

BOLETÍN DEL INSTITUTO DE SUEROTERAPIA, VACUNACIÓN Y BACTERIOLOGÍA DE ALFONSO XIII

Año I.

Madrid 30 de Junio de 1905.

Núm. 2.

SUMARIO

Sección original: Sobre la degeneración y regeneración de los nervios, por *S. R. Cajal*. Coloración de los bacillus Phymogenus, de la lepra, de Lustgarten, esmegmas, cerumen y para-tuberculosos por la eosina, por *A. Mendoza*.—Profilaxis de la viruela ovina, por *D. García é Izcarra*.—Nuevos datos sobre el Micrococcus tetragenus mobilis ventriculi, por *A. Mendoza*.—**Información científica:** La vacunación antitífica, por *F. Murillo*.—Sobre la existencia de spirochaetes en la sífilis, por *A. Mendoza*.—**Sección de Análisis y Estadística:** Estadística de los animales sometidos á tratamiento antirrábico en el Instituto de Alfonso XIII durante el año de 1904, por *J. Hidalgo*.—Nueva adulteración del pimentón, por *R. de la Puerta*.

Sección original.

Sobre la degeneración y regeneración de los nervios

por *S. R. Cajal*.

La cuestión de la regeneración de las fibras nerviosas periféricas consecutiva á su sección, parecía problema definitivamente resuelto, después de las luminosas experiencias de Ranvier, Vanlair, Stroebe y otros muchos autores; todos los cuales coincidían en este punto esencial: que las fibras nerviosas aparecidas en el cabo periférico semanas después de la operación, representan sencillamente la continuación, por ramificación y crecimiento, de los tubos nerviosos sanos del segmento central mantenido en relación con los centros tróficos correspondientes. Por tanto, los tubos nerviosos viejos y degenerados del segmento periférico, desaparecidos los axones y la mielina, serían *neurotizados*, según la conocida frase

de Vanlair, por una poderosa corriente de fibras finas brotadas del cabo central, y las cuales se insinuarían en las antiguas vainas de Schwan del nervio mortificado.

En tal dictamen (que por estar basado en cientos de exactas y concordantes observaciones se reputó firme y definitivo) descansaba la ciencia, cuando en estos últimos años Bethe, un fisiólogo cuyo destino parece ser resucitar todas las hipótesis muertas y olvidadas, vistiéndolas con ropaje moderno y sugestivo, ha salido gallardamente á la defensa de la antigua doctrina poligenésica de los tubos nerviosos, refutada en el terreno embrionario por las investigaciones de His, las nuestras y de Lenhosek; aseverando que las fibras neoformadas del segmento periférico no provienen (al menos en los animales de pocos días y en ciertas condiciones experimentales señaladas por él) del central, sino que son el resultado de una diferenciación neuromatosa del protoplasma y núcleos de la membrana de Schwan de los tubos aparentemente muertos por su interrupción con las neuronas de origen.

Dicho sabio, en unión de Monckenberg, da, como fases de tan singular proceso, que llaman de *auto-regeneración nerviosa*, las siguientes: 1.^a, las células de la vaina de Schwan se alargan por crecimiento del protoplasma, en el cual se diferencia un cordón axial y una capa cortical plasmática; 2.^a, cerca del núcleo se inicia la producción de las neurofibrillas futuras constitutivas del axon; 3.^a, las células originariamente discontinuas, así como sus neurofibrillas, forman series fusionándose por sus cabos y engendrando axones continuos; 4.^a, en fin, ulteriormente sobrevendría secreción de la mielina y producción de las estrangulaciones de Ranvier, etc., etc. Todos estos fenómenos del cabo periférico serían particularmente precoces cerca de la lesión traumática, por cuya razón se ha cometido la equivocación de atribuir las nuevas fibras á una *neurotización* del nervio degenerado (1).

Tan singulares conclusiones, en pugna con los datos mejor establecidos de la anatomía patológica nerviosa, han sido impugnados por Münzer (2), quien en recientes experimentos ha demostrado contra Bethe la legitimidad de la doctrina clásica, poniendo de manifiesto que las fibras neoformadas del segmento distal emanan del neuroma ó tejido nervioso proliferado de la cicatriz, á su vez enlazado muy verosímilmente con las fibras del segmento proximal. Tales experiencias críticas hánse efectuado en conejos de tres á seis semanas, á quienes se reseco, en la extensión de dos centímetros, el nervio ciático.

(1) *Bethe*: Ueber die Regeneration peripherischer Nerven. *Arch. F. Psychiatrie*, Rd. 34, 1901. Véase también *Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems*. 1903.

(2) *Münzer*: Gibt es eine auto genetische Regeneration der Nervenfasern? *Neurol. Centralb.*, 1902.

Por su parte, Lagaro sólo ha obtenido resultados negativos operando con las precauciones necesarias para evitar la penetración de las fibras centrales en el cabo periférico. Así, este cabo no mostraba dos meses después de la operación ninguna fibra regenerada, si en vez de seccionar el ciático en el muslo se cortan la raíces nerviosas de la medula lumbar.

También J. N. Langley y H. K. Anderson se han pronunciado en contra de la auto-regeneración en el último congreso de Fisiología.

Pero he aquí que, con extrañeza general y cuando comenzaba á olvidarse la peregrina teoría de la auto-regeneración, un observador del mérito de Van Gehuchten (1) se siente arrastrado por las conclusiones de Bethe, declarando que en los animales de pocos días, cuyo nervio ciático cortado (segmento periférico) se puso al abrigo de la invasión de los tubos centrales, genéranse fibras nerviosas completamente independientes de los centros tróficos.

La experiencia de V. Gehuchten, análoga á otras publicadas por Bethe, consiste en arrancar el nervio ciático de un perro de pocos días, y replegar el cabo periférico en el hueco poplíteo. Transcurridos varios meses y antes de sacrificar el animal, se advirtió que la excitación del cabo periférico producía contracciones en los músculos de la pierna y pie, mientras que la estimulación del central no provocó efecto alguno en la musculatura de la pantorrilla. Anatómicamente, ambos cabos aparecían discontinuos. No dice, sin embargo, Van Gehuchten, haber realizado examen micrográfico de la región de la cicatriz intermediaria ni del nervio regenerado.

Todos los trabajos efectuados hasta hoy sobre la cuestión importante de la regeneración de los nervios adolecen de una deficiencia técnica grave, á la que hay que achacar principalmente las divergencias de opinión reinantes en esta parte de la ciencia. Consiste en que las observaciones se han practicado de preferencia en cortes finos coloreados por el ácido ósmico, en los cuales es imposible sorprender la marcha y conexiones de las fibras y sobre todo el origen y comportamiento de los axones, factor principal del proceso regenerativo; y aunque Bethe parece que, modificando su método, ha logrado cierta coloración selectiva de las neurofibrillas de los tubos medulados, ni esta impregnación es constante ni tiene lugar (si hemos de juzgar por nuestros ensayos) en las fibras ameduladas, ni puede lograrse sino sobre cortes finísimos, donde todo propósito de persecución de las fibras nerviosas representa vana y temeraria empresa.

(1) V. Gehuchten: Considérations sur la structure interne des cellules nerveuses, etc., *Le Neuraxe*, Vol. VI aic. I. 1904.

Esta laguna técnica responsable de tanta incertidumbre, puede en gran parte llenarse con el proceder de impregnación al nitrato de plata reducido (fijación alcohólica). Como nuestras experiencias y las de Sapena ponen de manifiesto, este reactivo, colorea constantemente los axones medulados y amedulados de los segmentos periférico y central del nervio, así como todo el neuroma intermediario de la cicatriz y cuantas fibras nerviosas libres inundan la vecindad de la región inflamada; y este teñido de color negro ó café intenso sobre fondo amarillo transparente se logra en cortes espesos de extensión ilimitada.

Siguiendo á Bethe y V. Gehuchten, nuestros experimentos de sección nerviosa han tenido lugar en perros, gatos y conejos de una á cinco semanas de edad.

En fin, advirtamos que los resultados aquí consignados constituyen un resumen de un trabajo más extenso y con numerosos grabados que pensamos publicar más adelante en unión de nuestro ayudante el doctor Dr. Sapena.

En dos partes dividiremos este trabajo. La primera tratará de la regeneración en condiciones poco difíciles (simple sección de los nervios, sección con resección, sección seguida de replegamiento); la segunda tratará de la regeneración cuando los obstáculos á la reunión de la herida nerviosa son considerables.

I.—Regeneración en condiciones favorables ó poco severas.

1. Sección sencilla del nervio ciático en un conejo, sin apartamiento de los segmentos nerviosos. Examen cinco días después de la operación.—Macroscópicamente, ambos segmentos aparecían unidos por un ligero abultamiento. Practicados cortes á lo largo del nervio, se observaron:

En el segmento periférico.—Fragmentación de la mielina, irregularidad del contorno de las fibras y segmentación de los axones. Estos, incoloreables ya en la mayoría de los tubos, teñíanse en algunos parajes de pardo claro, mostrándose apelotonados, vermiformes y como espiroides. En ellos no se ve rastro de neurofibrillas; en su lugar aparece una masa finamente granulosa. En torno de estos pedazos encogidos de axon, yace un espacio claro que, en los preparados del ácido ósmico, está relleno de gotas de grasa.

No existen fibras de nueva formación ni indicio de ellas. Sin embargo, á fuerza de buscar pueden hallarse algunas hebras delicadas que pare-

cen haber resistido á la degeneración; son ciertas fibras simpáticas del nervio, cuya fragmentación y destrucción se operará en los siguientes días.

Cabo central.—A cierta distancia de la lesión, permanece inalterado, pero cerca de la herida, la túnica medular y vaina de Schwan, muéstranse sumamente dilatadas. En nuestros preparados, en el lugar de la mielina (que no se tiñe) aparece una robusta red de neuroqueratina cuyo espesor se exagera á medida que nos aproximamos á la sección. En cuanto á los axones de esta porción, afectan grandes irregularidades de forma, apareciendo varicosos, moniliformes y como hinchados según mostró ya Ranvier. El cabo libre suele estar representado por una gruesa varicosidad.

2. Conejo sacrificado diez días después de la operación en las mismas circunstancias que en el caso anterior.—Distingamos tres regiones: cabo central, cabo periférico y neuroma ó región cicatrizal intermediaria.

Cabo periférico.—La ruina de los tubos medulados se ha consumado; los axones dejan de teñirse y parecen reabsorbidos; los cilindros grasientos y pléyades de gotas bien descritos por los autores, salpican el nervio; descartada en muchos puntos la grasa por fágocitos, osténtase el antiguo tubo nervioso reducido á un cilindro vacío, de paredes plegadas, salpicadas de núcleos.

Acá y allá, en bastante número, aunque no en todos los estuches mielínicos viejos, se presentan fibras de nueva formación, finas, amedulladas y nucleadas al modo de las de Remak. Casi todas tienen el mismo grueso y muestran la misma coloración. Perseguidas hacia la cicatriz, se las ve clarísimamente penetrar en ésta, continuándose con los haces nerviosos intermediarios.

Cabo central.—En la zona próxima á la herida muchos tubos nerviosos exhiben alteraciones correspondientes á la degeneración parcial ó traumática del cabo central, bien conocida por los autores. Concretándonos á lo revelado por el proceder argéntico, diremos que muchos axones aparecen festoneados y provistos de apéndices y tuberosidades colaterales que les prestan aspecto singular. Algunos cilindros ejes emiten en ángulo recto apéndices finos que acaban, á más ó menos distancia, por dentro de la membrana de Schwan á favor de mazas ó granos reticulados voluminosos y de variable forma y dimensión. Algunas de estas fibras hijas trazan espirales en torno del axon de origen. Con rareza adviértense también axones de nueva formación nacidos en las estrangulaciones de Ranvier de los tubos preexistentes. En general, sin embargo, nos ha pa-

recido que la inmensa mayoría de las fibras nuevas penetrantes en la cicatriz, son simple continuación de los axones preexistentes.

Cicatriz ó zona neuromatosa—Entre los dos segmentos, ofrécese constantemente un territorio inflamado constituido, en gran parte, de capilares nuevos y de tejido conectivo embrionario. Este territorio, relativamente corto cuando hay reunión de fragmentos, muy largo cuando falta este requisito, está surcado desde el octavo al décimo día en el conejo, por infinidad de hacecillos nerviosos en continuación con los del cabo central. Tal continuación es evidéntísima en nuestros preparados, donde se nota que al penetrar en la cicatriz, la fibra medulada pierde la mielina, palidece y se adelgaza exhibiendo núcleos marginales. Durante su itinerario por el tejido conectivo embrionario, puede dicotomizarse en tubos iguales ó desiguales y las ramas hijas ingresan á menudo en haces nerviosos diferentes.

En fin, perseguidos los haces hacia el cabo periférico, se comprueba su continuación con las fibras neoformadas de éste.

3. Sección del nervio ciático seguido de dislocación del cabo central que se replegó y fijó en el espesor de un intersticio muscular. Sacrificio del conejo á los diez días.

Cabo periférico.—En degeneración muy avanzada, carece en absoluto de fibras nerviosas, fenómeno harto significativo si se recuerda que por igual tiempo en el conejo anterior (sección del ciático sin dislocación de los segmentos nerviosos), el cabo periférico estaba lleno de axones embrionarios. Aparte del obstáculo, pudo ser parte á desorientar é impedir la entrada de las fibras centrales, la existencia de un coágulo parcialmente reabsorbido, acaballado sobre el segmento nervioso distal.

Cabo central.—Esta porción próxima á la herida muéstrase deshilachada, y sus fibras ofrecen grandes alteraciones de disposición, trayecto y terminación. He aquí las particularidades más significativas.

a) La existencia dentro del nervio, á no gran distancia de la herida, de muchos axones divididos; estas divisiones, que se presentan también copiosísimas en el neuroma cicatricial, son de dos clases: tienen unas lugar al nivel de una estrangulación, originando una, dos, tres y más fibras colaterales que caminan bajo la misma vaina de Schwann, ya hacia la herida, ya retrógradamente; otras nacen del cabo mismo, de un tubo, al parecer, amedulado, produciéndose dos ó tres ramas gruesas, pronto transformadas en haz de fibrillas delicadas que se apartan en ángulos muy agudos.

b) *Mazas terminales* en pequeño número, algunos *ovillos nerviosos* y no pocas *fibras retrógradas*. Pero como estas disposiciones se exageran

notablemente en fases posteriores (veinticinco á treinta días después de la sección), de ellas hablaremos al tratar de otras experiencias.

Cicatriz intermediaria.—El tejido conectivo embrionario de la inmediación del cabo central mostró un abultamiento, en cuyo seno se ofrecían infinitos haces nerviosos amedulados, entrecruzados de mil modos, y algunos retrógrados y desorientados.

Las fibras sueltas exhibían numerosas divisiones dicotómicas. Algunas pocas acaban en maza. Buena parte de los haces dispersos y extraviados penetran en un músculo debajo del cual se dobló el cabo central durante la operación. Este músculo, atacado por la inflamación traumática, exhibía numerosas placas motrices embrionarias, resultado de la alteración de las preexistentes.

4. Conejo cuyo nervio ciático fué seccionado sin dislocación de fragmentos y examinado á los quince días de la operación.—*Cabo periférico.*—Lleno de finos axones amedulados con núcleos superpuestos. En muchos de ellos se comprueba su yacimiento dentro de los antiguos tubos, situándose por fuera de los acúmulos grasientos. Comparadas las ramas nerviosas más alejadas con el cordón nervioso en paraje próximo á la lesión, advirtiéndose que en éste son las fibras algo más numerosas y gruesas.

En fin, mencionemos que algunas fibras acababan en el espesor mismo del cabo distal á favor de una especie de cono de crecimiento, formado unas veces por un acúmulo protoplásmico irregular, y otras mediante una eminencia ovoídea é intensamente coloreada. Estos conos ó mazas terminales estaban vueltas siempre hacia la periferia del nervio, hecho importante probatorio de que las fibras nerviosas del cabo periférico no van desde éste al central, sino al revés.

Cabo central.—Se comprueba la continuación de los tubos antiguos con fibras ameduladas penetrantes en la cicatriz. Pocas divisiones perceptibles y rarísimas mazas terminales.

Cicatriz intermediaria.—Producción de una trama de tejido conectivo embrionario, surcado de hacecillos nerviosos amedulados, donde se descubren fibras gruesas y finas. Aunque la dirección de estos haces (guarnecidos de vaina laminosa) es varia, dominan los orientados hacia el cabo periférico, al cual llegan después de descubrir ligeras ondulaciones y zigzags. En las bifurcaciones de los haces obsérvanse algunas divisiones de axones.

En fin, cabe observar *de visu* la entrada de estos haces nerviosos en el cabo periférico, donde sus fibras se forman rectas y más delgadas y pálidas.

5. Conejo cuyo nervio ciático se resecó cerca de un centímetro. Examen á los quince días.—Igual resultado que en el caso anterior, salvo que el neuroma intermediario era muy largo y menos numerosas las fibras ameduladas penetradas en el cabo periférico. Viéronse pocos haces extraviados y mazas terminales. Las divisiones abundaban en el tejido cicatrizal. La resección del nervio, sin dislocación, produce, por tanto, un nuevo y débil retardo del fenómeno de la *neurotización* del cabo periférico.

6. Gato, cuyo ciático, una vez seccionado y resecado, fué dislocado bajo un músculo (cabo central). Examen veintiún días después de la operación.—Macroscópicamente los cabos aparecieron unidos por una masa gris de apariencia conectiva que se abultaba en su unión con el superior.

Cabo periférico.—Contenía muchísimas fibras finas ameduladas, ya sueltas, ya ordenadas en hacesillos, entre las cuales las más espesas ofrecían tono café negro, y las más delicadas y superabundantes matiz café claro. En su contorno presentábanse núcleos alargados.

Examinado el nervio á distancia de la lesión, exhibió menos número de fibras nerviosas, sobre todo de las relativamente espesas ó negras.

Cabo central.—Aparece deshilachado y sus haces dispersados por el tejido inflamatorio; una parte de sus fascículos se extravía, tomando rumbos transversales y aun retrógrados y no pocas fibras se pierden en los músculos inmediatos. Empero la inmensa mayoría de ellas engendra un sistema de manojos plexiformes, en parte medulados, que cruza de arriba á abajo la cicatriz, hasta abordar el cabo periférico.

