

**JORGE CALDERON C.**

**OSWALDO E. CHAVES C.**

**"ACCION DE LA CORTISONA, HIALURONIDASA, TUBERCULINA Y B. C. G. EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION INOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS"**

**C O N T E N I D O**

**CAPITULO PRIMERO**

**DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO EN LA TUBERCULOSIS**

- a) Recuento de los métodos de diagnóstico bacteriológico en la tuberculosis.
- b) Valoración y crítica de cada uno de los métodos enunciados.

**CAPITULO SEGUNDO**

**ACCION DE LA CORTISONA, HIALURONIDASA, TUBERCULINA y B. C. G.**

- a) Cortisona.
- b) Hialuronidasa.
- c) Tuberculina.
- d) B. C. G.

**CAPITULO TERCERO**

- a) Fundamentos para las experiencias realizadas.
- b) Métodos y materiales empleados.
- c) Casuística.

**CAPITULO CUARTO**

- a) Discusión de la casuística.
- b) Conclusiones.

**CAPITULO QUINTO**

- a) Bibliografía

**Director de Tesis:**

**Dr. ALFONSO DE LA TORRE V.**

## INTRODUCCION

La Medicina, árduo problema de estudio e investigación, que en la actualidad sigue siendo uno de los campos menos conocidos y apasionantes de la ciencia, es motivo de grandes discusiones y controversias, de fructíferas investigaciones y análisis.

Un afán de contribuir con alguna pequeña luz en la experimentación de las Ciencias Médicas; y no el simple deseo de cumplir con una disposición reglamentaria, nos ha conducido a iniciar este trabajo de proporciones y resultados reducidos, por la estrechez de medios disponibles, así como por la falta de entrenamiento en investigaciones científicas, pero que sin embargo creemos despertará nuevas inquietudes de estudio y experimentación sobre un problema de tanta importancia como la TUBERCULOSIS, enfermedad por desgracia muy extendida en todo el mundo y, en particular, en nuestro país, ya que se trata de una entidad patológica propia del pueblo miserable, de las clases desposeídas y explotadas.

Estamos convencidos que resultados obtenidos con tan pequeño número de casos experimentales, no pueden ser aceptados como concluyentes ni definitivos, muchos de ellos serán seriamente objetados y quizá otros serán aceptados y confirmados, lo cual constituirá la mejor recompensa a nuestro trabajo.

Se ha realizado un estudio de la cortisona y su acción en la tuberculosis experimental, hormona cuya farmacodinamia hasta el momento actual no es perfectamente conocida y sobre la que aún se realizan grandes discusiones respecto de su aplicación terapéutica, especialmente en lo que a enfermos tuberculosos se refiere, razón por la cual quienes simultáneamen-

te padecen de esta enfermedad bacilar y de cualquier otro trastorno patológico susceptible de beneficiarse con el empleo de la cortisona tienen la contraindicación absoluta de su empleo. Nuestras experiencias están encaminadas a investigar la posibilidad de emplear tan valioso recurso de la Terapéutica en enfermos tuberculosos.

Simultáneamente se han realizado estudios con otras sustancias, como la HIALURONIDASA, enzima de la que tampoco se tiene conocimientos definitivos de su acción sobre la infección tuberculosa y que ahora tratamos de utilizar con fines diagnósticos. La TUBERCULINA y el BCG, de acción mejor estudiada y más conocida que las anteriores, que no obstante se han empleado en estas experiencias con una nueva finalidad, cual es la de acortar el tiempo de inoculaciones diagnósticas en cobayos con tuberculosis experimental.

Al presentar este trabajo, lo hacemos guiados por el afán de servir mejor a la humanidad y demostrar que nuestro paso por las nobles aulas universitarias impregnó en nosotros el espíritu de estudio e investigación que debe caracterizar a todo hombre que ha ingresado en la fecunda causa de la MEDICINA.

## **INVESTIGACION BACTERIOLOGICA DE LA TUBERCULOSIS**

**RECUESTO HISTORICO.**—La tuberculosis es una enfermedad tan antigua como la sociedad misma, pues las primeras referencias de su presencia en el hombre, datan de los hallazgos de lesiones que descubrió Ruffer en momias egipcias. Esta entidad patológica, en forma endémica, la encontramos distribuída en todo el mundo, constituyendo un verdadero problema social.

Sobre la etiología de esta enfermedad, se emitieron las más extrañas teorías, debiéndose a Klenke en 1843 y a Villemin, en 1865, las primeras afirmaciones de que se trataba de una enfermedad infecciosa y por lo tanto contagiosa. Realizan asimismo la primera prueba experimental de esta teoría mediante la inoculación de material tuberculoso en diferentes animales, especialmente en el conejo.

Sin embargo, es solamente a partir del 24 de Marzo de

1882, en que se conoce el agente productor de la tuberculosis, cuando el eminente sabio alemán Roberto Koch comunica a la Sociedad de Fisiología de Berlín su célebre descubrimiento del bacilo productor de la enfermedad; informe que fue ampliado el 1º de abril del mismo año en que mostró los caracteres tintoriales, morfológicos y culturales de este bacilo, el que desde entonces es conocido comúnmente como bacilo de KOCH.

A partir de estos trascendentales descubrimientos son muchos los científicos que se dedicaron al estudio de este microbio "tan interesante por su patogenicidad"; así lo explican los notables adelantos que se constatan a través del tiempo, tanto en los métodos para aislarlo, cultivarlo, como en los estudios realizados de su acción patógena.

