviente los fenómenos comprobados *in vitro*, podemos deducir, sin embargo, que el pneumococo cultivado en los sueros sanguíneos puede comportarse de dos maneras muy diferentes. En el suero tomado de un animal muy sensible se desarrolla con una riqueza extrema, pero muere rápidamente en este medio tan favorable á su pululación. En el suero tomado de un animal considerado refractario, el cultivo es pobre en pneumococos, pero éstos conservan largo tiempo su vitalidad y su virulencia.

Los individuos jóvenes de las especies animales consideradas como refractorias al pneumococo, son realmente muy sensibles á este microbio; los individuos viejos de las especies sensibles son muy resistentes. Esta influencia de la edad de los animales sobre la receptividad del pneumococo se encuentra cuando se cultiva el microbio en el suero. Los individuos jóvenes de las especies animales refractorias tienen un suero en el cual el pneumococo se comporta como en el de los animales sensibles. Los individuos viejos de las especies sensibles, tienen un suero en el cual el pneumococo se comporta como en el de los animales refractarios.

Si la duración de la vitalidad del pneumococo en el suero de las especies sensibles es limitado y relativamente corto, no sucede lo mismo cuando se toma de los animales refractarios; la duración de la vitalidad de los cultivos, siempre más grande en ellos que en los animales sensibles, está sin embargo sometida á grandes desigualdades. Estas variaciones para un mismo suero están subordinadas al grado de virulencia del pneumococo sembrado; cuanto más virulento es el microbio, mayor es su sobrevida en los cultivos.

Producción de mucinas por las bacterias. — Según Lepierre, el bacilo fluorescente patógeno produce grandes cantidades de mucina. Los cultivos en peptona, filtrados, contienen después de algún tiempo grandes cantidades de mucina. El caldo de carne proporciona en cambio mucha menos.

En esta mucina se han reconocido los caracteres siguientes: precipita por el ácido acético, es insoluble en un exceso moderado de este ácido y soluble en los álcalis debilitados, de cuya solución precipita por los ácidos. Este precipitado purificado por precipitaciones sucesivas y dialisado, contiene el nitrógeno. Todas estas propiedades excluyen la idea de una gelatina ó de una goma.

Los cultivos que se desarrollan en los medios minerales contienen mucina, aun aquellos en que no se produce la fluorescencia. Los medios donde el microbio se ha desarrollado sin producirla, pero produciendo la mucina, eran de base de lactato, malonato, tartronato, isosucinato, pirotartrato, etilmalonato, glicerato ó glucolato; los medios en que se han producido la fluorescencia y la mucina son el citrato, el succinato, el oxipirotartrato y el glutarato. En la mucina del bacilo fluorescente se ha comprobado la ausencia completa del fósforo y su desdoblamiento por los ácidos con producción de hidrato de carbono reductor. Trátase pues de una mucina verdadera y no de una nuclealbúmina. Comparando estos resultados con los obtenidos para el bacilo piociánico, se ve que la formación de la mucina es independiente de la función cromógena. Pero mientras que el bacilo piociánico no produce mucina en los medios minerales ó peptonizados, produciéndola en los caldos de carne, el bacilo fluorescente la produce en gran número de medios minerales y en los medios peptonizados sin producirla en los caldos de carne.

En cuanto al papel que desempeñan las bacterias mucinógenas en las inflamaciones muco-membranosas, pueden aplicarse las mismas teorías que dejamos consignadas al tratar de los hechos citados por M. Charrin.

Acción neutralizante de la neurina sobre la toxina tetánica. — Investigaciones muy recientes han comprobado que la toxina tetánica no provoca accidentes cuando se la inyecta después de mezclada con una pequeña cantidad de tejido cerebral.

¿Esta acción neutralizante es debida á una propiedad de las células nerviosas ó á la presencia de una materia soluble? Sin que

pretendamos resolver el problema, creemos interesante reproducir los experimentos realizados por Roger y Josue, partiendo de una base bien definida, la neurina, que representa un producto de desasimilación de la substancia cerebral y que toma origen en el curso de ciertas putrefacciones.

Estos autores han hecho sobre las cobayas cuatro especies de observaciones:

- 1.^a Inyección subcutánea de toxina pura,
- 2.^a Inyección subcutánea de neurina pura,
- 3.^a Inyección subcutánea de toxina y de neurina mezcladas,
- 4.^a Inyección subcutánea sucesiva de toxina y de neurina.

La toxina tetánica inyectada bajo la piel de una cobaya de 500 gramos á la dosis de 0'01 á 0'05 cc. determina al cabo de 48 horas la aparición de contracciones que van aumentando progresivamente, sucumbiendo el animal al 3.^o ó 4.^o día.

La neurina en inyección subcutánea mata una cobaya de 400 gramos á la dosis de 0'012 gramos; la muerte sobreviene en algunas horas. Si se introducen 6 miligramos, se provoca un vivo dolor local seguido de un poco de agitación; pero al cabo de algunos minutos el animal queda completamente tranquilo.

Algunas cobayas de un peso un poco inferior al de los testigos han recibido bajo la piel una mezcla de 0'1 á 0'15 cc. de toxina tetánica y de 6 miligramos de neurina. Todos estos animales han sobrevivido sin haberse presentado el menor accidente. Si se aumenta la dosis de toxina inyectando por ejemplo 0'2 á 0'25 cc., los animales sucumben, pero mueren más tarde que los testigos que han recibido cantidades 4 ó 5 veces menores.

Para que resulte la experiencia es preciso mezclar previamente las dos substancias. Si se inyecta sucesivamente la toxina y la neurina, bien en dos puntos diferentes, bien en el mismo punto, los animales sucumben casi al mismo tiempo que los testigos.

De estos hechos puede deducirse que la neurina ejerce una acción neutralizante sobre la toxina tetánica, pero esto á condición de que sea mezclada con ella antes de penetrar en el organismo.