Es de notar que, cerca de este cabo, muchos manojos dispersos y aun extraviados se concentran, y al penetrar en el nervio degenerado, adelgazan y rectifican sus fibras. Cada hacesillo puede proveer de elementos á varios tubos nerviosos viejos; algunas fibras nos han parecido intersticiales.

En fin, las divisiones en toda la extensión de la cicatriz son numerosas y ellas explican la inusitada riqueza de los haces del neuroma, así como la abundancia de las fibras retrógradas y desorientadas.

7. Sección del nervio ciático, cuyo cabo superior fué fijado á un músculo cerca de la articulación coxo-femoral, en un conejo. Examen veinticinco días después de la operación.—Macroscópicamente, ambos cabos, de los que el superior ofrecía grueso neuroma, no estaban unidos; el músculo, con notable cantidad de tejido embrionario y masas hemorrágicas lo impedían. El obs-

táculo á la unión de las fibras nerviosas de ambos segmentos, sin ser insuperable, fué, pues, bastante eficaz.

Cabo periférico.—La inmensa mayoría de los cortes longitudinales, no mostró ninguna fibra neoformada. Sin embargo, en dos de ellos aparecieron dos finas hebras ameduladas, que se prolongaban á lo largo durante extensos trayectos. Verosímilmente sólo estas dos fibras pudieron abordar el cabo periférico muy avanzado en el proceso degenerativo.

Cabo central.—Presentaba, como suele suceder siempre que en su proceso de crecimiento tropieza con obstáculos casi insuperables, extrañas disposiciones. Reseñaremos sumariamente las más notables.

a. *Mazas terminales.*—Comparables á los conos de crecimiento descritos por nosotros en los embriones y confirmados por Harrison en los nervios periféricos de los batracios, estas eminencias terminales de los axones son numerosísimas, afectando por lo común forma olivar, rara vez fusiforme. En su inmensa mayoría yacen entre los haces nerviosos, en la región intermedia entre el segmento central y la cicatriz. En torno de algunas mazas grandes adviértese una cápsula nucleada, continuación de la vaina de la fibra.

En fin, en muchos parajes véanse nidos de mazas de muy distinta dimensión y dirección, rodeadas por cápsula común. Nidos de este género hemos visto que encerraban olivas ú ovoides terminales. Tales excrescencias del axon provienen á menudo de fibras que, detenidas por algún obstáculo, no han logrado estirarse y crecer hacia la periferia.

Así no es raro advertir, que el axon de que emanan viene como de la herida, trazando después una ó varias revueltas para continuarse con un tubo central. La circunstancia de presentarse estas voluminosas mazas bastante tardíamente y de preferencia en fibras extraviadas, nos hace sospechar que acaso representen el rudimento de un aparato sensitivo terminal.

b. *Ovillos yespirales.*—Al mismo tiempo, adviértense en muchos parajes, ovillos complicadísimos constituídos por varias fibras nerviosas, gruesas y finas, y, sobre todo, estuches espiroideos compuestos de uno ó varios tubos gruesos centrales medulados, poco desviados y numerosas fibrillas ameduladas que describen en torno de éstos, apretadas y complicadísimas espirales. Espiras de igual género, pero de más anchas vueltas pueden trazar asimismo, pero menos á menudo, axones medulados.

c. Divisiones numerosísimas de las fibras viejas y nuevas, visibles en las zonas inmediatas á la herida, y residentes tanto en las estrangulaciones (ramas colaterales) como en los extremos (ramas terminales, á menudo múltiples).

Las ramas colaterales, que á menudo adoptan curso retrógrado para volver más adelante sobre sus pasos, emanan de tubos medulados viejos y se hacen libres caminando entre las fibras normales. Las terminales proceden, al parecer, de axones no medulados verosímilmente de nueva formación; finísimas al principio, como si representaran simples neurofibrillas, se tornan progresivamente más espesas, mezclándose y adquiriendo el grosor y aspecto de fibras de Remak. Ocasiones hay, sin embargo, en que estas ramas terminales están precedidas de dos ó tres pedículos gruesos.

d. En fin, dentro del nervio circulan numerosas fibras retrógradas, acabadas, en su mayoría, por mazas terminales, y que no son otra cosa que elementos extraviados que volvieron sobre sus pasos al chocar contra los obstáculos de la región cicatrizal.

Región cicatrizal.—Exhibe un extenso neuroma cuyos haces plexiformes están en continuación con el cabo central, y muestran vueltas y revueltas complicadísimas. En ciertos sitios, pero menos frecuentemente que en el cabo nervioso, aparecen mazas terminales, grandes ó chicas, así como los consabidos ovillos. En los parajes en que los haces se dividen muéstranse numerosas bifurcaciones de las fibras ameduladas, gruesas y finas. Igualmente aparecen ramificaciones, á menudo complicadísimas, en los tubos libres errantes por el espesor del tejido conectivo embrionario.

El neuroma, bastante extenso é irregular, tenía por límites el intersticio muscular en que fué fijado el cabo central durante la operación; pero tal obstáculo, con ser poderoso á retardar la marcha de las fibras, no opuso un dique infranqueable al crecimiento de éstas, ya que todo el espesor del músculo aparecía invadido por una infinidad de hacecillos nerviosos que le cruzaban en todas direcciones y no pocos en sentido retrógrado. Aquí se vieron también muchos axones sueltos y embrionarios guarnecidos de una maza terminal y extraviados entre fibras musculares. Del otro lado del músculo encontráronse algunos haces, pero muy pocos y dispersos en la extensa faja inflamatoria que separaba los dos cabos nerviosos.

En suma; la no penetración, durante los veinticinco días transcurridos después de la operación, de las fibras nerviosas neoformadas en el cabo periférico, así como el lujo proliferativo de los axones del cabo central y ovillos y mazas del neuroma, obedecen, verosímilmente, al obstáculo muscular y á la distancia de ambos cabos, puesto que en igual tiempo y cuando no median tales impedimentos, las fibras se dividen poco y el segmento periférico se neurotiza casi enteramente.

8. Conejo cuyo nervio ciático fué cortado (sin dislocación) y examinado veinticinco días después de la operación.—Destinado á hacer *pendant* con el precedente, en el presente caso el cabo periférico se mostró completamente neurotizado. En él aparecieron ya dos ó tres tubos medulados; los demás que llenaban todas las vainas viejas y no pocos intersticios, carecían de mielina.

En el cabo central no se ven mazas; sólo en algún punto adviértese tal cual ovillo y fibra espiroidea precisamente enfrente de parajes donde los exudados inflamatorios no aparecían reabsorbidos enteramente. No faltaron algunos haces dispersos.

En fin, la continuidad entre los haces de la cicatriz y de los dos cabos aparecía clarísima.

9. Conejo cuyo ciático fué seccionado, y doblado y envuelto el cabo superior en los músculos de la cadera. Examen sesenta y ocho días después de la operación.—

Cabo periférico.—Contiene bastantes fibras nerviosas finas, ameduladas, pero en menos cantidad que en el conejo sacrificado quince días después de la operación, y cuyos dos cabos nerviosos se juntaron sin obstáculo. Una mitad, poco más ó menos, de los tubos viejos no ha recibido ningún axon, mientras que se encuentran vainas de Schwan que encierran cuatro y cinco finas fibrillas ameduladas.

En torno del nervio aparece una atmósfera neuromatosa, es decir, una especie de neuroma prolongado, de haces finos y de fibras sueltas, que marchan por encima del perineuro, escoltándole al parecer indefinidamente. Estos haces sueltos son los que han *sentido* químiotácticamente la presencia del cabo periférico; pero no han podido penetrar en él. El proceder del ácido ósmico sólo puso de manifiesto dos ó tres fibras meduladas.

Cabo central.—Se presenta deshilachado en gran extensión y sembrado de divisiones, mazas terminales, tubos retrógrados y ovillos nerviosos.

Región cicatrizal.—Ofrecía enorme neuroma, invisible macroscópicamente y extendido, durante más de centímetro y medio, desde el cabo central ó, mejor dicho, desde el músculo á que se fijó el cabo central, hasta el periférico. En este neuroma plexiforme y difuso veíanse infinidad de divisiones nerviosas y numerosos haces extraviados que marchaban á través de músculos y aponeurosis, en busca del cabo periférico. Sólo una parte de ellos había logrado tropezarlo, y por eso la neurotización aparecía atrasada é incompleta. La cantidad de fibras perdidas en los músculos y tejido conectivo circunvecino era prodigiosa y muy superior al con-

tingente originario del nervio, lo que sólo puede explicarse por las innúmeras divisiones de los tubos nerviosos.

Igual resultado se obtuvo en dos perros de dos ó tres semanas, tratados del mismo modo y examinados á los setenta días. El cabo periférico ofreció también fibras nuevas ameduladas, aunque en corto número.

10. Gato operado como en los casos anteriores, pero con resección de un centímetro del cabo superior. Examen á los dos meses y medio.—Formóse enorme neuroma prolongado, que juntaba ambos fragmentos. El cabo periférico estaba neurotizado, pero no enteramente. La mayoría de las fibras nuevas en él penetrantes formaban haces que dejaban intercalados tubos viejos sin inervar. Las fibras del cabo central poseían igual carácter que las de la cicatriz intermedia, con los cuales se continuaban evidentemente.

Faltaban las mazas y eran rarísimos los ovillos. Una gran parte de los haces del neuroma se diseminaba también en las regiones circundantes.

(Se continuará.)

Coloración de los bacillus Phymogenus,

de la lepra, de Lustgarten, esmegmas, cerumen y para-tuberculosos por la eosina.

por A. Mendoza.

(CONTINUACIÓN)

Obtenido el resultado positivo de coloración electiva con la eosina, hicimos otras múltiples experiencias con diversos colores, dando resultados con las fórmulas en que se combinaba la solución alcohólica del color con la mezcla de agua y una base un fenol ó un aldehido.

En algunos colores el resultado era nulo ó muy débil; pero ensayando las diversas substancias citadas, se llegaba á encontrar una combinación que producía una coloración perfecta; así, el verde al yodo colora los bacilos cuando el agua que entra en la fórmula colorante está saturada de aceite esencial de trementina. También para obtener resultados exactos ha de tenerse en cuenta el poder de extracción del decolorante, pues si bien en unos casos la coloración es enérgica y sólida, en otros no lo es tanto, y no permite el uso de un decolorante ácido muy enérgico. (Acido sulfúrico ó nítrico al tercio ó al cuarto.)

Con algunos colores metacromáticos hemos obtenido una doble coloración; así con el azul de metileno, solución timolada (agua saturada de timol, 80 cc.; solución alcohólica saturada de azul de metileno, 10 cc.; alcohol, 10 cc.), quedan teñidos los bacilos en azul obscuro, y los demás elementos, en violeta rojizo; pero para llegar á este resultado, el decolorante ha de ser una solución al quinto de una mezcla de sulfúrico y nítrico á partes iguales (20 de la mezcla para 80 de agua).

De las múltiples pruebas que verificamos, estimábamos que podría deducirse que las materias añadidas, bases, fenoles, etc., eran mejores disolventes y mejores vectores del color, y así lo comprobamos por la diferencia en cantidad que saturaba á estos disolventes, con relación al

tanto por ciento necesario para saturar al agua, y que también tenían una mayor penetrabilidad y difusibilidad en las materias córneas, celulosa, etc., los colores disueltos en las sustancias indicadas.

En cuanto á la permanencia del color frente á los fuertes decolorantes ácidos diluídos en agua, es evidente que depende de la inmiscibilidad del agua con los vehículos del color fenilamina, fenol, timol, etc., y esto lo comprobábamos, pues si en una cápsula con líquidos decolorantes, sulfúrico al $\frac{1}{3}$ ó al $\frac{1}{5}$, ó el nítrico al $\frac{1}{4}$, se deja caer una gota de los colores ya preparados con una cualquiera de las fórmulas indicadas, se ve que la gota de color apenas si es atacada en su superficie, y se la ve mantenerse en suspensión, conservando largo tiempo su tono primitivo y sin formarse las sales triácidas amarillas, que es la acción característica de los ácidos minerales fuertes sobre los compuestos colorantes monácidos; dado este resultado, fácilmente se ha de comprender que, defendido el contacto entre la materia decolorante y el colorante por las cubiertas bacilares, los fenómenos de decoloración sean difíciles ó casi nulos; en cambio, si atacamos el preparado con la esencia de clavo, la fenilamina, fenol, etc., buenos disolventes del color, pueden éstos extraerle de los bacilos, hecho que ya había llamado la atención á Baumgarten, aunque no se explicase el fundamento del hecho.

Así, creemos poder afirmar que estas coloraciones de los bacilos de la tuberculosis, de la lepra, de Lustgarten, esmegma y para-tuberculosos, responden á funciones físicas, y no á funciones químicas especiales; sin embargo, no hay que negarles cierta importancia á los elementos grasos que en dichos bacilos existen, pero que á su vez tienen acción disolvente sobre las materias colorantes empleadas, son miscibles con las sustancias añadidas á las soluciones colorantes (fenilamina, fenol, etc.), é inmiscibles á su vez con el agua, que diluye los decolorantes ácidos minerales, no cambiando esto, por tanto, en nada el que estas coloraciones específicas ya citadas respondan exclusivamente á fenómenos físicos y no á funciones específicas, ni electivas por fenómenos de afinidades químicas.

Profilaxis de la viruela ovina,

por D. GARCÍA É IZCARA

(CONTINUACIÓN)

Variolización, suero-variolización é inmunización por el suero.

De cuanto queda expuesto en el artículo anterior (1) se deduce que la variolización del ganado lanar constituye en España una excelente medida profiláctica, á la cual se debe apelar en la forma que exponemos al final del artículo anterior. Que la variolización no se halla exenta de peligros es indudable; creemos, con Pourquier (2), que tanto en Argelia, como en nuestro país, la variolización tiene sus riesgos, hijos unas veces de prácticas viciosas, otras de condiciones de receptividad extraordinaria de las reses, ya por grandes oscilaciones de temperatura y, más aún, si las reses inoculadas se mojan. En estas circunstancias las generalizaciones suelen ser numerosas y no escasean los casos de viruela confluyente tan grave como la natural. Por fortuna, estos accidentes de la variolización, tan frecuentes en Francia, Alemania y otras naciones del Norte de Europa escasean en España, y si bien es cierto que el pasado año se lamentaron los ganaderos de Mérida del resultado de las inoculaciones, cúlpese á las prácticas viciosas, á la ignorancia absoluta de las propiedades del virus varioloso y á la inobservancia de las recomendaciones que de consuno han dictado la ciencia y la práctica de esta operación. Pero sea de ello lo que quiera, hayan obedecido los fracasos á falta de pericia de los inoculadores, sean hijos de la exaltación del virus, dependan de la marcha irregular de la evolución de las pústulas ó de oscilaciones higrométricas ó termométricas, es lo cierto que debe evitarse por todos los medios posibles que ocurran tales accidentes.

(1) Véase el número anterior de este BOLETIN, pág. 21.

(2) De la Clavelisation préventive des troupeaux africains. Ses dangers pour l'élevage français et algérien. *Revue Vétérinaire*, 1901, pág. 314.

Precisamente por ser en Francia y en otras naciones del Norte de Europa los efectos de la variolización menos eficaces que en España y en la Argelia, es por lo que ha tenido tantos detractores y por lo que se han apresurado á buscar un remedio que fuera capaz de inmunizar contra la viruela y no tuviera los inconvenientes de la variolización. ¿Dónde buscaron el remedio? En la sueroterapia. Desde el momento en que Richet y Hericourt (1888) demostraron que la *sangre procedente* de un perro al cual le habían inyectado repetidas veces cultivo de stafilococos, poseía la virtud de inmunizar á otros perros contra el mismo agente patógeno, quedaron puestos los cimientos del método sueroterápico con la creación de la *hemoterapia*. Bouchard demostró que en el suero sanguíneo se hallan todas las sustancias inmunizantes que existen en la sangre de los animales inmunizados, y con ello bastó para que fuera substituída la hemoterapia con la *sueroterapia*, cuyas ventajas son tan evidentes que no necesitan demostración.

En 1890 Behring y Kitasato estudian las propiedades del suero de conejos, inmunizados unos contra el tétanos y otros contra la difteria, llegando á demostrar, claramente, que el suero de estos animales, mezclado *in-vitro* con la toxina producida por el bacilo de Nicolaïer ó con la del bacilo de Klebs-Löffler respectivamente, las neutraliza y hace perder sus propiedades toxígenas. Es más, esos autores comprobaron que el suero de ese modo obtenido producía iguales efectos que *in-vitro* en los organismos vivos, dando con ello origen al método profiláctico ó de inmunización por los sueros, tan fecundo en resultados y exento en absoluto de los peligros que llevan consigo las vacunas y los virus. Aparte de no reproducir los sueros la enfermedad que con ellos se quiere prevenir—cual ocurre algunas veces con los virus ó vacunas—tienen los sueros otra ventaja, y es la de inmunizar rápidamente, lo cual es de suma importancia cuando tratamos de preservar un rebaño ó piara en el que la enfermedad contagiosa ha hecho su aparición. El suero inmuniza en horas; las vacunas tardan muchos días en conferir la inmunidad.

Estos notabilísimos hechos confirmados y ampliados por Vaillard y Roux, Tizzoni y Cantani, Yersin y otros sabios, han hecho de la sueroterapia un precioso y rápido método profiláctico y curativo. Díganlo si no los triunfos obtenidos en el tratamiento de la difteria, del tétanos, de la peste, de las streptococias, etc., triunfos que con justicia la Humanidad agradecida pagará haciendo perdurables los nombres de los sabios antes mencionados.

La medicina veterinaria no podía permanecer inactiva ante descubrimientos tan notables y sin participar de los beneficios del nuevo mé-

todo preventivo y curativo. Así vemos al eminente Nocard apresurarse á fabricar un suero antitetánico tan eficaz como el antidiftérico; á Lorenz y á Leclainche obtener un suero curativo y preventivo del mal rojo de los cerdos; á Kitt, Arloing, Vallée y Leclainche consiguiendo resultados parecidos contra el carbunco sintomático y la septicemia gangrenosa. También se obtienen sueros preventivos y curativos contra las streptococias de los animales y contra la peste bovina. Al insigne Ligniers corresponde el mérito de haber demostrado la naturaleza streptocócica del anasarca idiopático en el caballo, y el gran partido que se puede obtener contra tal enfermedad empleando el suero Marmorek; los profesores Nicolle, Adil-bey y Refik-bey preparan un suero preventivo contra la peste bovina, con el que han salvado la vida á centenares de miles de grandes rumiantes. Por último, el gran Duclert logró obtener un suero con virtudes preventivas y curativas de la viruela ovina (1). Para ello tuvo como base el principio que sirve de fundamento á la sueroterapia y en el cual está compendiado su alcance y explicado el funcionamiento del sistema. Toda substancia (toxina, veneno vegetal, diastasa, microbio, etc.) introducida en el organismo animal, produce en él cierta reacción que excita al organismo á la producción de otras substancias (antitoxinas, anticuerpos) encargadas de neutralizar á aquéllas como así lo realizan *in-vitro* y muchas veces *in-vivo*.