El primitivo método de tinción de este bacilo, se lo debe a KOCH, el mismo que fue muy pronto perfeccionado por EHR- LICH (1882). Este autor fue quien descubrió la propiedad del bacilo de no dejarse decolorar por los ácidos minerales una vez que había tomado el colorante violeta de genciana. Este método fue aceptado por KOCH y se lo mantiene hasta la actualidad como el método básico de tinción, tan sólo con pequeñas modificaciones que fueran introducidas más tarde por NIELSEN. El primero adoptó el ácido fénico en lugar del aceite de anilina (lo que por cierto Ehrlich ya lo había anotado). Nielsen, en cambio usó la fucsina fenicada en lugar del violeta de genciana fenicada y el ácido sulfúrico en vez del ácido nítrico.

Igualmente es KOCH el primero en cultivar este bacilo, para lo cual obtuvo un medio sólido, mediante la coagulación del suero de ternera o de oveja, previamente esterilizado por calentamiento a 58 grados C y luego coagulado a 65 grados C.

Posteriormente ROUX y NOGAR consiguen mejorar las técnicas del cultivo y aislamiento mediante la acción favorecedora de la glicerina (1887) PAWLOWSKY, en 1888 contribuye a la técnica del cultivo con la introducción de la patata glicerinada y simultáneamente a él preconizan este método KROMPECHER Y SIMMERMAN, SANDER Y LAVANDOUWSKY ARLOING y GOURMONTEN en 1898 introducen la técnica de agitar el recipiente (en donde se mantiene el cultivo), con el fin de obtener nuevo crecimiento de bacilos en la superficie. Dorset en 1902 usa el huevo de gallina como medio de cultivo, el mismo que lleva su nombre. Desde entonces, son múltiples los

medios de cultivo, tanto sólidos como líquidos que se han empleado. Entre los principales tenemos el introducido por Calmete y Guérin en 1908 conocido como patata biliada y que no es sino la patata glicerizada adicionada con bilis de buey. El medio líquido de huevo alcalinizado fue descubierto en 1913 por Besredka y Jupille.

En 1915 Petroff de Saranak, al añadir violeta de genciana a un medio de huevo, consigue impedir o retardar el crecimiento de bacterias de contaminación, facilitando por tanto el desarrollo del bacilo de KOCH, que hasta ese entonces se hacía muy lentamente. Posteriormente, con ese mismo objeto se aconsejan otros colorantes, entre los cuales parece haberse preferido el verde malaquita.

A base de la técnica expuesta por Petroff, se obtiene más tarde dos valiosos medios de cultivo sólidos, el de Petraghiani en 1923 y el de Lowenstein, modificado luego por Jensen y Holm, medio de elección este último para aislar el *mycobacterium tuberculosis*. En la actualidad y como la última novedad en medios de cultivo, podemos señalar los medios líquidos y sólidos de Dubos.

**MATERIAL A SER EXAMINADO.—PROCEDENCIA.**—El diagnóstico bacteriológico de la Tb., se funda en la investigación e identificación del agente etiológico y en la realización de ciertas pruebas biológicas. Para identificar al *myco bacterium tuberculosis*, es necesario que éste se elimine al exterior con cualquier material de deshecho, o en otros casos buscarlo en el foco mismo de infección. Así podemos encontrar el bacilo eliminándose por el esputo, orina, heces, supuraciones, etc., dependiendo esto de la localización de la tuberculosis. En caso de no encontrarse el bacilo de Koch en estos productos, podemos atribuir su no hallazgo a las siguientes causas:

- 1) Eliminación del *myco-bacterium tuberculosis* en pequeña cantidad y falta consiguiente de un eficiente método de investigación.
- 2) No eliminación del *myco-bacterium tuberculosis*, lo cual puede deberse:
  - a) El *myco-bacterium tuberculosis* se encuentra encapsulado dentro del foco (tuberculosis inactiva).

- b) El foco tuberculoso carece de una vía natural de eliminación.

Considerando los casos en que falta eliminación del myco bacterium tuberculosis, indicamos que la primera causa puede descartarse mediante un prolijo estudio bacteriológico, con los medios más efectivos (cultivo o inoculación). La segunda probabilidad, será determinada por la evolución del caso y con la participación de todos los medios de investigación, siendo el laboratorio, el que en último término establezca la inactividad del proceso. Y por fin en aquellos casos en que falta la eliminación, nos encontramos frente a procesos tuberculosos abacilíferos, en los cuales tampoco puede prescindirse de la investigación bacteriológica, ya que si no es posible la identificación del myco-bacterium tuberculosis en los medios de eliminación, en muchos de estos casos tendremos que ir en su búsqueda al sitio mismo de la lesión.

En general el material que se utiliza para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis es de procedencia orgánica. Solamente con fines experimentales y sanitarios se examina el polvo de habitaciones en diferentes condiciones de luz; humedad, etc., o el agua de los desagües por ejemplo.

Entre los materiales orgánicos empleados para el diagnóstico bacteriológico, podemos hacer constar los siguientes: esputos, líquidos de lavado bronquial y gástrico; exudado laríngeo, pleural, peritoneal, articular, heces, orina, líquido céfalo raquídeo y líquidos de derrames de las serosas. Además es necesario hacer constar los materiales obtenidos por biopsias o provenientes de la necropsias.