El autor, haciendo aplicación del sistema, quiso averiguar si el suero procedente de una res lanar que hubiera padecido y se hubiese salvado de un ataque de viruela maligna tenía ó no propiedades neutralizantes *in vitro* é *in-vivo* del virus variólico ovino y, caso afirmativo, ensayarlo como remedio. De las investigaciones que Duclert llevó á cabo dedujo:

1.º Que inyectando subcutáneamente á una oveja, durante doce días, dosis variables entre 10 y 20 cc. (en total 190 cc.), se la confiere tal grado de inmunidad que resiste muy bien una inyección de *medio centímetro cúbico de virus puro*.

2.º Inyectando el suero cuatro días después de una inoculación cutánea virulenta limita ó impide la infección general y, á veces, hasta la manifestación local.

Tan halagüeños resultados entusiasmaron á Nocard y quiso comprobarlos; pero los que obtuvo no confirmaron los de Duclert, á pesar de haberse tratado de un caso muy favorable. Con efecto, á un carnero curado de un ataque de viruela confluyente grave, Nocard le inyectó en diez

(1) Duclert: Le sérum des sujets vaccinés contre la clavelée est préventif et curatif. *C. R. de la S. de Biologie*, 1896.

veces (con intervalos de quince días) 20 cc. de virus. Terminada la hiperinmunización, que duró cinco meses, se sangró al referido carnero y su suero mostróse inactivo. Mezclado *in-vitro*, en todas proporciones, con la linfa virulenta no pudo hacerla menos eficaz; inyectado á alta dosis, ya antes, ya después de la inoculación del virus, no impidió ni retardó la erupción.

A esta altura se hallaba la cuestión referente á la sueroterapia preventiva y curativa de la viruela ovina al principiar el siglo xx, pero los progresos del nuevo sistema, ya como remedio profiláctico, ora como curativo, en ciertos casos, obraron como excitantes de la actividad de aquellos sabios que, contando con medios de investigación, estaban deseosos de gloria, al paso que ansiaban para conquistarla ser útiles á la Humanidad. Al eminente Borrell, del Instituto Pasteur de París, correspondió la gloria de resolver el problema de la sueroterapia antivariólica.

Este sabio comenzó con entusiasmo sus trabajos, y en Julio de 1902 comunicó á la Sociedad de Biología de París el resultado de sus investigaciones. En 1903, en los *Anales del Instituto Pasteur* (1) dió á conocer los detalles necesarios, ya para obtener virus variólico en abundancia, ya para inmunizar á los carneros destinados á la producción de suero y también el resultado del tratamiento de la viruela por este procedimiento (Auvergne y Crau) así como los de la suero-variolización en Arlés y otros sitios de Francia.

La lectura de los indicados artículos, más los de Martel (2) y Bosc (3) nos convencieron de que siguiendo la pauta marcada por Borrell para la preparación de los animales productores de suero, llegaríamos á obtener uno tan excelente que llenaría en España; con respecto á la viruela ovina, las mismas indicaciones que se llenan contra el mal rojo con el suero obtenido por el procedimiento de nuestro distinguido amigo Mr. Leclainche. Creímos firmemente que asociando el suero antivariólico al virus ovino ó, lo que es igual, practicando la suero-variolización, utilizaríamos las ventajas de la variolización clásica, confiriendo una inmunidad activa y eliminaríamos el peligro de que aparecieran brotes generales y aun el desarrollo de pústulas de inoculación de gran tamaño.

Animados de todos estos entusiasmos, dimos comienzos á los trabajos de inmunización amoldándonos todo lo posible á la técnica observada por Duclert. Al efecto, adquirió la Sección de Sueroterapia de este Instituto, cuatro carneros de raza manchega por considerarlos preferibles,

(1) Etude expérimentale de la clavelée: filtration du virus; sero-clavelisation; Sérotherapie, pág. 123. Etudes sur la clavelée: Sérotherapie et seroclavelisation, pag. 733.

(2) Sérotherapie de la clavelée dans la Auvergne et Crau.

(3) Le traitement de la clavelée. Sérotherapie, seroclavelisation, Société de Biologie. 30 Diciembre 1904.

dentro de nuestras razas, dado su gran tamaño y resistencia, y el éxito obtenido no ha confirmado del todo nuestras esperanzas, según más adelante veremos.

* *

Obtención, preparación y conservación del virus varioloso.—El procedimiento que hemos adoptado para el cultivo, recolección y conservación del virus varioloso destinado á la inmunización, es el siguiente: Según las necesidades del servicio lo reclaman, inoculamos un número mayor ó menor de carneros, ovejas ó corderos. Cada individuo virógeno recibe en el costado—previa limpieza y desinfección de la parte—tres ó cuatro inoculaciones en línea con un intervalo ó separación entre una y otra de uno á dos centímetros, según la alzada de la res. Si el carnero ú oveja destinado á este uso no tiene amputada la cola, también en este órgano hacemos una ó dos siembras. Las pústulas de inoculación desarrolladas con nuestro virus, adquieren el grado de madurez más conveniente á los doce días, razón por la cual, al duodécimo, procedemos á su extirpación. Esta operación la llevamos á cabo con la mayor limpieza posible; para ello comenzamos por afeitar las pústulas y la región próxima á ellas y después desinfectamos con solución de sublimado al 1 por 1.000. El instrumental empleado también es objeto de escrupulosa desinfección, y lo mismo hacemos con los cristalizadores en que colocamos las pústulas extirpadas. Terminada la operación suturamos las heridas, hacemos una cura yodofórmica, aplicamos los vendajes adecuados y así terminamos la operación, siendo de advertir que no hemos perdido ni una res á consecuencia de infección operatoria, y ya llevamos más de 300 operadas.

Terminada la recolección de las pústulas, procedemos á separar de cada una todo el tejido subdérmico infiltrado. Al efecto, damos con el bisturí varios cortes al indicado tejido, procurando que el instrumento no divida la piel. Seguidamente, sirviéndonos de una cucharilla cortante, separamos de la piel de la pústula todo el tejido infiltrado dejando perfectamente limpio el tegumento. Si algún pedazo resultare grueso, se le reduce á fragmentos pequeños, porque así dejan fluir mayor cantidad de la linfa variólica que los infiltra. Todo el tejido que resulta de esta trituración grosera lo sometemos á una ligera presión, separando así la parte líquida ó *linfa* de la sólida ó *pulpa*.

Nos servimos de la primera para la variolización clásica y para la suero-variolización; utilizamos la segunda para inmunizar á los carneros destinados á la producción del suero antivariólico; empero conviene

advertir que ni la linfa ni la pulpa la usamos tal y como resultan de la indicada manipulación.

La linfa la mezclamos con dos volúmenes de agua boricada al 3 por 100, filtramos la mezcla por batista, la envasamos en ampollas que cerramos á la lámpara y conservamos en la fresquera al abrigo de la acción de la luz.

La preparación que reclama la parte sólida hasta obtener el virus de ella derivado en condiciones de poderlo inocular sin peligro, es más complicada. Nosotros comenzamos por pesar la pulpa á fin de que este dato nos sirva de punto de partida para calcular la concentración de las diluciones y saber la cantidad de virus que inyectamos en cada centímetro cúbico de dilución; hecho el peso, procedemos á la trituration, haciéndolo en el aparato de Mr. Latapie. Para que este instrumento funcione con regularidad es preciso que constantemente llegue al tambor donde se hallan los discos trituradores una corriente de solución fisiológica para que arrastre las partículas molidas y no se detengan entre los discos y dificulten ó impidan el funcionamiento del aparato. Terminada la trituration se añade á su producto la cantidad de solución fisiológica necesaria al grado de concentración que se desea. Así, por ejemplo, al principio de la inmunización, ponemos 99 cc. de agua por uno de pulpa, pero luego va aumentando la cantidad de pulpa hasta llegar á cinco por 95 de agua. Hecha la mezcla de la pulpa y de la solución fisiológica esterilizada, la tenemos dos horas en maceración y después procedemos á filtrar el todo haciéndolo primero á través de varios dobleces de gasa y después por batista. El líquido resultante de este tamizado es el que usamos para la inmunización de los carneros productores del suero antivariólico.

Conservación del virus.—Uno de los mejores procedimientos de conservación del virus varioloso ovino es, sin duda, el preconizado por Soulié y adoptado por nosotros. En pro de esta opinión diremos que con virus recolectado en los meses de Noviembre y Diciembre de 1904, se han hecho en Mayo de 1905, 14.000 inoculaciones por inyección, prendiendo en un 80 por 100 de las reses.

Las tentativas que hemos hecho para conservar el virus mezclándolo con agua glicerizada al 20 por 100, en la proporción de uno del primero por dos de la segunda, no nos ha dado resultado. En la mayoría de los casos el virus se altera, fermenta, hay desarrollo de gases, se enturbia y estallan las ampollas.

Consérvese el virus por el procedimiento que se quiera, el hecho es que á medida que el tiempo pasa, su actividad disminuye. Por esta razón

todo virus de más de seis meses debe ser considerado como viejo y de tener necesidad de emplearlo conviene inocular doble cantidad que del virus fresco.

Técnica de la inoculación.—Cuando se desea inocular con lanceta ó con aguja, empléase el virus á la concentración en que se encuentra en las ampollas. Si se prefiere, y es *preferible*, inocular por inyección, hay que diluir el contenido de una ampolla en *dos y medio centímetros cúbicos de agua esterilizada ó en solución fisiológica pura*. Cuando no se dispone de probeta ó de cilindro graduado para hacer la dilución del virus (cosa corriente fuera de los laboratorios) se toma una copita ó una jícara muy limpia, se carga la jeringuilla dos veces y un cuarto y se descarga en la copa ó en la taza; en ella se vierte también el contenido de la ampolla, se agita la mezcla y queda preparada para de ella cargar de nuevo la jeringuilla y proceder á las inoculaciones. La jeringuilla que para este uso recomendamos preferentemente, es el modelo de Straus, que tiene el vástago del émbolo dividido en 20 partes y facilita la operación, dado que cada res ha de recibir $\frac{1}{20}$ del contenido de la jeringuilla, ó sea la cantidad de dos milésimas de cc. de principio virulento.

De nuestro laboratorio no sale hecha la mezcla del virus con el agua fisiológica. Enviamos ampollas que contienen cantidad de virus necesaria para inocular 50 reses, y frasquitos con agua bastante para qué, diluyendo en cada uno dos ampollas, se pueda inocular *cient reses*.

La inoculación la hacemos en el costado ó en la cola si no está amputada muy corta, pero, tanto en uno como en otro sitio, es preciso depositar el virus entre el dermis y la epidermis.

*
* *

Inmunización de los carneros productores del suero.—Para realizar nuestros ensayos de fabricación del suero antivariólico ovino adquirió la Sección de Sueroterapia, como más arriba se dice, cuatro hermosos carneros (moruecos) de raza manchega. Ninguno de ellos presentaba señales de haber padecido la viruela ni de haber sido vacunado, razón por la cual nuestra primera preparación, que se hizo el 1.º de Agosto de 1904, consistió en inocular á cada animal una dosis equivalente á 10 dosis ordinarias. El resultado obtenido fué el siguiente: un carnero tuvo brote general bastante grave; en los tres restantes sólo brotó una pústula en el sitio de la picadura, que fué el costado.

Las inoculaciones que estos animales han ido recibiendo, con expresión de fechas, cantidad, reacción local y general, obtenida, etc., etc.; lo sintetizaremos en el siguiente esquema:

1.º *Septiembre* (1904).—Inoculación en el costado, de un centímetro cúbico de dilución al 1 por 100. Edema ligero que se reabsorbió en pocos días.

15 *Septiembre*.—Los cuatro animales reciben la segunda inyección de 10 cc. de la misma dilución virulenta. La reacción local fué insignificante y nula la general.

1.º *Octubre*.—Inyección de 50 cc. Regular edema y reacción general poco manifiesta. La tumefacción desaparece en diez días.

15 *Octubre*.—Inyección de 100 cc. Reacción local ligerísima y general inapreciable.

1.º *Noviembre*.—150 cc. El edema se marcó más que en las inyecciones anteriores, pero al octavo día ya se había reabsorbido. Las reses no perdieron el apetito (1).

15 *Noviembre*.—Los tres carneros que nos restaban reciben 200 cc. La reacción local es un poco mayor que lo fué en las inyecciones anteriores, pero se reabsorbió pronto sin dejar apenas indurado el sitio de la inoculación.

1.º *Diciembre*.—Inoculación de 250 cc. Ni la reacción local ni la general presentaron nada extraordinario.

15 *Diciembre*.—Inoculación de 300 cc. de la dilución corriente ó sea 1 de pulpa por 99 de solución fisiológica. Desarrollóse edema bastante grande, y los animales tuvieron algo de inapetencia.

1.º *Enero* (1905).—Inoculación 300 cc. de dilución al 2 por 100. Esta vez el edema fué grande; duró diez días, quedando infiltrado y endurecido el lado del vientre, que recibió la inyección. También hubo inapetencia.

15 *Enero*.—Inyección 300 cc. de dilución al 2,50 por 100. Tanto la reacción local como la general fueron bastante manifiestas, sin revestir caracteres alarmantes.

1.º *Febrero*.—Inyección de 300 cc. de dilución al 3 por 100. Márcase muy bien la reacción local y general, sin ser muy acentuadas ni una ni otra.

15 *Febrero*.—Inyección de 300 cc. de dilución al 3,50 por 100. Nada de particular se apreció (2).

1.º *Marzo*.—Inyección 300 cc. de dilución al 4 por 100. Reacción local y general regulares.

(1) El día 13 de Noviembre murió uno de los moruecos á consecuencia de un golpe que recibió en la cabeza luchando con otro compañero. La autopsia confirmó que la muerte había sido consecuencia de conmoción cerebral.

(2) El día 23 de Febrero, por descuido del mozo encargado de la asistencia de los carneros, volvieron éstos á luchar, resultando uno de ellos muerto, como el anterior, á consecuencia de conmoción cerebral.

El día 10 hicimos la primera sangría de 500 gramos.

15 Marzo.—Inyección 300 cc. de dilución al 4,50 por 100. Reacciones naturales.

1.º Abril.—Inyección 300 cc. de dilución al 4,50 por 100, ídem íd.

El día 10 hicimos sangría de 500 gramos.

15 Abril.—Inyección de 300 cc. de dilución al 5 por 100. Edema muy desarrollado, inapetencia y gran postración de las reses.

1.º Mayo.—Inyección 300 cc. de dilución al 5 por 100. Marcada reacción local y general, pero no tanto como en la inyección anterior.

El día 10 de Mayo sangría de 500 gramos.

15 Mayo.—Inyección de 300 cc. de dilución al 5 por 100. Reacción local y general menores que en la inyección anterior.

1.º Junio.—Inyección 300 cc. de dilución al 5 por 100. Reacciones como en la inyección anterior.

El día 10 sangría de 500 gramos (1).

Siguiendo idéntica pauta y aumentando gradualmente la cantidad de virus á inyectar, pensamos seguir la hiperinmunización de los dos carneros que nos restan del lote primero. Lo mismo haremos con otros diez magníficos carneros manchegos, de gran alzada, que ya tenemos en vía de inmunización. Pasemos ahora á estudiar los efectos del suero recogido.

Suero-variolización (experimentos).

PRIMERO. Lo realizamos en 12 carneros: seis de ellos fueron inoculados con una mezcla de virus y suero en la proporción de 4 del primero por 96 del segundo; los seis restantes lo fueron con una mezcla de virus y solución fisiológica, también en la proporción de 4 por 100.

Seis individuos recibieron en el costado una inoculación de $\frac{1}{20}$ de cc. de *suero virus*, y los seis restantes igual cantidad de *agua-virus* en la misma región.

Resultado.—La inoculación prendió en los 12 carneros; no se apreció diferencia en la evolución de las pústulas de uno y otro grupo de reses; no hubo generalización de brote.

SEGUNDO. Lo llevamos á cabo en 12 ovejas: seis de ellas recibieron en el costado derecho *cinco centímetros cúbicos de suero*, y en la misma sesión, pero en el costado izquierdo, se les inyectó $\frac{1}{20}$ de cc. de *agua-*

(1) La sangría de los carneros la practicamos en la vena yugular. Un trocar parecido al de Nocard, pero con dimensiones reducidas á la mitad de las que éste tiene; un tubo de goma como de un metro de largo que en un extremo lleve la pieza metálica que ha de ajustarse á la boquilla del pabellón de la cánula del trocar, y un tubo de cristal en el otro, bastan para hacer la sangría en condiciones asépticas si todo está bien esterilizado. Nosotros hacemos directamente la picadura del vaso introduciendo en él el trocar. La sangre corre perfectamente, y en pocos minutos se recogen los 500 gramos antes indicados.

virus al 4 por 100. Las otras seis ovejas no recibieron suero sino sólo la inoculación en el costado izquierdo de $\frac{1}{20}$ de cc. de solución acuosa virulenta.

Resultado.—La inoculación prendió en las 12 ovejas: en ninguna hubo brote general, pero tampoco apreciamos diferencia en el tamaño y caracteres de las pústulas de uno y otro lote.

TERCERO. Para llevarlo á cabo nos servimos de 12 ovejas, que agrupamos en dos lotes de á seis. Con el propósito de producir generalizaciones de brote, hicimos en este experimento las inoculaciones virulentas siguientes: la número uno del lote primero es inoculada con $\frac{1}{20}$ de cc. de agua virus; la segunda recibe $\frac{1}{10}$ de cc.; la tercera, $\frac{4}{10}$; la cuarta, $\frac{8}{10}$; la quinta, 1,6 cc., y la sexta, 3,2 cc.