### **MÉTODOS EMPLEADOS EN EL DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DE LA TUBERCULOSIS**

Los métodos empleados para la búsqueda del myco-bacterium tuberculosis son:

- a) Examen microscópico.
- b) Cultivo.
- c) Inoculación.

El examen microscópico comprende a su vez dos tipos:

- 1) Examen directo y
- 2) Examen por concentración.

Tanto en el uno como en el otro método, para ser examinados al microscopio, requieren previamente haber sido coloreados.

Con este objeto Koch hasta nuestros tiempos se han ideado innumerables métodos de tinción: el de Ziehl Nielsen, el de Much, el de Calmette, el de Gabett, el de Weiss, el de Cooper, el de Pappenheim, el de Baumgarten, el de Kinyoun, el de Hallberg, etc. El método más conocido entre todos estos es quizá el de Ziehl Nielsen, que utiliza como colorante básico la fucsina fenicada, como decolorantes el ácido nítrico y el alcohol absoluto y como recolorante el azul de metileno. Sin embargo no es este el método más empleado en los exámenes de rutina, sino un método originado en una pequeña modificación introducida al anterior.

Siendo el procedimiento el siguiente:

- 1) Tinción con fucsina fenicada durante tres minutos, con calentamiento hasta que emita vapores.
- 2) Lavado con agua corriente para arrastrar el exceso de colorante.
- 3) Decoloración con alcohol clorhídrico al 3% (HCl concentrado 3 cc., alcohol etílico absoluto 97 cc).
- 4) Lavado con agua corriente.
- 5) Recolección con solución de azul de metileno al 0,3%.

Desde 1938 se está utilizando también, para el examen microscópico la fluorescencia, método que se basa en el hecho de que los bacilos ácido-alcohol resistentes retienen un colorante especial, la auramina, la cual tiene la particularidad de conferir a estos bacilos la propiedad de la fluorescencia.

Haremos un somero recuento de cada uno de estos métodos, para luego analizar las ventajas y desventajas de cada uno de ellos:

**EXAMEN DIRECTO.**—Es el más simple de los métodos enunciados, consiste en la extensión de una partícula, de pre-

ferencia caseosa, mediante una aguja de platino esterilizada. Caso de no encontrarse en la muestra a examinar partículas caseosas, se hará la extensión con una de las porciones de aspecto más purulento. Es necesario hacer por lo menos dos placas, de preferencia más, las que deben ser delgadas y uniformes, evitando que tengan partes muy espesas o se encuentren desigualmente distribuidas. Existen dos métodos para preparar la placa: el uno consiste en tomar la partícula sospechosa y extenderla sobre el porta con el asa de platino, hasta obtener una extensión delgada en el medio de la placa. El otro procedimiento consiste en colocar la partícula a examinar sobre uno de los extremos del porta y comprimirla con otro porta hasta que se haya extendido en capa delgada, luego de lo que se deslizan los dos portas uno sobre el otro. Después de este tiempo se procede a fijar y colorear las placas por el método ya indicado, encontrándose en esta forma a los bacilos de Koch como pequeños bastoncitos de color rojo, rectos, aunque a veces se los encuentra curvados ligeramente, de aspecto homogéneo o vacualizados. Las demás bacterias y elementos celulares, se los encuentra teñidos de azul.

Para hacer el diagnóstico por este método, como ya dijimos, hay que examinar por lo menos dos preparaciones y cada una de ellas por el tiempo mínimo de cinco minutos. Debe ponerse especial cuidado en descartar todas las causas de error: rayaduras existentes en el vidrio, las que pueden retener colorante, siendo tomadas como bacilos ácido resistentes; decoloración incompleta; la solución colorante cuando ha sido utilizada muchas veces, puede contaminarse con bacilos ácido resistentes, los que asomarán en la placa que se está examinando; igualmente pueden contaminarse el agua utilizada para lavar los recipientes en que se recogió la muestra, etc.; puede igualmente encontrarse en la preparación fibras de madera, partículas diversas, las que pueden retener la fucsina y dar el aspecto de bacilos ácido resistentes; otra de las causas de error se debe a bacilos provenientes de una preparación positiva que se haya examinado. Debemos indicar que todas estas causas de error pueden evitarse mediante una cuidadosa recolección de la muestra y preparación de las placas, así como un prolijo estudio de las mismas.

**EXAMEN EN CONCENTRADO.**—Es el método utilizado en los casos de pequeña eliminación de myco-bacterium tuberculosis.

Para realizar este procedimiento hay que proceder a la homogenización del material a examinarse, homogenización que tiene por objeto permitir la sedimentación del myco-bacterium ejerciendo un poder fluidificante o lítico sobre el mucus que acompaña a la muestra, además libra al material de los gérmenes contaminantes. Existen numerosos métodos de homogenización: fluidificación y descontaminación, procediéndose luego a agrupar los bacilos mediante la centrifugación y como tercer tiempo hay que hacer cesar la acción de la sustancia homogenizante, ya que ésta, aunque en pequeña escala, también ataca al myco-bacterium tuberculosis.

La técnica más empleada es la que utiliza el hidroxido de sodio al 3-4%; y es la siguiente:

- 1) Se mezcla en un frasco partes iguales sosa al 3-4% con el esputo o cualquier otro material a examinarse. Para facilitar la mezcla se agita mecánicamente.
- 2) Colocar en la estufa a 37°C. por 30 minutos, agitando de cuando en cuando.
- 3) Centrifugar a una velocidad superior a 2.500 revoluciones por minuto durante cinco minutos.
- 4) Con el sedimento obtenido preparar las placas y colorarlas en la forma ya indicada.

**EXAMEN POR CULTIVO.**—Para realizar el cultivo de un material sospechoso de contener myco-bacterium tuberculosis, hay que proceder en síntesis a homogenizar dichos materiales, tratarlos con distintos antisépticos y antibióticos, tanto para destruir otras bacterias existentes, como para evitar la contaminación. Los métodos más empleados con este fin son los de Lowenstein y Petroff: se destruye el moco y homogeniza, utilizando ácido sulfúrico al 5% o sosa al 3%. Hay que anotar que estas sustancias pueden destruir unos cuantos bacilos, pero después de un corto período de exposición y luego de neutralizado, se puede hacer la siembra en terrenos apropiados con buen resultado. Se siembran estos preparados en terrenos que contengan antisépticos débiles como el verde malaquita, obte-

niéndose en esta forma colonias puras del agente patógeno en la primera siembra, después de la segunda semana de incubación a 37° C. Caso de emplearse antibióticos, la penicilina por ejemplo, se utilizará en una concentración de 50 a 100 unidades por cc. del homogenizado o del material original, después de una hora de exposición a 37°C. la pureza del cultivo está asegurada. No obstante Kirby y Dubos demostraron la sensibilidad del myco-bacterium tuberculosis a la penicilina, dosis muy altas a partir de 600 unidades por cc. pueden lisar y para pequeños inóculos, también son nocivas dosis pequeñas. Los franceses emplean con buenos resultados la aureomicina en concentración de 2,5 mgr. por cc.

Existen numerosos medios de cultivo para el myco-bacterium tuberculosis, siendo su valor variable. Los más utilizados son: los de Petraghani, el de Lowenstein, modificado por Holm, el de Lubenau, Petroff, Herrold, esto entre los medios sólidos. Los medios líquidos más frecuentemente empleados por asegurar cultivos más puros son el caldo de Besredka Wolters, el de Corper, el de Sauton, y, actualmente, ha cobrado gran importancia el medio de Dubos con Tween 80, su valor estriba en la facilidad para lograr una buena proliferación del bacilo partiendo de materiales muy poco concentrados y en un período menor de tiempo del que se puede obtener con los otros medios.

**EXAMEN POR INOCULACION.**—Es el método que en el diagnóstico de la tuberculosis, sin lugar a duda, mayor importancia tiene. Se fundamenta en la introducción de material bacilífero a un animal de experimentación, con el fin de producir la enfermedad en él, ya sea por razones diagnósticas o experimentales.

La inoculación puede realizarse en muchos animales, siendo el más utilizado entre nosotros el cobayo. Entre los animales que se utilizan con este objeto encontramos los siguientes: cobayo, conejo, ratón, ganado vacuno, monos, aves de corral, loros, perros etc. Cada uno de éstos tiene especial susceptibilidad para uno de los tipos del myco-bacterium tuberculosis, dependiendo de esto la razón para emplear uno u otro según las circunstancias. Entre los animales más susceptibles a la acción patógena del myco-bacterium tuberculosis hominis se encuentran el cobayo, el ratón, el mono y el conejo.

La vía de inoculación también es variable y depende preferentemente del animal usado para la experiencia y del objeto de la misma. Entre las principales vías de inoculación tenemos las siguientes:

- a) Subcutánea,
- b) Intravenosa,
- c) Intraperitoneal,
- d) Intraperitoneal,
- e) Intradérmica, y
- f) Respiratoria.

De éstas las más usadas son las tres primeras y, especialmente, la vía subcutánea, que generalmente se la practica en el cobayo. La intravenosa se utiliza de preferencia en el conejo (venas de la oreja), en el ratón (vena de la cola) y en las aves (vena del ala). La intraperitoneal y la intradérmica de preferencia se usan en el cobayo. La respiratoria es casi de uso exclusivamente experimental.

Ultimamente se está utilizando el saco vitelino del embrión de pollo para inoculación. Con este objeto se inocular el material sospechoso en el saco vitelino de huevos embrionados de seis a ocho días, manteniéndoselos en incubación a 37° C., luego son examinados al cuarto día para observar los resultados. A partir del cuarto día hasta el décimo se realiza diariamente la observación (por esta circunstancia se necesita seis huevos inoculados), declarándose negativo el material si hasta el décimo día no se identifica el myco-bacterium.

Para practicar la inoculación a más de escoger el animal y la vía se necesita conocer el material a inocularse y la dosis.

El material puede ser una muestra (esputo, orina, etc.) en que deseamos investigar la presencia del myco-bacterium o una suspensión de cultivo en la cual queremos determinar la acción patógena de una cepa o cualquier otra investigación biológica.

La dosis en el caso del material para diagnóstico no es posible determinarla por el número de bacilos, por lo tanto se referirá al volumen de la inyección que generalmente es de 0,5 cc. a 1 hasta 1,5 cc.

Cuando se trata de material de cultivo la dosis puede referirse al número de bacilos o a su peso.

El material a inocularse debe tratarse en la misma forma que para el cultivo (homogenización), teniendo especial cuidado de neutralizar totalmente la muestra antes de centrifugarla.