En el segundo lote repetimos las inoculaciones de agua virus en la misma cantidad que en el lote anterior, con la diferencia que de éstas recibieron al mismo tiempo que la inyección virulenta, las siguientes cantidades de suero: las ovejas primera y segunda (que habían recibido $\frac{1}{20}$ cc. y $\frac{1}{10}$ cc. de virus), 5 cc.; á las ovejas tercera y cuarta (que recibieron $\frac{4}{10}$ y $\frac{8}{10}$ de cc. de virus), 7,50 cc.; la quinta y la sexta (que recibieron 1,6 y 3,2 cc. de virus), 10 cc.

Resultado.—No hubo generalización de brote. En las ovejas números 1 y 2 de ambos lotes, no se apreció nada de particular en la evolución y caracteres de las pústulas.

Tampoco observamos cambios sensibles en las reses números 3 y 4 al comparar las pústulas, las que habían recibido suero con las que no lo habían recibido.

Las ovejas números 5 y 6, inoculadas sólo con virus, tuvieron enormes pústulas en los costados y en las colas. En las reses 5 y 6 que habían recibido 10 cc. de suero, comenzaron á formarse las pústulas, así en la cola como en los costados, pero no llegaron á evolucionar por completo, pues cuando había de comenzar en ellas el período de secreción inició la resolución formándose un grueso nódulo subcutáneo que poco á poco fué desapareciendo.

Estos experimentos de laboratorio nos hicieron formar el siguiente concepto del valor profiláctico del suero antivariólico ovino: á la dosis de 5 y 7,50 cc. no inmuniza el organismo de la oveja contra la viruela, toda vez que la pústula de inoculación evoluciona igualmente que en las que no han recibido inyección de suero.

Para convencernos de si operando en el campo, estando las reses en sus condiciones ordinarias de vida, se repetían los mismos hechos que en el laboratorio, nos trasladamos el día 3 de Mayo al pueblo de Loeches

(Madrid), á experimentar en un rebaño propiedad de D. F. S. compuesto de corderos en su mayor parte, y algunas ovejas. No existía viruela en el ganado.

El rebaño en cuestión se componía de 84 cabezas. La inoculación virulenta se hizo como siempre inyectando á todas las reses en el costado, $\frac{1}{20}$ de cc. de dilución acuosa al 4 por 100. Para apreciar los efectos comparados del suero dividimos el rebaño en tres lotes: Se componía el primero de 28 reses (entre corderos y ovejas), y cada uno recibió 5 cc. de suero al mismo tiempo que la inoculación virulenta; el segundo constaba de otras 28, á las que se inyectó 10 cc. de suero por cabeza. Las 28 restantes, todos corderos, no recibieron suero.

Resultado.—Prendió la inoculación en 79 reses (94 por 100), y no hubo que lamentar ningún brote generalizado. Las ovejas y corderos que recibieron los 10 cc. de suero tuvieron pústulas, por lo general menos desarrolladas que las que habían recibido 5 cc. ó no lo habían recibido. Sin embargo, la diferencia era pequeña, y en algunas ovejas inapreciable, lo cual nos desilusionó grandemente, pues que, á decir verdad, nos habíamos prometido obtener resultados más satisfactorios.

Eliminando, pues, por insuficiente las dosis de 5 cc. de suero, puesto que en ningún experimento se apreciaron sus efectos, y quedándonos la duda de si los 10 cc. inmunizan á las reses en grado suficiente para que la pústula de inoculación adquiera poco desarrollo ó aborte antes de llegar al período de secreción, ansiábamos tener ocasión de practicar un nuevo experimento. Nuestros deseos fueron bien pronto satisfechos. El día 22 de Mayo fuimos invitados por el ganadero D. A. C., para que en su ganado, afecto á la sazón de viruela, hiciéramos las pruebas que se estimasen necesarias.

Componíase este rebaño de 367 cabezas, de las cuales 26 estaban atacadas de viruela, y cuatro habían muerto. Las 337 restantes se componían en 110 corderos y 227 ovejas de todas edades, pero en su mayoría jóvenes y de raza lechera (churras).

De buen grado hubiéramos aprovechado esta ocasión para probar las virtudes curativas del suero antivariólico (sueroterapia), pero la consideración de que sólo disponíamos de unos 1.700 cc. de suero, y de que aún no podíamos dar por terminada la prueba relativa de su valor profiláctico, inyectando la dosis de 10 cc., nos decidió á continuar nuestros experimentos, limitados á determinar el valor preventivo del suero á dicha dosis.

Decididos, pues, á continuar nuestro trabajo de suero-variolización, dividimos el rebaño de las 337 cabezas en tres lotes, á saber: uno, de 110 corderos; otro, de 160 ovejas, y el tercero, de 67 entre ovejas y moruecos.

Los lotes primero y tercero fueron variolizados según costumbre, recibiendo ya en el costado, ora en la cola, $\frac{1}{20}$ de cc. El lote segundo fué suero-variolizado, recibiendo cada res, aparte de la dosis ordinaria de virus, 10 cc. de suero.

Resultados.—De los 110 corderos inoculados en 109 prendió el virus; 94 sólo tuvieron una pústula en el sitio de la inoculación; en los 15 restantes hubo generalización de brote, pero tan discreta fué la erupción que las reses ni siquiera perdieron el apetito.

De las 160 ovejas suero-variolizadas, en 107 se desarrolló la pústula de inoculación en el sitio de la picadura; en cinco hubo brote general seguido de una defunción. Las restantes ovejas de este lote (48), fueron reinoculadas con doble cantidad de virus, pero en ninguna de ellas prendió.

El tercer lote, compuesto de 67 cabezas entre ovejas y moruecos, sólo fué variolizado prendiendo el virus en 56, de las cuales 48 sólo tuvieron la pústula de inoculación, y ocho brote general, confluyente en tres. Las 11 restantes, no prendidas, fueron revariolizadas con doble dosis, pero no prendió ninguna.

Reflexionando acerca del resultado de nuestros experimentos, permitenos concluir que nuestro suero tiene poco poder inmunizante administrado á la dosis de 5 cc.; otro tanto nos ha sucedido inyectando 7,50 cc.; sólo cuando hemos elevado la dosis á 10 cc. ha sido cuando nos ha parecido apreciar en algún caso efectos beneficiosos, pero éstos han sido tan escasos, y á la vez tan poco concluyentes, que nos han privado de las ilusiones preconcebidas respecto del valor profiláctico del suero antivariólico.

A primera vista pudiera creerse que en el lote de 160 ovejas suero-variolizadas quedaron 48 sin tener siquiera pústula de inoculación por haberla evitado el suero, pero comparando este hecho con el acaecido en el tercer lote de 67 cabezas, en el que quedaron sin prender 11, nos resulta la misma proporción de no prendidas, por lo cual hay que buscar la causa, no en el suero, sino en que las indicadas reses estaban inmunes, ya por haber sufrido la viruela ó por haber sido variolizadas, pues hay que advertir que estas ovejas las había adquirido el dueño hacía ocho meses, desconociendo si habían ó no padecido la enfermedad.

Por otra parte, los efectos preventivos del suero, á la dosis de 10 cc. no podían entusiasmarlos porque precisamente la única defunción acaecida en las 337 cabezas tratadas recayó en el grupo de las suero-variolizadas.

¿Dependería la falta de éxito del escaso poder inmunizante de nuestro suero antivariólico? Eso creímos, pero mientras la experiencia no nos lo demostrase con absoluta evidencia, debíamos suponer que tenía la misma

eficacia preventiva que cualquier otro de sus similares, dada la escrupulosidad con que habíamos llevado la inmunización de los carneros destinados al efecto, y las cantidades enormes de principio virulento recibidas por éstos.

Para resolver la duda, hemos procedido de este modo:

Hemos formado dos lotes de á tres corderos de raza merina. Al cordero número uno del lote primero, le hemos inyectado 15 dosis ordinarias en otras tantas picaduras en el costado. Al número segundo, 20 dosis, y al tercero, 25 en la misma región que el primero.

Al cordero número uno del lote segundo, se le inyectaron también las 15 dosis de virus en el costado derecho, y á la vez en el lado izquierdo del vientre una inyección de 15 cc. de suero. Al número dos, 20 dosis de virus y 20 cc. de suero, y al número tres, 25 dosis y 25 cc. de suero.

Resultado.—Los tres corderos que no recibieron suero han tenido brote general muy grave; los del segundo grupo que recibieron el suero no sólo no han tenido brote general, sino que ni siquiera han evolucionado las pústulas de inoculación.

La consecuencia de este experimento es que para conferir al organismo de la oveja la inmunidad pasiva necesaria para que la pústula de inoculación evolucione de modo abortado y se evite la aparición de brotes generales, es preciso inyectar por lo menos 15 cc. de suero.

Prometemos continuar forzando la hiperinmunización de nuestros carneros á ver de conseguir un suero dotado de mayor poder inmunizante que el que hoy nos producen, porque si para obtener con la suero-variolización el efecto deseado hemos de necesitar 15 cc. de suero, el descubrimiento sólo tendría el valor científico de todo secreto arrancado á la Naturaleza, pero no se generalizará en la práctica corriente por el elevado precio á que resulta el suero antivariólico procedente de carneros.

Los trabajos relativos á la sueroterapia de la viruela no los tenemos aún terminados, por cuya razón nada decimos en el presente trabajo; en otro artículo que nos proponemos publicar, relativo á este aspecto de la cuestión, manifestaremos nuestras impresiones sobre el particular.

Nuevos datos sobre el *Micrococcus tetragenus movilis ventriculi*.

POR A. MENDOZA

La presente nota tiene dos objetos: uno rectificar algunos datos referentes á los caracteres biológicos de nuestro micrococus, que al ser transcrito del original á las revistas alemanas (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, Bd. vi, 21, pág. 566), inglesas (*Journal of the Royal Microscopical Society*) y francesas (*Annales de Micrographie*) se han cometido errores que desde luego conviene subsanar; y el segundo añadir nuevos detalles morfológicos sobre sus órganos de locomoción, y la técnica para investigarlos.

El error capital está en la descripción de uno de los caracteres, que el micrococus determina en el cultivo. Tanto en gelatina como en agar, en la siembra por estrías, al cabo del tercero ó cuarto día, desenvuelve aquél una substancia colorante que se difunde alrededor del cultivo de un color café claro ó de azúcar tostada. Esta última frase «color de azúcar tostada» se ha traducido en alemán por *Zuckerfarbe* en el artículo citado; la repite también Eisenberg (James) en su *Bakteriologische diagnostik*, núm. 347 (*micrococcus tetragenus movili*) *Zuckercouleur*; en la traducción inglesa, así como en la francesa, se sigue repitiendo la idea color de azúcar, frase que no tiene significación, dando lugar á una interpretación falsa ó ininteligible. Esta producción de color es más notable en el agar que en la gelatina.

Hecha esta aclaración, pasemos al segundo objeto de esta nota. Causas que no son de este lugar impidieron el ocuparme después de las primeras comunicaciones sobre nuestro descubrimiento de la primer especie de micrococus móvil, del estudio de ciertos elementos morfológicos, como eran sus órganos de locomoción.

Los primeros intentos para patentizar los flagelos, no nos dieron un resultado satisfactorio; empleamos la antigua técnica de Koch y la de Künstler sin que ninguna de las dos demostrara los apéndices de locomoción. Después la técnica que Loeffler indicó para la coloración de los flagelos la ensaye con el mismo

objeto sin obtener el resultado apetecido, bien es verdad que estos primeros métodos del citado autor, no tenían la misma bondad que la de sus últimas modificaciones en el procedimiento. Estas, en las cuales la tinta mordiente está compuesta por el tanino, el hierro y la fucsina, en vez del palo campeche que ponía en sus primeros líquidos mordientes, da un resultado exactísimo, teniendo en cuenta la reacción del microorganismo cuyas pestañas se desea colorear.

Para nuestros micrococos cuya reacción en el cultivo es alcalina, hemos tenido que acidificar ligeramente el mordiente, para el que hace falta exactamente dos gotas de la dilución de ácido sulfúrico al $\frac{1}{10}$ N neutralizante de la solución potásica al $\frac{1}{10}$ N para 16 cm³. del mordiente. Con esta solución preparada, y haciendo después obrar como líquido de tintura, la fucsina con fenilamina alcalinizada por la potasa (1 cc. de solución de potasa al $\frac{1}{10}$ para 100 de color), hemos obtenido una brillante coloración de los flagelos de nuestro micrococos.

Los flagelos del micrococos son en número de dos para cada célula, y como éstas se presentan en tetradas en la mayoría de los casos, es claro que se perciben hasta ocho flagelos en cada pequeño grupo. La longitud de los flagelos es doce veces el diámetro de la célula; éstos parecen tener una textura; de trayecto en trayecto presentan esférulas más fuertemente teñidas y como tabiques también en toda su longitud. Estos tabiques corresponden á los hemiarcos que constituyen la ondulación del flagelo, éstos están en número de cinco á seis, y los tabiques son, por tanto, cuatro ó cinco. Las granulaciones están dispuestas en número de dos ó tres en cada segmento de arco.

Información científica.

LA VACUNACIÓN ANTITÍFICA

[ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA]

Original y traducción

por F. Murillo.

I

Observaciones preliminares.

La fiebre tifoidea continúa siendo compañera inseparable de la humanidad. En los tiempos antiguos como en los modernos, en los pueblos civilizados como en los incultos, en las grandes urbes y en las miserables aldeas, en la paz y en la guerra, donde quiera que un puñado de hombres se reúne ó un grupo de gentes constituye hogar, allí aparece mansa, pero implacable, la fiebre tifoidea, y allí medra y arraiga á través de las generaciones y de los siglos.

Ella ha sido uno de los principales acicates que han impulsado á los pueblos en el camino del progreso sanitario; ella sirve de objetivo y fundamento á las grandes reformas urbanas en las ciudades y en las villas populosas; por ella, como endemia mortífera y tipo de infecciones, médicos, ingenieros y arquitectos han creado las colosales obras higiénicas que hoy son orgullo de las metrópolis extranjeras...; y después de todo esto, de la ciencia derrochada y de los millones invertidos, la fiebre tifoidea perdura en todas partes: disminuye, pero no desaparece; cede, pero no se extingue.

Persiste en Londres, á pesar de sus espléndidas instituciones sanitarias, de sus aguas filtradas, de su canalización modelo, de sus *septic tanks* y de sus hornos crematorios; reina en Berlín, no obstante la envidiable organización de su higiene pública, sus colectores neumáticos y sus *Rieselfelde*, y perdura en Hamburgo, por encima de los muchos mi-

llones de marcos gastados hace diez años en transformar radical y sabiamente los servicios de sanidad en el casco y en el puerto. Verdad es que en Inglaterra la fiebre tifoidea participa con el 0,17 por 1.000 en el total de las defunciones, mientras que en España alcanza el 0,65, y la diferencia entre ambas cifras representa una suma considerable de vidas humanas, que es el premio, el *botín de guerra* conquistado por la ciencia y la energía de unos frente á la ignorancia y la incuria de otros. Que el premio es de inestimable valor lo puede demostrar una sencilla consideración que yo intentaré aquí, sin caer en las exageraciones artificiosas de algunos flamantes higienistas que laborando *pro domo sua* gustan de impresionar al vulgo con la visión de terrores apocalípticos.

La notable y fehaciente obra de Revenga (1) proporciona para ello un dato fundamental, á saber: que el año 1900 murieron en España, de fiebre tifoidea, 11.426 individuos. Tomando la cifra 11.000 como término medio, puesto que hay años más castigados todavía y años menos castigados, y recordando que la generalidad de los autores atribuye á dicho padecimiento una mortalidad media de 10 á 12 por 100, podemos sentar, como cierta, la proposición siguiente: en España existen á diario, renovados en perpetua sucesión, más de 300 tifódicos, y en España mueren todos los días más de 30 personas víctimas del tifus abdominal. A la mortalidad anual de 11.000 individuos corresponde una morbilidad mínima de 110.000 casos! Calcúlese ahora, dada la índole de la enfermedad, su curso largo y su tratamiento dispendioso, la enorme pérdida que tales cifras significan para la fortuna pública, la vitalidad de la raza y el poderío nacional.

Todas las conquistas de la higiene, todas las transformaciones que la ciencia sanitaria ha logrado imponer en las naciones más adelantadas y felices, no han sido bastante á concluir con esa plaga que desde tiempo inmemorial envenena la existencia de los pueblos. Ciertó es que merced á tales progresos la fiebre tifoidea, que en siglos pasados diezaba las ciudades y los campos, ya como endemia maligna, ya como epidemia de gran fuerza expansiva, se limita hoy á penetrar sigilosa y discretamente en la mayoría de los hogares, sin producir escándalos ni alarmas por la gravedad exagerada de sus ataques ó por la difusión insólita de sus irrupciones. Las ciudades más señaladas por su contingente de fiebre tifoidea han conseguido reducirla en proporciones notables, pero no han logrado extirparla ni aun á costa de hábiles y profundas reformas sanitarias. Buen ejemplo de ello son, en Alemania, Munich, Hamburgo y Dantzig, poblaciones en las cuales la mortalidad por fiebre tifoidea es hoy, aproxima-

(1) R. Revenga. *La Muerte en España*. Madrid, 1904.

damente, mitad menor que antes de realizar el plan de campaña nacido de los fructíferos estudios de Koch y sus discípulos.

Y si esto ocurre en las naciones donde por ser la salud pública «ley suprema» no se escatiman el dinero ni la ciencia, imagínese lo que debe acontecer en aquellos países donde ni el nivel moral ni el nivel material cuentan con la cooperación de armas tan indispensables. Digamos, pues, en conclusión, para ahorrar lastimosos parangones, que en los pueblos atrasados la fiebre tifoidea ocasiona anualmente numerosas víctimas, y que en los pueblos cultos las reformas higiénicas, *serias, fundamentales, completas y adecuadas*, han conseguido reducir el número de enfermos tíficos á términos bastante moderados, si bien la endemia continúa reinando en todas partes, y aun sucede que al menor descuido ó por arte de fortuítas coincidencias, adquiere nuevo vigor y más radio de acción en los pueblos que con mayor esmero tratan de combatirla. Véase, en prueba, la reciente epidemia desarrollada en Alsacia y que tantas víctimas ha producido en la guarnición de Estrasburgo, y véanse, también, los frecuentes recrudecimientos que algunas ciudades británicas acusan y que no perdonan ni aun las moradas reales (1).

Esta relativa impotencia de la higiene general frente á la pandemia tífica y las graves complicaciones que acarrea á los ejércitos en campaña (magistralmente descritas por Koch) (2), obligan á pensar en medios más directos, más universales y más rápidos, capaces de poner á la humanidad á salvo de los ataques insidiosos del germen eberthiano.