Los resultados se observan in vivo y por necropsia. En el primer caso nos valdremos de datos clínicos como temperatura, pérdida de peso y especialmente reacción a la tuberculina y aparición de induraciones ganglionares regionales, en el caso de inoculación subcutánea la reacción a la tuberculina se hace presente a partir de la segunda semana de realizada la inoculación. Los resultados por necropsia pueden ser observados corrientemente a partir de la sexta semana, encontrándose en los casos positivos una tuberculosis generalizada.

Además, cabe indicar que el animal muere por infección tuberculosa después del segundo o tercer mes y más raramente el sexto.

**INDICACIONES DE ESTOS METODOS.**—El examen directo se lo práctica corrientemente en todos los casos en que se sospecha la presencia de myco-bacterium tuberculosis como primer examen, especialmente en el esputo y exudados de lesiones en otros órganos, principalmente cuando estos exudados son en pequeña cantidad. Cabe indicar que en el lavado bronquial no se practicará este método de examen siendo preferible el método por concentración, inoculación o cultivo. Igualmente en los lavados gástricos pues es factible que se hagan confusiones con bacilos ácidos resistentes no patógenos existentes en el estómago.

El examen por concentrado se lo practicará en todos aquellos casos en que la muestra ha resultado negativa por el anterior método.

La indicación de los cultivos es la investigación de las diferentes cepas de myco-bacterium tuberculosis de que se trate y principalmente con fines diagnósticos, pues como ya lo hemos anotado, los dos métodos anteriores no tienen valor absoluto en el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis, pues dan lugar a muchas causas de error e igualmente confusión con bacilos ácido resistentes no patógenos, siendo pues indispensables para asegurar la presencia de myco-bacterium tuberculosis realizar el cultivo o la inoculación, mediante el cultivo y por los caracteres de las colonias obtenidas, tiempo de aparición de las

mismas, procesos de fermentación, etc., podemos afirmar en la mayoría de los casos si se trata o no de *myco bacterium tuberculosis* y el tipo de él, siendo necesario en ciertos casos efectuar resiembras o una inoculación y otra resiembra posterior (colonias atípicas) para identificar al germen.

La inoculación se la usa con las mismas indicaciones que el anterior método, debiendo indicarse que para la identificación de la cepa es necesario la utilización de conejos además de cobayos usados corrientemente. Con fines experimentales se lo emplea para buscar la virulencia de una cepa determinada.

#### ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS DIVERSOS METODOS.

—Si realizamos un estudio comparativo de los métodos enunciados para la búsqueda del *myco-bacterium tuberculosis* podemos concluir que el examen directo es el más sencillo de realizarlo, siendo así mismo el que menor número de resultados positivos arroja, por lo que en todo caso de sospecha de presencia de lesiones tuberculosas habrá que recurrir a métodos que den un mayor índice de seguridad en el diagnóstico bacteriológico. Igualmente el método por concentración, que da un mayor número de casos positivos, también induce a una serie de errores y confusiones, por lo que podemos afirmar que en todo caso, para confirmar la presencia de *myco-bacterium tuberculosis*, debe recurrirse a la inoculación o cultivo, quedando los dos métodos primeros para seguir la evolución del caso. La realización tanto del cultivo como de la inoculación requieren de un buen laboratorio y de un personal perfectamente entrenado para su perfecta realización. Otro de los inconvenientes de estos dos últimos métodos es el tiempo demasiado largo que precisan para confirmar sus resultados, tiempo que para una inoculación no es menor de dos semanas y para los cultivos algo menor.

Inquietud nuestra ha sido disminuir este tiempo perdido, digámoslo así, en espera de los resultados, tiempo siempre demasiado largo, pues aunque la tuberculosis sea una enfermedad por excelencia crónica, los numerosos adelantos realizados últimamente en la terapéutica, especialmente de esta enfermedad, van requiriendo cada vez mayor celeridad en el diagnóstico etiológico, sea para iniciar un tratamiento o para determinar la actividad o inactividad de las lesiones, así como la

respuesta de los enfermos al tratamiento. Así pues, mediante la acción de una serie de sustancias, a más, de buscar los efectos que éstas van a provocar en el organismo tuberculizado, hemos querido buscar el acortar este tiempo, especialmente en la inoculación realizada con fines diagnósticos, para lo que se ha realizado una serie de inoculaciones experimentales, con resultados variables como lo expondremos más adelante.

### CAPITULO TERCERO

#### **RESPUESTAS ORGANICAS A LA ADMINISTRACION DE: CORTISONA, HIALURONIDASA, TUBERCULINA Y B.C.G.**

**CORTISONA.**—Antes de iniciar el estudio de la cortisona en la Tb, creemos necesario pasar revista de una manera ligera a la Química Biológica y Fisiológica de la corteza suprarrenal.

Las Cápsulas Suprarrenales constituyen en la actualidad uno de los órganos sobre los que mayor expectativa existe en los medios científicos; su papel en la endocrinología y en las enfermedades por adaptación, es todavía uno de los puntos más discutidos, sin que hasta la presente se haya aclarado definitivamente su funcionalismo y patología.