Porque, en fin de cuenta, todas y cada una de las medidas sanitarias, todas y cada una de las prescripciones higiénicas encaminadas á prevenir la fiebre tifoidea, se reducen, hoy por hoy, á evitar que el agente causal penetre en nuestro organismo. Unas se conforman con retenerlo, otras pretenden alejarlo y otras intentan destruirlo; pero todas tienden á impedir su acceso al interior del tubo digestivo. Obra difícil, eminentemente difícil; son tan múltiples y variadas las condiciones de la existencia humana, y son tan infinitas las ocasiones de contagio, que, por este camino, la supresión de la fiebre tifoidea se me antoja ideal relegado á las alturas de un porvenir excesivamente remoto. En cambio, y habida cuenta de los ya numerosos precedentes, ¿no ha de ser posible crear en el organismo humano condiciones que lo hagan refractario á la vida y pululación del germen?

He aquí el empeño que actualmente absorbe la atención de numero-

[(1) Inglaterra no habrá olvidado, seguramente, el grave ataque de *typhoid fever* sufrido hace pocos años por el actual príncipe de Gales en su residencia de Clarence House.

(2) R. Koch. Die Bekämpfung der Infektionskrankheiten, insbesondere der Kriegsepidemien. Berlin.—La versión de este trabajo figura en el tomo *Estudios de Higiene general*. Comp. y trad. por F. Murillo. Madrid.

sos investigadores y que desde ahora será tema de estudio para las Secciones unidas de Sueroterapia y Bacteriología del Instituto de Alfonso XIII. Son ya numerosos los trabajos realizados en este sentido, y á dar cuenta de los principales, de aquellos que representan una ganancia positiva en el camino de la solución, se dirige el presente artículo.

Y en verdad que es ya hora de pensar algo que tenga inmediata aplicación á la especial idiosincrasia de España; porque si para reducir la fiebre tifoidea al *mínimum* inevitable optamos por el procedimiento seguido en el extranjero (necesario de todas maneras) y de acuerdo con él fijamos nuestra salvación á la iniciativa, holgura y patriotismo de las arcas municipales, pasarán los años y continuaremos siendo, con Turquía, la excepción vergonzosa de Europa. Por el contrario, una vacunación que individualmente preservara del tifus abdominal, como la vacuna Jenneriana preserva de la viruela, libraría á España de uno de sus más ominosos azotes, y sin grandes dispendios ni reformas ciclópeas sería parte importantísima en el resurgimiento de las energías nacionales.

¿Es posible pensar en ello? Los conocimientos adquiridos en cuanto se relaciona con la fiebre tifoidea, ¿permiten abordar la cuestión con esperanza de éxito?

Pocas son las infecciones tan bien estudiadas, tan perfectamente conocidas en lo íntimo de su mecanismo como la fiebre tifoidea, y muy pocas, además, las bacterias patógenas cuya biología aparezca tan clara á la luz del formidable número de trabajos consagrados al *b. typhi* desde que Eberth y Gaffky lo clasificaron y describieron.

Con respecto á la enfermedad, sabemos hoy diferenciarla exactamente de otras parecidas y, en primer término, de otra muy análoga, descrita por Schottmüller (1) con el nombre de paratifus (tipos A y B) y observada á la hora actual en todos los países, ya en forma esporádica, ya en forma de pequeñas epidemias; sabemos encontrar el bacilo en las heces, en la sangre y en las manchas roseólicas; podemos diagnosticar los casos dudosos con la reacción de Gruber-Widal, simplificada, para las necesidades del práctico, con la emulsión de Ficker; conocemos las diversas vías por donde el germen abandona el organismo para repartirse al exterior (dyecciones, conductos biliares, abscesos metastáticos, bacteriuria, etc.); distinguimos los casos atípicos y los casos de verdadera intoxicación descritos por Curschmann (2); en una palabra, desde el punto de vista clínico y excepción hecha del tratamiento, la fiebre tifoidea no encierra hoy arcanos para nadie.

(1) Schottmüller.—Ueber eine das Bild des Thiphus bietende Erkrankung hervorgerufen durch Typhus ahuliche Bacillen.—*Deutsch. Med. Wochs.* núm. 32, 1900.

(2) Curschmann.—Der Abdominatyphus, 1898.

No menos conocida es su epidemiología. Nos consta que, á semejanza del cólera, se suman á los enfermos, para constituir focos de infección, algunos individuos sanos ó ligeramente indispuestos en cuyo intestino pululan los bacilos sin provocar el cuadro clásico ni apenas trastornos subjetivos, y que á masalva, como ha descubierto Koch, siembran el mal y difunden el contagio; conocemos todos los caminos que el germen sigue para asaltar nuestra economía: el agua de los ríos, pozos, estanques y manantiales, que es su camino preferido, tan preferido que Bornträger (1), parodiando el alegórico *cherchez la femme*, recomienda inspirarse en el *cherchez l'eau* para indagar el origen de las epidemias de tifus; el hielo, cuya frialdad resisten los bacilos meses enteros; las aguas minerales; la leche que es, después del agua, el origen más frecuente de infección tífica; las ostras; las legumbres contaminadas por el riego; el suelo en cuyos poros este microorganismo conserva largo tiempo su vitalidad; los insectos; el contagio directo; en fin, muchos y diversos modos de transmisión averiguados y comprobados por cientos de estudios experimentales.

En cuanto á los caracteres típicos y diferenciales del *b. typhi*, bastará decir que á la hora actual están perfectamente determinados. Formas, razas, caracteres de cultivo en distintos medios, medios de cultivo especiales, de verdadera selección: la mezcla de Capaldi, la gelatina de Elsner, la de Uffelmann, el caldo Parietti modificado por Haffkin, el procedimiento de Gabritschewski, el de Chantemesse, el agar de Piorkowski y, ante todo y sobre todo, el de v. Drigalski-Conradi (2) que permite aislarlo con rapidez y certeza de entre las demás especies afines. Por último, la bacteriología tiene hoy recursos seguros para identificar siempre el bacilo del tifus. Estos recursos son la aglutinación y la bacteriolisis en el peritoneo de los animales inmunizados: si la primera falla alguna vez, la segunda, el fenómeno de Pfeiffer, no falla nunca.

Llegado á este punto, y tomando como base los categóricos asertos que acabo de establecer, ocurre á la imaginación una pregunta: si tan perfectamente se conoce la biología del microbio patógeno, ¿cómo aprovechándola, no se ha encontrado medio de elaborar algún suero eficaz para combatir la enfermedad? La explicación reside en el hecho de ser el bacilo del tifus una bacteria puramente *endotóxica*, y hasta ahora los sueros en cuya fabricación entran sólo endotoxinas, *sin mezcla de toxinas*, resultan en la práctica muy poco ó nada eficaces; á lo cual se añade la agravante de las insinuaciones lanzadas por sabios investigadores que adelantan la idea de que tales sueros, caso de mostrarse activos, serían

(1) Bornträger.—Die Contagiosität des Darmtyphus.—*Viertelj. gericht. Med.*, 1901.

(2) v. Drigalski und Conradi.—Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen.—*Zeitsch. f. H. u. Infh.*, 39.

perjudiciales, porque al disolver millones de bacterias dentro del organismo atacado, quedarían libres de una vez grandes cantidades del veneno endobacilar, ocasionando nuevos daños y aun la muerte. Conducta semejante, de ser cierta la hipótesis, equivaldría á echar leña al fuego.

Ya sé, en contra de lo expuesto, que Chantemesse prepara en Francia un suero antitífico cuyas virtudes curativas él mismo pondera; pero á más de que ningún clínico ha dado su sanción al nuevo remedio, es preciso considerar que el autor citado funda su empresa en un hecho que está en abierta contradicción con la experiencia universal de todos los bacteriólogos. Chantemesse asegura que el bacilo del tifus produce toxinas, y todos los experimentadores afirman lo contrario, apoyados en pruebas que no admiten réplica ni duda. Probablemente, lo que el autor francés y su discípulo Balthazard (1) obtienen, operando con soluciones osmóticas y sucesivas congelaciones, es la endotoxina, y las *endotoxinas no son toxinas*. En todas partes los investigadores serios y concienzudos, sin abandonar la idea de un posible suero antitífico, inspirado en procedimientos distintos de los actuales, vuelven la vista y fian sus esperanzas á los méritos de la vacunación.

Hora es ya de que nos ocupemos en ella dando por terminada la primera parte de este trabajo, que ha de servir para la mejor comprensión de la segunda; pero antes como preliminar, y ya que he suscitado la cuestión de la toxina y endotoxina tíficas, séame permitido hacer un breve resumen de las investigaciones de Macfadyen que tanta resonancia tuvieron en los centros científicos y en la prensa.

Sabido es que Macfadyen (2) se propuso estudiar sistemáticamente el jugo protoplasmático de diversas células y organismos unicelulares, para lo cual, sirviéndose de un triturador de 18.000 revoluciones, enfriado á -190° por acción del aire líquido, obtenía plasma, ó mejor, elementos intracelulares (intracellular-factors) sin mezcla ni alteración artificial. Este mismo principio aplicado al bacilo del tifus dió origen al trabajo siguiente:

Sobre los elementos constitutivos intracelulares del bacilo del tifus (3). Comprende siete breves capítulos. En el primero, titulado *Experimentos relativos al veneno tifódico extracelular*, dice textualmente:

«La existencia de una toxina específica producida por el bacilo del tifus no se ha demostrado aún, si bien se ha pensado en ella por analogía con otros microorganismos y en razón al curso clínico de la enfermedad.

(1) V. Balthazar.—Toxine et antitoxine Typhiques, Paris, 1903.

(2) Macfadyen, Morris & Rowland: On expressed yeast cell plasma.—*Proc. of the Royal Society*, volumen XLVII.

(3) Macfadyen & Rowland: Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus.—*Centf. f. Bak.*, tomo XXXIV, O

Los trabajos destinados á demostrar la producción de una toxina extracelular han conducido á resultados negativos: que tal toxina no existe en los cultivos filtrados, lo saben todos los bacteriólogos. El bacilo del tífus, cultivado en los medios ordinarios, no produce cuerpos solubles con propiedades venenosas.»

Al autor le asalta la duda de que quizá la falta de toxinas reconozca por causa lo inadecuado de los medios de cultivo, y entonces, tras de pacientes ensayos y probaturas que duraron un año, logra preparar en frío un jugo extraído del bazo, glándulas mesentéricas y mucosa intestinal. En este medio, variado de distintas maneras, cultivó el germen, y al realizar las experiencias en busca de la supuesta toxina, se encontró con el mismo resultado negativo de siempre. El autor lo declara en la siguiente frase final: «los numerosísimos experimentos realizados con caldos afines, por su composición, al plasma orgánico, demostraron que no había en ellos toxina alguna de valor inmunizante».

Los capítulos II, III, IV y V están consagrados á la exposición y estudio de los «experimentos relativos á la toxina tifódica intracelular» (endotoxina). Detalla el método elegido para preparar los cultivos en agar y el plasma bacteriano, y refiere cómo, por no estar satisfecho con los resultados primeros, apeló á su célebre método de trituración y congelación intensísima, con el cual obtiene una substancia pastosa que, emulsionada en solución fisiológica, mata cobayas á la dosis de 0,2 en inyección subcutánea, y á la variable de 0,02-0,003 en inyección intraperitoneal.

En el capítulo VI el autor describe las «propiedades inmunizantes del plasma celular bacteriano», dando cuenta de sus experiencias primeras en conejos y monos y de las posteriores en otros animales; de las propiedades bactericidas del suero; de su poder de aglutinación y del efecto neutralizante que desarrolla sobre la endotoxina tífica.

Las conclusiones, que á mi juicio pecan de exageradas y optimistas, se consignan en el VII y último capítulo. De ellas nos interesa la última que dice así: «De lo expuesto se deduce también la posibilidad de obtener vacunas bacterianas de gran pureza y fácil medición para la fiebre tifoidea y, en general, para todas las enfermedades producidas por gérmenes que contienen venenos intracelulares.»

II

**Trabajos más notables publicados recientemente
acerca de la vacunación antitífica.**

Antecedentes.—La observación, antigua y general, de que un ataque de tifus deja inmunidad para toda la vida; el descubrimiento de la aglutinación como virtud específica del suero de los convalecientes y curados, y, por fin, la bacteriolisis comprobada *in vitro* y en el fenómeno de Pfeiffer, no dejan lugar á duda respecto á la existencia de elementos *antígenos* en la sangre de todos los que triunfan de la infección dotinéntérica. La experimentación, simulando las condiciones naturales, confirma el hecho con la inmunidad provocada, con la aglutinación, con la bacteriolisis. Bäumler y Peiper, Chantemesse y Widal, Brieger, Kitasato y Wassermann, Pfeiffer y Kolle, Neisser y Shiga, Paltauf, Conradi, cientos de investigadores aportan, uno tras otro, nuevos datos en confirmación de esta verdad, engendran de varias maneras el *amboceptor*, examinan sus propiedades, y no satisfechos todavía, evidencian los rincones del organismo encargados de fabricarlo (1). Con cultivos vivos, con cultivos muertos, usando la vía hipodérmica, lo mismo que la intraperitoneal y la venosa, los experimentadores citados demostraron palpablemente que era fácil inmunizar animales de grande y de pequeña talla contra el bacilo del tifus.

Madura ya la idea, y alcanzada la plenitud de conciencia indispensable cuando se arriesgan vidas humanas en un tanteo experimental, Pfeiffer y Kolle (2) ensayaron por primera vez en la especie humana la vacunación antitífica. Valiéronse para ello de cultivos en agar suspendidos en solución fisiológica y muertos por la permanencia de dos horas á la temperatura de 56°. La inyección subcutánea de 2 mg. de cultivo en 1 cmc. de solución, provocaba escalofríos, malestar, dolor local y fiebre de 38°5 durante cuarenta y ocho horas.

Por la misma época y con entera independencia de estos investiga-

(1) En su primer trabajo dedicado al asunto, Wassermann creyó demostrar que el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea, son los órganos encargados de producir el *anticuerpo*; pero en otro reciente (19 de Mayo de 1905) publicado en el *Zeitschr. f. H. u. Infectk.* T. L. (Ueber die Bildungsstätten der Typhusenmunkörper, von A. Wasserman u. J. Cillon), el autor se rectifica y prueba que no es privilegio de dichos órganos la elaboración del cuerpo inmunizante, sino que todas las células del organismo pueden producirlo, siendo las *primeras* aquellas que *primero* se ponen en contacto con el veneno tífico.

El concepto primitivo de Wassermann sirvió á Jéz para fabricar, en el Instituto de Tavel, un *extracto antitífico* (antityphusextrakt) bastante aceptado en Suiza y que se prepara por maceración y extracción de entrañas de conejos inmunizados contra el tifus.

(2) Pfeiffer u. Kolle: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfungen der Menschen gegen Typhus abdominalis, 1896.—*Deutsch. Med. W.*, núm. 46.

dores, dos médicos militares ingleses, Wright y Semple (1), publicaron un trabajo anunciando la vacunación antitífica de las tropas destinadas á la India y á la campaña del Transvaal. Habíanse decidido por el empleo de cultivos en caldo, esterilizados á la temperatura de 60°, alegando en pro de los bacilos muertos las tres razones siguientes: 1.^a, con ellos no hay peligro de provocar la enfermedad; 2.^a, no se corre el riesgo de diseminarla; y 3.^a, las vacunas preparadas con gérmenes muertos se prestan á mayor firmeza que las obtenidas por atenuación.

En otro trabajo (2), publicado más tarde, dan cuenta de la estadística: llevaban vacunados 2.835 hombres que podían compararse con 8.460 no vacunados en los mismos regimientos de la India.

Para los vacunados, la morbilidad fué de 0,93 y la mortalidad de 0,20.

Para los no vacunados, la morbilidad fué de 2,50 y la mortalidad 0,34.

El mismo año comunicaron (3) los resultados habidos en la guarnición de Ladysmith durante el sitio, y que fueron, en resumen:

Soldados no vacunados, enfermaron 1 por cada 32, murieron 1 por cada 4,5.

Soldados vacunados, enfermaron 1 por cada 2.113, murieron 1 por cada 4,4.

Entre los oficiales la proporción es distinta y acusa muy ligeras diferencias á favor de la vacunación. El hecho es algo contradictorio, si bien debemos conceder que aquí se trata de los primeros pasos, siempre vacilantes y confusos, y de una experiencia verificada en tierras lejanas y en circunstancias críticas y azarosas de verdad. Posteriormente los éxitos han sido más favorables.

Entrando ya de lleno en el cometido del presente capítulo, empezaré por dar á conocer el trabajo de W. Kolle (4), publicado en Marzo de 1905 con el epígrafe:

LA VACUNACIÓN ANTITÍFICA Á LA LUZ DE LAS MÁS MODERNAS INVESTIGACIONES

«En estos últimos tiempos solicita cada vez más la atención de los investigadores el problema de la inmunización activa contra la fiebre tifoidea, ó mejor, el hecho de saber si vacunando con el bacilo de Eberth-Gaffky, agente productor del tifus abdominal, se logra prevenir dicho

(1) Wright a. Semple: Remarks on Vaccination against typhoid fever.—*Brit. med. Journ.*, 1897.

(2) Wright: On the results which have been obtained by the antityphoid inoculations.—*The Lancet*, 1900.

(3) Wright: A note on the results obtained by the antityphoid inoculations in the beleaguered garrison of Ladysmith.—*The Lancet*, 1900.

(4) W. Kolle: Ueber den Stand der Typhuschutzimpfungsfrage auf Grund der neuesten Untersuchungen.—*D. Med. W.*, núm. 12.

padecimiento. Tal interés se debe en gran parte á los ensayos y á la experiencia adquirida por los ingleses en la guerra con los boers (1899-1902), por las potencias unidas en la campaña de China (1900-1901), y por nosotros, los alemanes, en la sublevación de los hereros (1904). En todas estas ocasiones se ha visto que al igual de lo sucedido en las guerras europeas del siglo último, el tifus representa para las expediciones militares del Asia y del Africa subtropical la más temible de las infecciones. Hasta en los países tropicales, poco castigados de ordinario en la paz por el tifus, puede adquirir la enfermedad carácter epidémico en los ejércitos combatientes, como sucedió á los americanos en Cuba y Filipinas.