El estudio de las cápsulas suprarrenales, comienza en el siglo II de nuestra era con Galeno, quien es el primero en anotar su presencia. Pero, en realidad, los primeros conocimientos sobre estas glándulas los debemos a Eustaquio, quien las denominó "Glándulas Renibus Incombentus" y las describió anatómicamente en 1543. Como se ve, hasta entonces su fisiología era desconocida. A partir de este momento muchos son los autores que dedican su atención a la Histología y Anatomía de estos órganos, como por ejemplo, Riolano el Joven, quien ya las llamó cápsulas suprarrenales (1550-74) Bartholinus atribuye a las cápsulas suprarrenales el papel de secretar la bilis negra, criterio que perduró durante 200 años. Valsalva las describe como parte del sistema reproductor. En 1816, Otto realiza la primera descripción histológica de la glándula y por fin los primeros estudios sobre la Fisiología y Patología de las suprarrenales, corresponden a Addison en 1855, los mismos que están expuestos magistralmente en su obra "Efectos constitucionales

de la enfermedad de las cápsulas suprarrenales". En esta monografía establece de manera clara y definitiva la etiología suprarrenal del síndrome que lleva su nombre. Después de este célebre investigador inglés, hasta el momento actual son muchos los que han continuado sus estudios. Dado el carácter del presente trabajo nos limitamos a recordar los principales, que en orden cronológico son: Ecket, quien en 1846 las clasificó como glándulas, al mismo tiempo se debe a Balfour y Leydig el conocimiento de la independencia existente entre las cápsulas suprarrenales y los riñones.

Brown-Secquard, sobre la base de los estudios hechos por Addison en 1856, demostró mediante la adrenalectomía bilateral que las suprarrenales son indispensables para la vida. En 1890 Thorton corrobora esta aseveración. Al finalizar el siglo pasado Oliver y Schafer, en 1894 establecen la diferenciación fisiológica de corteza y médula, hecho que ya se vislumbra por las diferencias anatómicas y embiológicas antes establecidas.

Los primeros en aislar la adrenalina en estado puro fueron por una parte Abel y Takamine, y por otra, Arldrich, quien estableció su estructura y fórmula química. Investigaciones posteriores demuestran que la epinefrina o adrenalina no es capaz de mantener la vida en los animales adenoprivos, Cannon establece la interacción del simpático y la cápsula suprarrenal, atribuyendo a la médula "Una función de emergencia" y es de trascendental importancia su trabajo por ser el primero en destacar la unidad de acción de los sistemas nervioso y glandular.

A Evans se debe, en 1925, el conocimiento de la sinergia endocrínica existente entre la hipófisis y las adrenales. Mediante inyecciones de extracto de hipófisis a ratas hipofisectomizadas, comprobó que se evitaba la atrofia de las cápsulas suprarrenales.

Hartmann, Steward y Rogoff demuestran que los extractos de la corteza tienen propiedad esenciales para la vida (1927). Entre 1932 y 1938 Britton y Loever establecen el papel de las suprarrenales en el metabolismo de los electrolitos y los carbohidratos.

El ensayo de Evans fue aprovechado más tarde por Kendall, quien aisló nueve esteroides de la corteza, incluyendo el compuesto E (1934-39). En los años 1937-1938, Steiger, Reischtein, sin-

tetizaron el acetato de desoxicorticosteroma; y Reischtein aisla a la desoxicorticosterona de las suprarrenales del buey.

Luego aparecieron numerosas publicaciones con estudios detallados de la constitución de cada uno de los principales activos aislados de las suprarrenales.

Gracias a los estudios realizados por estos autores y los nuevos de la última década quedaron bastante aclarados los conceptos sobre la fisiología de las cápsulas suprarrenales y sus hormonas. Sin embargo, solamente a partir de la separación y purificación de la adrenocorticotropina (ACTH) puede decir que este estudio ha dado todas las pautas necesarias para la comprensión de la fisiopatología adrenal. Correspondió a los laboratorios Armour el privilegio de iniciar los trabajos tendientes a individualizar el ACTH, hace seis años, pudiéndose obtener extractos de potencia y pureza necesarias para uso humano solamente en el año 1948.

Sobre esta base de indiscutible valor, en 1949, se aplicó por primera vez en la clínica humana el ACTH y la cortisona bajo la dirección de Kendall.

A partir de este momento son innumerables los institutos científicos que se han dedicado al estudio de la aplicación terapéutica de los productos hormonales de la hipófisis y cápsulas suprarrenales. Hasta el momento actual podemos decir que no se conoce de manera definitiva cuáles son todos los procesos patológicos sobre los que pueden tener aplicación estos productos hormonales, lo que se debe a la falta de un cabal conocimiento sobre su fisiologismo. Este hecho permite que cada día se sigan encontrando junto a sus indicaciones, múltiples contra indicaciones, lo cual obliga a continuar estudiando la farmacodinamia de estas hormonas, a fin de poder conocer de manera definitiva cuando se debe emplear o no.

Como consecuencia de los estudios realizados hasta la fecha, se ha llegado a la conclusión de que las cápsulas suprarrenales constan de dos porciones, de origen embriológico diferente, de constitución histológica distinta y con propiedades fisiológicas particulares para cada una, si bien es verdad que existe una absoluta interdependencia entre ellas.

En el presente trabajo vamos a circunscribirnos a tratar sobre la corteza suprarrenal y las hormonas a que da origen.

Hasta el momento actual se han aislado de la corteza suprarrenal 28 esteroides, cada uno de los cuales tiene diferen-

te constitución química y posiblemente distintas acciones fisiológicas.

Estas hormonas las elabora posiblemente la CS a partir del colesterol y la Vit. C., sustancias que contienen en buena cantidad. Esta suposición se fundamenta en que el colesterol deriva químicamente del ciclopentanofenantreno, núcleo común de los esteroide corticales y gonadales. Esto explica que actualmente se puedan sintetizar los esteroides corticales a partir del ciclopentanofenantreno, por Ej., se obtiene cortisona a partir del colano. La participación de la Vit. C. en la producción de los esteroides es un problema bastante oscuro hasta el momento. Sin embargo, el hecho de encontrar a la Vit. C como cadena lateral en algunos esteroides, hace pensar en su participación.

Los actuales estudios fisiológicos han concluido en que para la producción de corticoesteroides necesita la corteza suprarrenal ser estimulada por la Adrenocorticotropina, hormona producida en el antero hipófisis, la que a su vez es gobernada por el hipotálamo. Este sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal, supone la existencia de un mecanismo de autorregulación mediante el que se mantiene el equilibrio funcional. Así, ante una baja de corticoesteroides en la sangre circulante, la anterohipófisis, controlada por el hipotálamo, secreta ACTH, la que a su vez estimula a la corteza suprarrenal para que produzca los cortiesteroides requeridos ese momento por el organismo. Igualmente, el exceso de corticosteroides circulantes inhibe la producción de ACTH. Los requerimientos de corticoesteroides por parte del organismo pueden aumentar por un sinnúmero de causas, entre las que cabe anotar las agresiones exteriores, las que provocan sufrimiento del organismo (Stress), el que podrá ser superado mediante una hiperproducción de corticoesteroides.

A pesar de que cada uno de los corticoesteroides tiene sus particularidades fisiológicas, al hablar de las funciones de la corteza suprarrenal tenemos que referirnos en forma conjunta. Así, pues, las funciones diferenciales y comprobadas hasta hoy de las hormonas de la CS se engloban con la denominación de "Función corticoide" (Selye). Esta función se ha establecido como indispensable para la vida. Su disminución provoca una alteración del equilibrio funcional, lo cual se traduce por la enfermedad y su supresión determina la muerte.

“La función corticoide actúa sobre el metabolismo intracelular, sea sobre una función general común para todas las células (metabolismo de los hidratos de carbono) o sobre la función específica de algunas células solamente (regulación electrolítica)”. (Pascualini).

Las principales funciones, hasta hoy diferenciadas y que constituyen la función corticoide son las siguientes:

- 1) Sobre el metabolismo hídrico y salino.
- 2) Sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.
- 3) Sobre el metabolismo pigmentario.
- 4) Sobre los tejidos linfoides; los linfocitos y los eosinófilos.
- 5) Sobre el tejido conjuntivo.
- 6) Sobre la función sexual.

Se le atribuye además un papel importante en la “Adaptación a los agentes nocivos inespecíficos y los mecanismos que regulan esa adaptación” (Seyle). Por fin, por intermedio de las funciones metabólicas anotadas, actúa sobre la capacidad funcional del músculo, la permeabilidad capilar, el funcionamiento renal y digestivo, la presión arterial y el crecimiento.

**Acción sobre el metabolismo hídrico y salino.**—La corteza suprarrenal mantiene el equilibrio hídrico y mineral en el organismo gracias a la retención de sodio y agua, mediante la reabsorción tubular y la eliminación de potasio por la excreción renal. Como consecuencia de estos hechos aumenta el aflujo sanguíneo renal, facilitando a su vez la excreción del N no proteico, fosfatos, úrea y creatinina. La reabsorción tubular del agua se realiza gracias a la intervención de la hormona antidiurética de la hipófisis. Cuando la corteza ha disminuído su capacidad funcional se produce aumento en la eliminación del agua y del sodio y una mayor retención de potasio, así como del N no proteico, lo que trae como consecuencia estados de deshidratación, hemoconcentración, depresión circulatoria y baja de la tensión, fenómeno que a su vez impide que se produzca una mayor deshidratación por disminución del aflujo sanguíneo renal. Además se atribuye a la retención de K algunos de los fenómenos presentes en la insuficiencia suprarrenal, entre ellos la astenia y la fatiga.

**Acción sobre el metabolismo de los carbohidratos.**—No todos los corticoesteroides participan en el metabolismo de los hidratos de carbono, esta función está a cargo solamente de aquellos que poseen un O en el carbono 11 (11 oxisteroides). Esta especialidad funcional de estas hormonas ha hecho que se las englobe con el nombre de gluco corticoides.

Los glucocorticoides participan en la síntesis de los H. de C. acelerando el catabolismo de las proteínas y grasas, lo cual determina un aumento de la gluconeogenesis con aumento del glucógeno hepático y muscular, que favorece la glucogenolisis y el aumento de la glucemia, y disminuye, a su vez, la oxidación tisular de glucosa.

Esta participación de la corteza en la reacción reversible glucosa-glucógeno a más de existir permanentemente como factor indispensable para mantener la homeostasis, tiene la particularidad de responder a decuadamente de acuerdo a las necesidades del organismo ante las agresiones del medio.

Esta función se ha comprobado experimentalmente en animales de experimentación en los cuales después de la adrenalectomía se ha constatado:

- 1) Disminución del catabolismo de las proteínas y grasas;
- 2) Disminución de la gluconeogenesis y del glucógeno hepático y muscular;
- 3) Disminución de la glucemia hasta niveles francamente hipoglucémicos.
- 4) Aumento de las oxidaciones tisulares;
- 5) El organismo pierde la capacidad de adaptación ante las agresiones externas.