En la guerra fallan muchas veces los mismos medios que en la paz sirven para combatir la enfermedad. Medidas generales de higiene, vigilancia del agua y profilaxis personal son, por las circunstancias de un ejército en campaña, postulados frecuentemente irrealizables. Las mismas reglas fundamentales, establecidas por Koch, para combatir el tifus, y que tan valiosas resultan en la paz, no tienen aplicación perfecta en la guerra, ya que la extensa difusión de los gérmenes por contacto, y la siembra que de ellos realizan las personas sanas en cuyas deposiciones abundan durante largo tiempo los bacilos, no admite fácil corrección y provoca peligrosas consecuencias en los campamentos.

Dadas, pues, las antedichas condiciones, era un pensamiento natural y lícito procurar la vacunación de las tropas destinadas á combatir en climas lejanos. En gran escala lo han realizado los ingleses por iniciativa de Wrigth. Más de 100.000 hombres lleva vacunados, desde 1899, en la metrópoli y en las colonias con cultivos en caldo, previa esterilización. Desde principios de año, nuestras tropas destinadas al Africa, se vacunan también antes de embarcar, ó en la travesía, por el procedimiento que luego indicaremos.

La vacunación es voluntaria. Por ahora, en estas vacunaciones prescindimos totalmente del paratífus, cuyo agente productor, según es sabido, nada tiene que ver con el bacilo de Eberth-Gaffky. La razón es obvia: por una parte, ignoramos si dicha enfermedad existe en nuestras colonias africanas, y, por otra, sabemos que es mucho menos temible que el tifus. Las muertes por paratífus son raras; su curso benigno y su área de difusión bastante menor que la del tifus. Por término medio, en Alemania, al menos, á diez casos de tifus corresponde uno de paratífus.

Tres circunstancias precisa considerar cuando se trata de establecer juicio exacto acerca del valor profiláctico de la nueva vacuna: 1.ª, los resultados estadísticos demostrativos de la eficacia ó ineficacia del procedimien-

to; 2.^a, la experimentación, y 3.^a, el examen de la sangre en cuanto á la revelación de cambios específicos.

Las estadísticas inglesas, recopiladas por Wrigth, hace poco, en una monografía, no dan solución satisfactoria ni decisiva á la cuestión planteada, porque no permiten deducir el valor de la vacunación para los grandes ejércitos en campaña, ó para las grandes expediciones guerreras. Tales estadísticas no tendrán fuerza demostrativa mientras no cumplan, como condición previa, tres requisitos: 1.º, existencia de una lista exacta de los vacunados; 2.º, revisión de la suerte ulterior de los mismos, cosa que fácilmente se consigue por medio de cédulas numeradas donde se anotan las observaciones pertinentes, y 3.º, comparación de cifras entre vacunados y no vacunados, cuidando de colocar ambos grupos en iguales circunstancias, es decir, en idéntico peligro de infección.

La escasa validez de las estadísticas inglesas se debe, en parte, á lo defectuosa de las listas y de la observación ulterior de los casos; en parte, á la gran proporción de vacunados en un solo tiempo, y, en parte, al plazo excesivamente largo que el autor se toma para dar por terminada la prueba, con lo cual crecen los resultados favorables y mengua su fuerza demostrativa. Si, á pesar de todo, las cifras publicadas por Wrigth, despiertan, en general, la impresión de un influjo favorable del método sobre la morbilidad y mortalidad de los vacunados, tampoco se puede desconocer que hay en sus estadísticas algo poco favorable ó que se presta á interpretaciones desfavorables. Necesitamos, pues, aguardar los resultados de nuevas estadísticas, elaboradas exactamente conforme á los principios que acabo de esbozar, para conocer el valor práctico de la vacunación antitífica. En todo caso, y de aquí en adelante, se deben estimar como demostrativas no más que las observaciones concernientes á períodos cortos desde la fecha de la inmunización (seis á ocho meses).

Planteada así la cuestión, conviene recordar el criterio científico que sirve de base al problema de la vacunación antitífica.

Un hecho fundamental representa el descubrimiento de Brieger, Kitasato y Wassermann, que lograron inmunizar, no sólo con cultivos vivos, como habían enseñado Bäumer y Peiper, sino también con cultivos muertos del bacilo Eberth-Gaffky. Se pueden inmunizar cobayas contra dosis mortales múltiples, y por mayor ó menor tiempo, según sean, mayores ó menores, las cantidades de caldo vacunífero inyectadas de antemano. Ciertamente que no es el tifus enfermedad de conejillos de Indias; pero queda el hecho de que estos animales, una vez protegidos por la vacuna, resisten sin daño la inyección intraperitoneal de dosis diez ó quince veces mayores que las necesarias para matar los testigos. Los humores de los

animales inmunizados con cultivos vivos ó muertos del bacilo tífico, adquieren, según demostró Pfeiffer, la propiedad de disolverlos, siendo así que en los animales no inoculados se multiplican y acarrear la muerte. Las sustancias que operan esta disolución son las bacteriolisinas, descubiertas y estudiadas por Pfeiffer.

Las bacteriolisinas son también, principalmente, las portadoras del poder inmunizante que adquiere el suero de los animales vacunados. Las mismas sustancias comprobadas en la sangre de los animales inmunizados, aparecen, como hemos demostrado Pfeiffer y yo, en el suero de aquellos individuos que resisten un ataque, grave ó ligero, de fiebre tifoidea y en los que reciben, por inyección subcutánea, cierta cantidad de cultivos muertos. Este último hecho cierra el ciclo demostrativo, sobre todo en lo referente al papel de las bacteriolisinas. Todos los investigadores opinan unánimes que estos cuerpos se hallan en estrecha, en íntima relación con el fenómeno de la inmunidad antitífica. Lo mismo en los animales que resisten una infección provocada por el bacilo del tifus ó una intoxicación engendrada con cultivos estériles, lo mismo en el hombre el ataque de tifus deja inmunidad esencialmente antiinfecciosa. En ambos casos adquieren los supervivientes la propiedad de hacer inocua la materia infecciosa, y no por neutralización de tóxico alguno, sino por muerte del germen causal.

No estará demás recordar, siquiera sea brevemente, el concepto actual de la ciencia acerca del proceso de inmunización activa contra el tifus, tanto del espontáneo en la especie humana, como del provocado artificialmente en los animales de laboratorio. Puesto que la enfermedad deja un estado refractario que á menudo se prolonga durante la vida entera, sólo podemos explicarnos este cambio admitiendo alguna alteración de grandes grupos ó complejos celulares de la economía. La supuesta alteración se traduce, materialmente, en la propiedad de reaccionar contra el estímulo producido por el germen infeccioso, aportando al instante, en cualquier región orgánica, los anticuerpos que lo inutilizan y disuelven. Se trata, pues, de una alteración específica de la excitabilidad. Pues bien; actualmente tenemos medios de conocer y medir este cambio, esta alteración del organismo. Primero, por las aglutininas, cuerpos que precisamente obedeciendo á tal motivo, se aprovechan para el diagnóstico precoz del tifus, según el método de Widal. Mas como el parentesco de las aglutininas con la inmunidad es bastante lejano, resulta más exacto aprovechar las bacteriolisinas como indicadores de la transformación operada dentro del organismo. Midiendo con exactitud, por titulaciones sucesivas, las bacteriolisinas contenidas en la sangre de los convalecientes ó

de los vacunados, se puede calcular cómo responde el organismo al «estímulo tóxico» del bacilo del tifus, y cómo apoderándose del elemento inmunizante y saturándose de él desprende los amboceptores superfluos ó sobrantes, de acuerdo con la ley de la regeneración promulgada por Ehrlich-Weigert.

Un fenómeno concomitante inevitable del «estímulo tóxico», es la reacción general. Donde ésta falta, sea por reducción de la dosis inyectada, sea por manipulaciones destructivas especiales (separación del principio tóxico y del principio inmunizante), no podrá lograrse nunca un avance duradero del proceso de inmunización.

Sería exagerado atribuir únicamente á las bacteriolisinas la esencia del mecanismo de la inmunidad. Su acúmulo en la sangre es un fenómeno constante en todos los organismos inmunizados contra el germen vivo de la enfermedad. Sin embargo, la presencia de bacteriolisinas libres en la sangre es un hecho pasajero, mientras que la inmunidad antitífica, ó dígame, la facultad de producir toxinas *en el acto*, es un fenómeno permanente. Así se explica el hecho comunicado hace poco por Jürgens, relativo á un individuo que adquirió el tifus á pesar de las bacteriolisinas tíficas demostradas en su sangre. Desgraciadamente, la comunicación de Jürgens no nos permite establecer comparaciones. Faltan en ella datos exactos sobre la virulencia de los cultivos utilizados; faltan ensayos comparativos con suero normal, y falta, por último, el protocolo de los experimentos. Además, la observación del citado autor, no invalida en nada la significación de las bacteriolisinas como indicadoras del estado particular que designamos con el nombre de inmunidad. Para negar su papel sería preciso demostrar que los individuos que enferman de tifus, á pesar de las bacteriolisinas contenidas en la sangre, las contienen también en la puerta de entrada del agente virulento, ó sea aquí, en el epitelio intestinal. La presencia simultánea de bacilos y bacteriolisinas en la sangre, se explica por el fenómeno de la desviación del complemento, descubierto por Neisser y Wechsberg, con lo cual dicho se está que en nada perjudica á la significación de las lisinas.

Si bien, en consonancia con lo dicho, consideramos á las bacteriolisinas como indicadores valiosos del grado de inmunidad para estudios experimentales (comparación de distintos procedimientos inmunizantes, etcétera), entendemos, sin embargo, que su presencia y su cuantía no son datos decisivos para juzgar y medir los méritos de una vacuna antitífica. Se necesita también aquilatar la reacción subsiguiente á la inoculación de la vacuna. Hasta debemos pretender, apoyados en lo que la experimentación enseña, que dicha reacción sea acentuada, puesto que

entre ella y la dosis de material virulento absorbido existen relaciones de dependencia. Conste, no obstante, que lo mismo en el hombre que en los animales la reacción depende de la suceptibilidad individual, y que esto influye mucho en la duración y en la eficacia de la inmunidad conferida.

Desde que Pfeiffer y yo demostramos experimentalmente, que en la sangre de los individuos vacunados con cultivos de agar estériles existen bacteriolisinas, en igual ó mayor proporción que en la sangre de los convalecientes—dando así base científica á la vacunación contra la fiebre tifoidea—son varios los métodos propuestos para llegar al mismo fin. De ellos sólo el de Wright, que emplea cultivos en caldo, se ha ensayado en grandes proporciones. El de Neisser y Shiga, lo mismo que la modificación de Wassermann, han hecho sus pruebas únicamente en animales ó en contados grupos de personas.

Es de lamentar que los resultados de estos métodos no admitan comparación posible. Tanto Wright, como Shiga, miden los efectos de la inoculación por el efecto bactericida desarrollado *in vitro* al actuar el suero de los vacunados sobre el bacilo del tifus, mientras que en nuestro procedimiento la medición se establece experimentalmente. A la diferencia expresada hay que añadir el hecho de emplear cada autor para la medición y para la prueba, cultivos distintos, que imposibilitan toda comparación.

Era, por tanto, necesario someter á prueba en grande escala los diversos procedimientos recomendados para inmunizar contra el tifus abdominal, y así lo hemos hecho en el Instituto de Enfermedades Infecciosas, con la ayuda de Hetsch, Kutscher y Besserer, vacunando aproximadamente 100 individuos en el transcurso de los últimos cuatro meses, y siguiendo atentamente la observación de todos ellos. El plan fué el siguiente: para la inmunización de los cien casos nos servimos del mismo cultivo. Antes y después de la vacunación se midió el poder aglutinante de la sangre, su acción bactericida *in vitro* y, finalmente, por medio de la experimentación, su riqueza en bacteriolisinas. La prueba experimental de las bacteriolisinas contenidas en la sangre de los vacunados se verificó operando con cultivos de suficiente virulencia.

Trabajos inéditos aún de Besserer, Töpfer y Jaffe, emprendidos á instancia mía, demuestran que no todas las razas de bacilos tíficos sirven para tales pruebas. No es éste lugar oportuno para exponer los complicados fenómenos á que me refiero, y que, por otra parte, hallan cumplida explicación en la teoría de Ehrlich. Si aquí los menciono, es únicamente para advertir las dificultades que embarazan y las precauciones que

requieren los estudios de esta índole. Se tomó también nota exacta de la reacción local y general. Los detalles de tan numerosas observaciones, recogidas por Hetsch y Kutscher, se publicaron en el último cuaderno del *Anuario clínico*. También ha visto la luz un trabajo, sobre el mismo asunto, redactado por la sección de Sanidad del Ministerio de la Guerra (1) y un informe de Schian acerca de los resultados de la vacunación entre los indígenas y entre las tropas de nuestras colonias de Africa.

Antes de pasar al examen de las observaciones y estudios realizados sobre la base de este material, me permito formular aquí las condiciones que debe reunir todo procedimiento de vacunación utilizable en la práctica. La vacuna antitífica, cualquiera que sea el procedimiento elegido, debe ser:

1.º *Fiel e inocua*, ó lo que es lo mismo, sólo puede emplearse un caldo que contenga gérmenes tíficos muertos, que se conserve bien sin sufrir alteraciones y que se dosifique fácilmente.

2.º *Aceptable en la práctica*; las reacciones deben ser francas, pero no excesivas, y el tiempo necesario para lograr la inmunidad, lo más corto posible; por ejemplo, como máximo, tres inoculaciones, separadas por intervalos de ocho días.

3.º *Científica en su base y susceptible de medición*.—Las reacciones local y general, á más de ser evidentes, necesitan producir notable acúmulo de bacteriolisinas específicas que sirvan de indicador y anuncio de la transformación operada en el organismo.

Las investigaciones realizadas bajo mi dirección en el Instituto de Enfermedades Infecciosas, prueban de nuevo que para los efectos de la inmunización importa mucho el uso de cultivos apropiados. Hay cultivos que inmunizan bien, y cultivos que inmunizan mal. Wassermann sostiene que la propiedad de engendrar bacteriolisinas no guarda relación con la virulencia del germen, sino que depende de la facultad, variable para cada cultivo, de apoderarse *in vitro* de los amboceptores del suero. Esta opinión, totalmente confirmada por nosotros, nos ha llevado á elegir, después de prolijos ensayos, entre los cientos de razas que figuran en nuestra colección, la núm. 151, que es de virulencia mediana, pero en cambio *presta á los cobayas notable inmunidad*, provoca en los conejos gran acúmulo de bacteriolisinas y sobrepuja al cultivo E de Wassermann (tenido hasta hoy por el mejor) en fuerza de afinidad por los amboceptores. El suero de las personas inoculadas con este cultivo desarrolla acción enérgica sobre los bacilos del tífus, incluso sobre los hallados por

(1) Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär—Sanitätswesens. 1905.

Kutscher en las heces y en la sangre de los enfermos procedentes de Africa. De los procedimientos sometidos á prueba, el que mejor resultado dió fué el de Pfeiffer y mío, que, además, por su sencillez práctica (inyección de 2, 4 y 6 mg. de cultivo en agar cada ocho días) es digno de merecer la aceptación general. No podemos aconsejar el empleo de cultivos en caldo por el procedimiento de Wrights, ni tampoco el de Neisser-Shiga. En cambio, las transformaciones observadas en la sangre de los inoculados con el polvo vacunífero de Wassermann—procedimiento que todavía no alcanza la necesaria perfección técnica—, animan á proseguir estudiándolo en el hombre y en los animales. Sucesivos trabajos que ya tenemos comenzados resolverán, en definitiva, si la vacuna multivalente propuesta por Wassermann encierra ó no una idea acertada.

En el curso de nuestras investigaciones hemos observado algunos hechos que, indudablemente, son de importancia para fijar la dosis y para determinar el número de inoculaciones indispensables al logro de una completa inmunización. Nuestras conclusiones no discrepan en nada de otras deducidas de experiencias anteriores verificadas con cultivos muertos de cólera y fiebre tifoidea. Apreciadas en conjunto, nos permiten sentar la afirmación de que para obtener la *mayor inmunidad posible* es preciso inocular las *mayores cantidades posibles de cultivos en agar*. La inoculación, repetida varias veces, aumenta y prolonga la inmunidad; y puesto que tres inyecciones escalonadas de dosis sucesivamente mayores prometen mejor éxito que una ó dos, debemos preferirlas siempre que las circunstancias lo permitan. En la práctica bastarán ordinariamente dos inyecciones separadas por el intervalo de ocho ó diez días, cuando no por otra razón, siquiera por no prolongar demasiado el tratamiento. En los primeros días subsiguientes á la inyección de bacilos tifógenos, decrece el poder bactericida de la sangre de los vacunados, y si bien esta *fase negativa* dura poco (ocho ó diez días), su existencia obliga á practicar la vacunación en una época de calma, es decir, cuando no haya peligro inmediato de infección. Esta medida obedece á la suposición natural de que durante la fase negativa aumenta la receptividad del organismo para la infección. Nuestra opinión es contraria al empleo de dosis excesivamente pequeñas (Bassenge y Rimpau). En primer lugar, provocan una reacción demasiado escasa, y en segundo lugar peca de pobre el acúmulo de anticuerpos, momentos ambos que constituyen el desiderátum de una buena vacunación. No me parece recomendable el uso de cultivos en caldo, entre otras razones porque es más difícil vigilar su pureza. Con ninguno de los procedimientos citados anteriormente se obtiene

tan gran cantidad de bacteriolisinas como con las inoculaciones de cultivos en agar á dosis crecidas.

Naturalmente, no hay que esperar del método la absoluta inmunización, perdurable por muchos años. Esto no es fácil de conseguir ni se consigue tampoco á costa de la enfermedad misma, como lo demuestran las recidivas de fiebre tifoidea y los casos de repetición del padecimiento dentro de plazos poco distanciados. Así, pues, renunciando á obtener una inmunidad absoluta y de extraordinaria duración, existe la posibilidad, científicamente fundada, de preservar al hombre del tifus durante un período mayor ó menor dentro de límites relativos.

De lo expuesto se desprende que hasta ahora no hay motivo para los grandes entusiasmos ni para los grandes escepticismos. Lo principal, en el estado actual de la cuestión, es reunir buena copia de observaciones, y para ello ofrece ocasión excelente nuestra actual campaña contra los hebreros. El mismo Koch, á su regreso de Africa, se declaró partidario enérgico de la vacunación de las tropas destinadas á guerrear en aquellos climas. De cómo su opinión ha sido decisiva, da testimonio elocuente el informe elevado por Gaffky al Ministerio de Medicina y Cultos. Conferencias habidas en el Instituto de Enfermedades Infecciosas, y en las cuales tomaron parte activa Koch, Kirchner, Gaffky y Dönitz, dieron por resultado el planteamiento de los trabajos que constituyen el asunto del presente artículo. Wassermann no pudo asistir por hallarse, en aquel entonces, cumpliendo su misión de jurado en la Exposición Universal de San Luis. En no pequeña parte contribuyen al mejor éxito de la empresa la Sección de Sanidad del Ministerio de la Guerra y los jefes de las tropas coloniales. En particular, debemos agradecer su interés al general de Sanidad Schjerner y á los médicos mayores Musehold y Stendel. Hasta ahora van vacunados cerca de 2 000 hombres entre oficiales, médicos, suboficiales y soldados; todos ellos por voluntaria aquiescencia. La mayoría sufrieron dos inoculaciones, algunos tres. La vacuna ha sido preparada exclusivamente por Hetsch y Kutscher, que en el Instituto de Enfermedades Infecciosas dedican á este espinoso trabajo toda su incansable actividad. Sembrados los tubos de agar con bacilos del tifus, se dejan en la estufa durante veinticuatro horas y luego se emulsionan en solución fisiológica, mezclando partes iguales de cultivo y agua. Esta mezcla se somete á un procedimiento suave de esterilización—60 minutos á la temperatura de 60°—y hechas las oportunas pruebas en demostración de la esterilidad, se le añade ácido fénico en proporción de 0,30 por 100 y se guarda en frascos pequeños, de color obscuro, cerrados con tapón de goma y cápsulas de estaniol.

El Ministerio de la Guerra pone de su parte cuanto puede para facilitar, con la estadística exacta, el juicio del procedimiento. De esperar es que merced á tan valiosa cooperación lograremos formar concepto claro de la utilidad del método Pfeiffer-Kolle como preventivo del tifus en campaña. Y este conocimiento habrá de influir seguramente, en las guerras ulteriores coloniales y europeas».

Sobre la existencia de spirochætes en la sífilis.

por A. Mendoza.

El doctor Siegel, en 25 de Febrero de este año, publicó, bajo el título «Investigaciones sobre etiología de la sífilis», el resultado de sus estudios histológicos sobre la úlcera sífilítica primitiva, condilomas y lesiones cutáneas y viscerales de monos inoculados, así como de los efectos de las inoculaciones de productos sífilíticos (condilomas no ulcerados, chancros emulsionados con glicerina y agua destilada), en la cámara anterior del ojo del conejo común. En la sangre y en los tejidos, indicó haber encontrado parásitos protozoarios del grupo del *cytorhyctes* semejantes á los que había ya indicado en la vacuna y en la escarlatina.

La técnica de investigación de Siegel es fijar el tejido por una mezcla de alcohol absoluto y solución acuosa, concentrada de sublimado, calentada á 37°, después de obtenidos los cortes colorea éstos con el *azur II* ó la *hematoxilina ferruginosa de Heidenhain*, la observación microscópica debe de hacerse con 1.000 á 1.500 diámetros con objetivos de inmersión al aceite.

El *cytorhyctes* de Siegel es un protozoario en forma ovalada, con dos pequeñísimos núcleos en su interior, que se coloran fuertemente por el *azur*, mide de media á una micra de longitud por un décimo de micra de espesor, dotado de movimientos propios, encontrándole en el tejido conjuntivo y en los vasos, en el chancro, en el condiloma y la sangre de los sífilíticos.

Esta comunicación produjo viva impresión, sobre todo en Alemania, y en el Laboratorio de Sanidad Kaiserlichen Gesundheitsamte, encargó el doctor Kœhler, director del mismo, al profesor Schaudiun con la cola-

boración de Lesser, Neufeld, Hoffmann y Gonder de verificar los hechos expuestos por el doctor Siegel. Schaudinn, desde sus primeros trabajos, indica haber llamado su atención la existencia de spirilos bastante numerosos que se colorean débilmente y de aspecto particular; estos spirilos los encuentra, tanto en los preparados frescos como en los coloreados, dichos spirochaetes son extremadamente movibles, muy tenues y refractan débilmente la luz, para verlos en fresco ha de hacerse la observación inmediatamente después de tomar del enfermo el producto sifilítico. Cuando se trata de chancro, pápulas planas, condilomas, después de excindidas sobre un porta objetos se comprime el producto á fin de obtener alguna serosidad, y de preferencia de la parte central; en los ganglios extirpados también se toma una gota de jugo central después de haberlos dividido en dos porciones por un corte rápido. Cuando se quiere recoger jugo ganglional sin extirpar los ganglios, la técnica seguida es rasurar la piel de la región inguinal, que se desinfectará y lavará con solución normal de cloruro de sodio esterilizada, después, bien sujeto el bubón con la mano izquierda, se punza con una jeringuilla de cinco centímetros cúbicos de capacidad, bien esterilizada y lavada con la solución de cloruro de sodio esterilizado y provista de aguja larga y émbolo de amianto. Se tantea lentamente en el tejido subcutáneo hasta tener la seguridad de haber penetrado en el ganglio más voluminoso; tanto en este caso como cuando se quiera obtener jugo de múltiples ganglios, debe comprobarse siempre con la mano izquierda que la aguja penetra, lo que también se puede saber ejecutando movimientos de lateralidad con la aguja, y viendo si el ganglio sigue los movimientos, entonces se hace la aspiración única ó múltiple, según los casos; así se obtiene algunas gotas de un jugo blanco rojizo. Tanto el jugo ganglionar como el de otras producciones sifilíticas (chancro, condiloma, etc.), puede observarse en preparaciones de gota pendiente, á estos últimos jugos, puede también adicionárseles una pequeña proporción de la solución normal de cloruro de sodio.

Para investigar la presencia de los spirochaetes en preparaciones coloreadas, se harán preparados por contacto con la menor cantidad de substancia posible, obtenida de la parte central de los tejidos; después de desecadas al aire, se fijarán durante diez minutos en alcohol absoluto y se teñirán durante diez y seis á veinticuatro horas en la solución azul-eosina de Giemsa, frescamente preparada para cada observación ó preparación.

La solución colorante de Schaudinn, modificación de la de Giemsa, es la siguiente:

De solución de eosina de Giemsa (2,5 centímetros cúbicos de solución de eosina al 1 por 100 para 500 centímetros cúbicos de agua).....	12 partes.
De azur I (en solución al 1 $\times$ 1000 en agua).....	3 partes.
De azur II (solución 0,80 $\times$ 1000, en agua).....	3 partes.

Después de coloreados los preparados por el tiempo, ya indicado, se lavan en agua las laminillas, se desecan y se montan al bálsamo.

Se han aconsejado, además, varias soluciones colorantes con el mismo objeto como el método de Marino, mezcla de solución de azul de azur en alcohol metílico y solución acuosa débil de eosina, suponiendo que la coloración es más rápida, obteniéndose el resultado en quince minutos, también se usa el reactivo azul eosina de Giemsa, del cual se pone de 30 á 40 gotas en 20 centímetros cúbicos de agua destilada y esterilizada, asimismo se emplea la solución de azul de metileno y azur en alcohol metílico en la proporción de 0,04 gramos en 20 centímetros cúbicos de alcohol. Los preparados permanecerán quince minutos en esta solución, se vierte el color sin lavar el cubre y se añade de la solución acuosa de eosina (cinco centigramos por litro), ocho á diez gotas que se dejará actuar durante dos minutos; se lava en agua, se seca y se monta al bálsamo.

Otro método también es el siguiente: el color se prepara mezclando azur y eosina 1,5 de ambos, que se disuelve en mortero, adicionando una mezcla de 125 cc. de glicerina y 125 de alcohol metílico calentado á 60°, después se añaden 0,4 más de azur se deja veinticuatro horas y se filtra; de esta mezcla se toma una gota por cada centímetro cúbico de agua destilada, y esterilizada, esta solución debe mantenerse á 40°, y el tiempo que debe actuar es de quince á veinte minutos.

Schaudinn indica que los spirochætes procedentes de distintos sujetos presentan un poder colorante variable. Observa dos tipos diferentes, el uno caracterizado por una mayor refringencia, mayor tamaño y cuyas vueltas de espira son más abiertas, á más serían más fáciles de teñir con los métodos empleados para colorear á los demás spirochætes (violeta de genciana, fucsina de Zichl, método de Romanowsky, etc.), y hace notar que este tipo no se encuentra en los productos sifilíticos puros y sólo de modo constante en los condilomas; el segundo tipo lo forman spirochætes que en estado vivo son tenues, muy poco refringentes y presentan las vueltas de espira apretadas y finas, tiñéndose mal con los métodos comunes, y sólo la mezcla concentrada azur-eosina de Giemsa permite colorearlos distinguiéndolos por tipo de coloración fuerte y coloración pálida *S. refringens* y *S. pallida*, encontrándose estos últimos sólo en los productos sifilíticos puros.

Schaudinn asigna al *spirochætes pallida* los caracteres morfológicos siguientes: la longitud oscila entre 4 á 10 micron, el término medio es 7, próximamente el diámetro de un hematie, siendo menor su longitud que la de los demás *spirochætes* conocidos (Obermeier, Sackaroff, Ziemman y denticola), el espesor es á veces inmedible, llegando en los más gruesos de 0,4 á 0,5 de micron, el número de vueltas de espira oscila entre 3 y 12, su movimiento es el característico de la especie *spirochæte*, rotación alrededor de su eje longitudinal, propulsión y retropulsión é inflexión de toda la célula, indica que á veces se puede percibir el indicio de la existencia de una membrana ondulante, sus extremidades son afiladas, no se comprueba la existencia de flagelos y en razón de la pequeñez de estos organismos es muy difícil de determinar su estructura delicada, sobre todo la del núcleo. Pueden vivir en los jugos sífilíticos añadidos de la solución normal de CINA conservando su movilidad hasta seis horas en algunos casos.

En contacto con la glicerina, unos *spirochætes*, quedan inmóviles á los cinco ó diez minutos, mientras en otros persiste el movimiento una y hasta dos horas, observándose en éstos contracturas, presentan las vueltas de espira en forma de tirabuzón y terminan éstas por desaparecer, otros se hacen rectos inmediatamente, las formas bacilares así determinadas se contraen poco á poco en sentido longitudinal y llegan á tomar un aspecto fusiforme que recuerda á los *sporozoitos de la malaria* en algún caso la contracción prosigue hasta determinar una forma oval de eje corto; formas semejantes, dice Schaudinn, han sido encontradas después de veinticuatro horas de actuar la glicerina y llama la atención todavía Schaudinn sobre qué formas semejantes han sido encontradas en las preparaciones de jugo de tejido sífilítico al lado de los *spirochætes* típicos; Schaudinn se pregunta si se tratará de estados de reposo.

Entre los casos observados por Schaudinn, resultan los siguientes

Casos de sífilis pura.

Núm. 1. Pápula en una sífilis no complicada de dos meses y medio de evolución, un *spirochæte* por un cuarto de campo.

Núm. 2. Pápula, sífilis de tres meses y medio, pequeño número de *spirochætes* pálida.

Núm. 3. Pápula, sífilis pura no tratada, de tres meses y medio, numerosos *spirochætes* pálida.

Núm. 4. Pápula, sífilis de cuatro meses, sin tratar, numerosos *spirochætes* pálida, muchos en cada campo.

Núm. 5. Chancro y bubón inguinal extirpados, sífilis de siete á ocho semanas, sin fenómenos generales.

A este caso le da mucha importancia, fueron extirpados por Hoffmann en 1901, los cortes y los preparados sobre cubres fueron coloreados en dicha fecha por Hoffmann con los métodos conocidos hasta entonces sin encontrar microorganismos de ninguna especie, en vista de investigaciones de contrapruebas posibles en materiales libres de toda infección, conservaba fragmentos, no sólo los tejidos incluidos en parafina, sino cubres en gran número impregnados con jugo de las partes centrales del bubón y de la mitad inferior del chancro; estas laminillas fueron entregadas á Schaudinn, el cual comprobó numerosos spirochætes en dichas preparaciones.

De este número y del 4 son las fotografías que acompañan la Memoria de Schaudinn.

Núm. 6. Extirpación de dos chancros y jugo ganglionar tomado con jeringa de Pravaz, sífilis de cinco semanas y media; los preparados de chancro tienen spirochætes escasos, en el jugo ganglionar no se encontraron.

Núm. 7. Serosidad de pápula anal, sífilis de seis meses, los preparados frescos demuestran pocos spirochætes, los preparados con color numerosos spirochætes pálida.

Casos de sífilis complicada con otras lesiones.

Núm. 1. Serosidad de chancro, sífilis de siete semanas complicada con balanitis, preparaciones frescas y coloreadas, numerosos spirochætes de los dos tipos pálidos y refringens.

Núm. 2. Chancro sífilítico sobre chancro venéreo, se extirpa el sífilítico cuando estaba el venéreo curado, todos los preparados teñidos contienen bastantes spirochætes pálida.

Núm. 3. Pápula, sífilis recidiva con blenorragia, condiloma acuminado y moluscum contagiosum, las preparaciones mostraron gran número de bacterias y sólo algunos spirochætes de los dos tipos, pálida y refringens.

Núm. 4. Pápula y bubón, sífilis de cuatro meses complicada con condiloma acuminado, los preparados de la pápula contienen gran número de spirochætes refringens y muy pocos pálidos, en cambio, los preparados de jugo ganglionar, presentan escasos spirochætes pálido y ninguno refringens.

Núm. 5. Exudado vaginal, hubo lesiones sífilíticas de fecha muy an-



terior, cefaleas á fines de 1904, erupción en Enero de 1905, en Febrero se comprueba una erupción de pápulas en los órganos genitales y escleroadenitis, los preparados no contienen spirochætes de ninguna clase.

Casos de enfermos no específicos.

Núm. 1. Papilomas, blenorragia y condiloma acuminado, los preparados demuestran numerosos spirochætes refringens.

También ha examinado chancros blandos, sin spirochætes; exudado vaginal en tres mujeres con blenorragia, no hay spirochætes, secreción de la mucosa genital en tres sujetos curados de sífilis, no hay spirochætes, esmegma y secreción vaginal en seis individuos sanos, no hay spirochætes.

También en otra serie de trabajos, en la investigación de la existencia, en el jugo ganglionar de spirochætes citan los casos siguientes:

- 1.º Sífilis de siete á ocho semanas sin fenómenos generales, sin tratar, contiene numerosos spirochætes.
- 2.º Sífilis de cuatro meses, sin tratamiento, escasos spirochætes, y miden 7 micron de longitud, teniendo 8 á 10 vueltas de espira.
- 3.º Sífilis no complicada de cinco semanas y media, tres spirochætes en una preparación. Estos tres casos corresponden á los números 8, 6 y 11 anteriormente citados.
- 4.º Sífilis de cuatro semanas y media, complicada de fimosis y balanitis, numerosos spirochætes.
- 5.º Sífilis no complicada de seis semanas y media, 20 spirochætes en la preparación, 12 micron de largo y 12 á 14 vueltas de espira.
- 6.º Sífilis de cinco semanas y media, no tratada, 10 á 15 spirochætes pálida, 8 á 10 micron de longitud por 8 á 12 vueltas de espira.
- 7.º Sífilis de tres meses y medio, en cada preparado dos spirochætes.
- 8.º Sífilis de cuatro semanas y media, sin tratamiento, pequeño número de spirochætes pálida, cuatro á cinco por preparado.

Dice Schaudinn, la investigación de estos organismos es tan fatigosa, que es imposible prolongar el examen microscópico más de cuatro ó cinco horas por día.

Concluye de sus observaciones, que está lejos de la pretensión de conceder un valor etiológico á estos spirochætes, aunque en los casos bien examinados halla llegado á encontrar de una manera regular, tanto en el jugo de los ganglios como en otros productos, la existencia de spirochætes pálida, que parece diferir absolutamente de todos los spirochætes conocidos, sólo señala estas comprobaciones hechas dejando para investigaciones posteriores la solución de papel etiológico.

Metchnikoff, en una comunicación hecha á la Academia de Medicina en sesión de 16 de Mayo, hace un resumen de esta cuestión señalando los hechos de observación anteriores, como aquellos de Donne en 1897, de la afirmación de que los spirilos debían ser considerados como la verdadera causa de la sífilis, así también las observaciones de spirilos encontrados en las mucosas de los órganos genitales, como los señalados por Alvarez y Tavel en el esmegma; por Berdal y Bataille, en la balano postiti-erósiva; por Rona, en las lesiones gangrenosas de los órganos genitales, así como también los trabajos de Bordet y Gengou, que, coloreando productos sifilíticos con el azul de metileno de Kühne y después con el violeta de genciana fénico de Nicolle, encuentra en el chancro gran número de spirilos muy finos en tirabuzón y apenas coloreados, sin que se hallen acompañados de otros microbios. Pero que no habiendo estos observadores vuelto en otros casos á encontrarles, desistieron de aquellas investigaciones. Después, entrando en el fondo de la comunicación, afirma haber comprobado en los monos que tiene en experimentación en el Instituto Pasteur, en accidentes primarios en un *Macacus Cynomolgus*, en un *Cynocephalus Sphynx*, un *Chimpancé* y un *Papion* en distintas lesiones de sífilis experimental; la existencia de spirilos pálida en lesiones de la piel lejos de las mucosas, y, por tanto, no confundibles con los spirilos que se encuentran en éstas. Esta comprobación, en seis casos estudiados, sólo se confirmó en cuatro: un *Chimpancé*, un *Papion* y dos *Macacus* la ausencia de epirochætes en otro *Chimpancé* y un macaco, la explica por que el primero estaba en plena curación y en el segundo porque, dada la desigual y caprichosa distribución de los spirochætes en las lesiones sifilíticas, no hubiese efectuado suficiente número de exámenes para comprobarlos.

Los métodos técnicos empleados son los mismos, el de Giemsa y el de Marino.

Indica que esta investigación del spirochæte pálida fuese un método útil de diagnóstico. Que por la dificultad de cultivo, como pasa en todos los spirochætes, será preciso un gran número de observaciones y de hechos antes de concluir de un modo definitivo asignarle papel etiológico; pero que el conjunto de los hechos hasta hoy conocidos parece hablar en favor de la tesis de que la sífilis fuese una spirilosis crónica, determinada por el spirochæte pallida de Schaudinn.

Buschke y W. Fischer del hospital Ausurban, de Berlín, dan cuenta en el *Deutsche med Woch* del 18 de Mayo del presente año de sus investigaciones sobre la presencia de los spirochætes en los órganos internos de los niños sifilíticos. En un niño, heredo-sifilítico, de diez semanas,

que tenía en el cuerpo, sobre todo en los brazos y las piernas numerosas pápulas entró el 4 de Mayo en el hospital y murió el 6; se llevó á la cámara frigorífica, donde estuvo treinta y seis horas antes de efectuarse la autopsia.

El examen macroscópico de las vísceras denunció la induración del bazo, lesiones de nefritis hemorrágica, hígado icterico con hepatitis intersticial difusa, hicieron preparados con los jugos de diferentes órganos y de un ganglio linfático, empleando para la coloración el método de Giemsa. En los preparados de bazo é hígado se encontraron spirochætes en bastante proporción, con exclusión de otras bacterias, los spirochætes eran más numerosos en los preparados del bazo, dos á seis por campo, menos en los de hígado y en los de jugo ganglionar y en los de las pápulas no se llegaron á encontrar; los mismos autores en 25 de Mayo, indican haber encontrado quince spirochætes en una preparación de sangre tomada en vida del mismo niño.

C. Levaditi también presenta dos observaciones donde él ha comprobado la presencia del spirochætes, empleando el método de Giemsa. El primer caso, un niño de padre sífilítico, nacido con penfigo en las palmas de las manos y en las plantas de los pies, tomó líquido y productos del raspado de la ulceración; la observación microscópica demostraba que el líquido era pobre en spirochætes y los productos del raspado los contenía en bastante proporción. En el segundo caso se trataba de un niño de dos meses, de madre sífilítica, que murió con accidentes cutáneos típicos la autopsia mostró el hígado de un color amarillo claro y el bazo hipertrofiado; examinados los preparados microscópicos hechos con los jugos de los órganos, acusaron spirochætes más numerosos en el hígado, después en el bazo y últimamente en el pulmón; el autor dice que pudiera interpretarse este hecho como índice de la infección del feto por la vía placentaria.

Paúl Salmon en un recién nacido con penfigo, en el raspado de la ulceración, encuentra también spirochætes abundantes á exclusión de otras bacterias; en la sangre y en el mucus nasal no encontró nada.

Nosotros hemos verificado distintas observaciones en enfermos de la clínica del doctor Bombín, del hospital de San Juan de Dios, y de la Policlínica del doctor Pardo Regidor, que son los siguientes:

Sala 1.^a

a) Ulcera sífilítica en el surco, infartos, sífilide papulosa generalizada se tomaron preparaciones del jugo de la úlcera sífilítica y de los infartos.

b) Chancros sífilíticos con linfítis del miembro; se tomaron del exudado varios preparados, se operó recogiendo el chancro con parte del anillo prepucial, se tomaron preparados del exudado de la parte inferior del chancro, y de este chancro se hacen preparaciones histológicas.

c) Placas mucosas ulceradas de la lengua y boca; se hicieron preparados de su jugo.

d) Chancro sífilítico de treinta y cinco días, infarto ganglionar se toma preparados del chancro y jugo de los ganglios por aspiración con eringilla, con lo que se hacen preparados.

Sala 2.^a

e) Sífilide ulcerosa de la cabeza, dos años de afección; se hicieron preparados del exudado.

f) Sífilis secundaria, placas y sífilide ganglio-inguinal derecho infartado; se toma jugo del ganglio, con el cual se hacen preparados, así como del exudado de las placas.

Sala de distinguidos.

g) Chancro sífilítico del surco y piel del miembro; se hacen preparados del jugo del chancro.

Nota. Todos estos enfermos estaban ya en tratamiento.

Policlínica del Dr. Pardo Regidor.

h) Placas de la boca y garganta; se hacen preparados.

i) Chancro sífilítico en vía de curación; se hacen preparados con el jugo obtenido por compresión.

En todas estas observaciones hemos empleado los métodos antiguo y nuevo de Giemsa y el método de Marino, no habiendo encontrado nosotros en ninguna de las múltiples preparaciones el spirochæte pálido, únicamente en las placas bucales, hemos visto los spirochætes bucales, que son comunes en las lesiones de dicha mucosa.

En trabajos anteriores, que datan de 1885, en exámenes sobre productos de condilomas, hemos encontrado spirochætes, pero cuyos caracteres morfológicos no coinciden con las descripciones hechas por Schaudinn, indudablemente semejante a los descritos por Csillag en las balanopostitis, y por S. Rona en las gangrenas y procesos de necrosis, esmegmas y serosidad de los chancros.

Nosotros continuamos estos estudios y daremos cuenta del resultado que obtengamos de nuestras nuevas observaciones.

**Sobre la presencia de spirochætes en los productos sifilíticos
y en los papilomas.**

Fritz Schaudinn Erich Hoffmann: *Arbeiten aus dens Kaiserlichen gerundheitsamte*, 1905, Bd. 22, núm. 2.

— *Deustschemedic Woch*, 1905, núm. 18.

— *Deustschemedic Woch*, 1905, 4.º ensayo, página 711.

Alvarez y Tavel: *Archives de Physiologie*, 1885.

Berdal y Bataille: *Medicine moderne*, 1891, página 400.

S. Rona: *Arch. f. dermat. med. syph.* Bd. 67 (1903).

Csillag: *Spirillen bei Balano postitis Arch. f. dermat. und syph.* Bd. 46 (1898).

Metchnikoff y Roux: *Recherches microbiologiques sur la syphilis.*
(*Academie de Medicine de Paris, seance du 16 mai 1905.*)

A. Buschke y W. Fischer: *Ueber das Vorkommen von spiro chäten in inneren organen einen syphilitischen Kindes Deutsche med. Wach*, 18 mai 1905 y 25 mai.

C. Levaditi: *Syphilis congenital et Spirochaete pallida Schaudinn.*

C. R. Soc: *Biologie*, t. LVIII, 20 mai, 1905, pp. 845-847.

Paul Salmou: *Sur la presence du Spirochaete pallida chez un eufent syphilitique hereditaire.*

C. R. Soc: *Biologie*, t. LVIII, 27 mai 1905, pp. 883-884.

Sección de Análisis y Estadística.

ESTADISTICA

de los animales sometidos á tratamiento antirrábico en el Instituto
de Alfonso XIII durante el año de 1904

Por J. HIDALGO

Con una nota de F. Murillo.

Durante el año de 1904 hemos sometido á tratamiento antirrábico 15 perros, 2 caballos, una yegua y 2 mulas, que forman el total de animales detallados en el adjunto

RESUMEN ESTADISTICO

CLASE DE ANIMALES		MORDIDOS por animales sospechosos cuyo diagnóstico fué confirmado.	MORDIDOS por animales sospechosos cuyo diagnóstico no fué confirmado.	MUERTOS durante el tratamiento	MUERTOS después del tratamiento.	Resultados satis- factorios.	Resulta- dos negativos.
Perros.....	15	5	10	1	2	13	2
Solípedos.	5	3	2	0	0	5	0

He aquí ahora el historial resumido de cada caso:

1. 12 de Febrero.—Perra mixta *pointer-seter*, propiedad de D. Tomás Algibe, habitante en la calle de San Bernardo, 88, Madrid, fué mordida por un perro sospechoso. Sin novedad.

2. 23 de Febrero.—Mula castaña, llamada *Princesa*, propiedad de don Juan Antonio López, habitante en Torre de Esteban Hambrán (Toledo), mordida por un perro cuya cabeza remitieron á este Instituto, y tanto el análisis histológico como el biológico, dieron resultados positivos.

Resultado satisfactorio.

3. *23 de Febrero*.—Mula castaña, *Jardinera*, propiedad del mismo señor y mordida por el mismo perro.

Resultado satisfactorio.

4. *12 de Marzo*.—Perro *fox-terrier*, propiedad de D. Santiago de Prada, habitante en la calle de San Bernardo, Madrid, mordido por otro perro sospechoso.

Resultado satisfactorio.

5. *23 de Marzo*.—Caballo negro, peceño, propiedad de D. Gregorio López habitante en Villa de Mombeltrán (Avila), mordido en la pierna y mano derecha por un perro sospechoso.

Resultado satisfactorio.

6. *23 de Marzo*.—Yegua torda, propiedad de D. Andrés Gómez, habitante en Villa de Mombeltrán (Avila), mordida en el labio anterior por el mismo perro.

Resultado satisfactorio.

7. *19 de Abril*.—Perro mastín, propiedad del señor marqués de Cruilles, Vivió en común con otro perro que murió de rabia.

Resultado satisfactorio.

8. *10 de Mayo*.—Perro propiedad de D. Manuel Hermoso, mordido por otro sospechoso, en el cuello y cara. Murió á los veinticinco días de presentado en este Instituto.

Resultado negativo.

9. *29 de Mayo*.—Perro común, propiedad de D. Emilio Gutiérrez, habitante en Pozuelo, fué mordido por otro sospechoso.

Resultado satisfactorio.

10. *18 de Junio*.—Perro propiedad del señor marqués de Castro Serna, habitante en la calle Mayor, 99, Madrid. Fué mordido por otro que murió rabioso.

Resultado satisfactorio.

11. *18 de Junio*.—Perra de lanas, propiedad de D. Rogelio Deleitol habitante en la calle Mayor, 99. Fué mordida por el mismo perro que el anterior.

Resultado satisfactorio.

12. *18 de Junio*.—Perro propiedad de D. Félix Zuazo. Fué mordido por otro sospechoso.

Resultado satisfactorio.

13. *18 de Julio*.—Perra *fox-terrier* propiedad del portero de este Instituto, D. Santiago Casado. Se hacen las inyecciones como medida preventiva.

Resultado satisfactorio.

14. *12 de Julio*.—Perra propiedad de D. Bernardino Franco Alonso, mordida en una pierna por un perro sospechoso de rabia.

Resultado satisfactorio.

15. *12 de Julio*.—Perra propiedad de D. Bernardino Franco Alonso. Fué mordida por el mismo perro en el labio inferior.

Esta perra murió á los quince días después del tratamiento.

Resultado negativo.

16. *16 de Julio*.—Caballo castaño propiedad de D. Gregorio Ruiz, de Talavera. Fué mordido por un perro rabioso; se comprobó la rabia por el análisis histológico y biológico.

Resultado satisfactorio.

17. *26 de Agosto*.—Perrita inglesa propiedad de D. Baldomero Ventura. Fué mordida por un perro sospechoso, en la cabeza y cara, el día 9 de Agosto.

Se notó al día siguiente de comenzar el tratamiento algún síntoma que indicaba estar atacada de la enfermedad, por cuya razón fué suspendido.

Los síntomas se acenturaron, muriendo el 31 de Agosto.

Murió sin tratamiento.

18. *12 de Octubre*.—Perro de San Bernardo, propiedad de D. Javier G. Longoria. Fué mordido por otro perro, que se comprobó la rabia por el análisis histológico y biológico.

Resultado satisfactorio.

19. *15 de Diciembre*.—Perro *fox-terrier*, *Chaval*, propiedad de D. Julio Castanedo, habitante en la calle de Alcalá, 61, Madrid, mordido por otro que se comprobó la rabia por ambos análisis en este Instituto.

Resultado satisfactorio.

20. *15 de Diciembre*.—Perro *fox-terrier*, *Titi*, propiedad de D. Julio Castanedo. Fué mordido por el mismo perro que el anterior.

Resultado satisfactorio.

Estos resultados se refieren á un período mínimo de tres meses después de la última inyección.

Nota al trabajo precedente.

Numerosos son los estudios que en distintos laboratorios se vienen realizando con el fin de lograr una inmunización duradera contra la rabia en varias especies animales, y no faltan tampoco tentativas para establecer la misma inmunidad en animales de gran talla mordidos por otros rabiosos. Tales estudios y tentativas no han pasado todavía del terreno científico; los autores no se aventuran á implantar la vacunación sistemática de los perros sanos, ni tampoco quieren comprometerse en el tratamiento antirrábico de los animales, principalmente rumiantes, mordidos por otros sospechosos de hidrofobia.

Y no cabe duda que en el estado actual de la ciencia, la única manera de desterrar la rabia sería la vacunación obligatoria de los perros, como tampoco podrá negarse que es de importancia el tratamiento de los solípedos y rumiantes mordidos por animales sospechosos. El valor material de los mismos, muchas veces atacados por lobos y canes rabiosos, justifica el intento de hacer algo en esta dirección, prescindiendo ahora de la idea de Sime (1), que considera á los rumiantes como los exaltadores (*intensifiers*), y, por tanto, mantenedores del virus rábico en la Naturaleza.

Apenas, pues, tuvimos conocimiento del ensayo practicado por Högyes en una yeguada compuesta de 47 potros—de los cuales murieron tres rabiosos antes de comenzar el tratamiento, y siete presentaban mordeduras más ó menos extensas—decidí ensayar en nuestro Instituto un método de inooulaciones anti-rábicas aplicable, con algunas variantes, tanto á los perros como á los animales de gran talla. El método para estos últimos es más rápido que el imaginado por el autor húngaro, el cual, entre pausas y ciclos activos, tarda catorce días en la vacunación. Nosotros suprimimos las pausas y damos seis inyecciones en seis días seguidos, moderando las dosis propuestas por Högyes, sobre todo la final, que es al 1 por 50 en vez de ser al 1 por 10.

Para la vacunación de perros hemos hecho un cálculo prudencial deducido de propias y ajenas experiencias. En cinco días propinamos cinco inyecciones, empezando con la solución al 1 por 2.000 y terminando con la emulsión al 1 por 100.

Iremos dando cuenta sucesiva de los resultados que obtengamos, y cuando el número de casos lo permita, deduciremos las consecuencias pertinentes.

(1) D. Sime. Rabies: its place among germ-diseases etc. Cambridge, 1903.

(2) P. Kurth u. A. Anjesaki. —Massenhafte Schutzimpfung von Füllen gegen Tollwut. —Centrf. f. Bakt. & T. XXXI.

Nueva adulteración del pimentón,

por R. de la PUERTA.

El pimentón es un producto que parece estar condenado á perpetua adulteración.

Hoy ya no se mezcla con harina de maíz, cáscara de almendra, moyuelo, tierras, etc., ni tampoco con aceite (aunque para mí nunca fué adulteración la mezcla de pimentón y aceite). La adulteración que está á la orden del día en los sitios de producción y especialmente en Murcia, es el *agua*.

A primera vista, parece que esto tiene poca importancia, pero la tiene bastante, y va tomando tales proporciones la adición de agua al pimentón, que, si continúa, fácilmente pudiera surgir otra cuestión análoga á la que motivó el aceite.

Desde el Real decreto prohibiendo la mezcla, no se agrega aceite al pimentón; pero, en cambio, algunos fabricantes lo han substituído por agua, que exalta el color, y claro está que hace aumentar el peso del producto.

Mirado desde el punto de vista económico y moral, lo mismo que considerado en su aspecto higiénico, se debe proscribir esta nueva mezcla. Por sí sola, constituye un fraude, más los perjuicios que puede ocasionar á la salud pública por las alteraciones á que está sujeto el pimentón que tenga un exceso de humedad, pues en ciertas condiciones, y según la estación, puede producirse una fermentación é inutilizarse, como creo ha sucedido con algunas partidas de pimentón, que se encontraba enmohecido y en principio de descomposición.

Y menos mal si el líquido que se emplee reúne buenas condiciones, cosa que no sucederá siempre, en cuyo caso se corre el riesgo de que proceda de río, pozo, charca ó sitio en que las aguas sean impuras ó estén contaminadas.

Véase, pues, si merece la pena de ocuparse de esta nueva adulteración, que se va generalizando, como he tenido ocasión de observar en varios análisis que he practicado recientemente.

La investigación y determinación del agua en el pimentón, es cosa sencilla, y de ello vamos á tratar, no sólo por ser de importancia en la

actualidad, sino también porque, según me han referido, parece que se ha encontrado alguna dificultad para apreciarla y asegurar si la cantidad de agua podía considerarse como añadida ó propia del fruto, cosa que no es de extrañar si se tiene en cuenta que hasta aquí no había un análisis completo del pimentón, y, por tanto, se desconocían las cifras medias normales de sus principios inmediatos.

Por fortuna para los que nos ocupamos de esta clase de trabajos, se dispone hoy de una base para realizarlos con mayor acierto, pues recientemente se ha publicado en la *Revista de la Real Academia de Ciencias*, un extenso artículo titulado «Análisis del pimiento molido de Murcia», por D. Gabriel de la Puerta, donde se consignan interesantes datos obtenidos después de muchas investigaciones de laboratorio, y un análisis completo, según el cual contiene el pimentón 8,5 por 100 de agua.

Para determinarla, bastará pesar cinco gramos de pimentón y desecarlos en la estufa á 95° hasta que dos pesadas consecutivas no den diferencia alguna. La pérdida de peso nos representará el agua, y sabiendo que el pimentón puro pierde 8,5 por 100 como término medio, según queda dicho, será fácil conocer si la cantidad de agua es suya ó añadida.

En Murcia algunos industriales se valen de un medio sumamente ingenioso y que parece les da buen resultado, para descubrir la mezcla con agua. Consiste en hacer pasar el pimentón por un pequeño cedazo; si es puro atraviesa todo con facilidad, mientras que si tiene agua, quedan unas pequeñas masas de forma redondeada. He realizado este ensayo con varias muestras de pimentones, que dejaban bastante cantidad sin pasar por el cedazo como señal de contener agua, lo que comprobé por desecación en la estufa, obteniendo una pérdida de 12,14 y hasta 16 por 100 que representaba el agua total y corta cantidad de principio oloroso volátil.

Por estos sencillos procedimientos quedará evidenciada la nueva mezcla, que, para bien de todos, convendría no alcanzara mayores proporciones, lo cual no es difícil conseguir, á poco que hagan las autoridades, y en honor de las de Murcia debemos decir, que el gobernador dictó no hace mucho una circular, cuya lectura nos ha movido principalmente á escribir estas líneas.

Mucho se ha tardado en tener datos científicos sobre el pimentón, á pesar de ser un producto español; y no podrán quejarse los que á estas investigaciones se dedican, pues cada día ofrece el pimiento molido un nuevo tema de estudio para químicos é higienistas, que, al fin, son los que han de velar por su pureza, con tanto cariño como los propios hijos de Murcia.