**Sobre el metabolismo pigmentario.**—Los corticoesteroides se cree que intervienen en el metabolismo pigmentario inhibiendo la elaboración de una "Hormona melanofórica" en la hipófisis. Esta hipótesis se basa en que cuando faltan los corticoesteroides en la sangre hay un exceso en la producción de hormona melanofórica con la consiguiente melanodermia (Enf. de Addison).

**Acción sobre los tejidos linfoides, los linfocitos y los eosinófilos.**—Experiencias realizadas mediante la adrenalecto-

mía han determinado en animales de experimentación linfocitosis y eosinofilia. Resultados contrarios se han obtenido con la administración de corticosteroides o ACTH. Estas experiencias son el fundamento para establecer la acción de la CS sobre los tejidos finfoideos. Aunque no está determinado, se cree también que la corteza interviene en el aumento de las gama globulinas, las que son consideradas como anticuerpos. Este hecho explicaría la acción de la corteza en la resistencia del organismo contra las agresiones externas.

**Acción sobre el tejido conjuntivo.**—Las enfermedades del tejido conjuntivo, con hiperproducción de éste, constituyen hasta la actualidad un serio problema terapéutico. Sin embargo, desde el momento en que se logró aislar el ACTH se ha obtenido notable mejoría en numerosas afecciones colágenas gracias a la administración de ésta hormona. Como se conoce, el ACTH por sí mismo no posee efectos terapéuticos específicos, su acción está encaminada a estimular la producción de corticoesteroides siendo estas hormonas las que van a actuar sobre los trastornos del tejido conjuntivo. Estas experiencias nos están demostrando que los corticoesteroides tienen acción inhibitoria sobre la formación de tejido conjuntivo. El mecanismo gracias al cual se realiza esta función es desconocido.

**Acción sobre la función sexual.**—La corteza tiene una acción androgénica y otra estrogénica. Se han aislado hormonas corticales de composición química y propiedades similares a las hormonas androgénicas y estrogénicas provenientes del testículo y ovario, cuyo papel fisiológico exacto no es conocido. Sin embargo, cabe anotar que cuando aumenta la producción de los corticoesteroides androgénicos, se presentan trastornos virilizantes. Normalmente estas hormonas parecen estimular el crecimiento del pelo pubiano y axilar.

Las acciones enumeradas obtienen en forma global solamente cuando entran en juego todos los corticosteroides, de los cuales hasta el momento se han aislado y estudiado no menos de 28, sin que se haya llegado a comprobar que todos ellos tengan acción hormonal.

Estos corticoesteroides han sido divididos en cuatro grupos en atención a su composición química y a su acción.

Estos cuatro grupos son los siguientes:

- 1) Mineralo-corticoides.
- 2) Glucocorticoides.
- 3) Corticoides androgénicos.
- 4) Corticoides estrogénicos y progesterona.

Los dos primeros grupos son los que tienen la acción cortical específica por lo cual se los denomina corticoesteroides propiamente dichos.

Los mineralocorticoides constituyen el grupo desoxigenado, se le llama así porque carecen de átomo de C. en el C 11. Regulan el metabolismo inorgánico (mineral y electrolítico). Sus principales representantes son la 11 desoxicorticosterona y el 17 hidroxí 11 desoxicorticosterona (Compuesto S de Reinhs-tein). (ver cuadro).

Los glucocorticoides corresponden al grupo oxigenado, denominación que se debe a la existencia de un átomo de O o de un oxidrilo en el C 11, reemplazando a uno de los H de este C. Esta estructura química confiere a los glucocorticoides su acción sobre el metabolismo de los hidratos de carbono. Sus principales representantes son: la corticosterona y la 17 hidroxí 11 dehidrocorticosterona (cortisona o compuesto E de Kendall). (ver cuadro).

Por fin los esteroides androgénicos, estrogénicos y progesterona se reúnen en el grupo cetónico, de donde viene su nombre de ceto o keto esteroides. Se caracterizan por poseer un radical O en el C 11 y un cetónico en el C 17. Sus representantes más importantes son: el 17 hidroxiprogesterona, la hidroxí androsterona y la androsterona. Su función es metabólica, se ejerce principalmente sobre las proteínas en un sentido anabólico, es decir condicionan la formación de tejidos, con retención de N y balance positivo. En su metabolismo siguen la misma ruta que los andrógenos testiculares y sus metabolitos se excretan por la orina como 17. cetoesteroides (ver cuadro).

#### **CORTISONA.—CORTISONA Y TUBERCULOSIS**

La cortisona, nombre que se adoptó para el compuesto E de Kendall, con el objeto de no confundirlo con la Vit. E, químicamente corresponde a la 17 hidroxí 11 de hidrocorticosterona. Por su acción tan notable en un gran número de enfermedades de adaptación y colágenas, ha pasado a ser la más importante de las hormonas corticales. Se la puede obtener por extracción del tejido suprarrenal con un rendimiento bas-

tante pequeño, lo que ha obligado a muchos investigadores a tratar de obtenerla por síntesis. El primero en sintetizarla fue L. H. Sarret de la Merck and Co., introduciendo un radical hidróxilo en el C. 17. Más tarde este mismo investigador obtuvo cortisona a partir de un compuesto parecido al compuesto A, en mayor cantidad que por el anterior procedimiento. Actualmente se la sintetiza generalmente a partir del ácido desoxicólico de la bilis de buey. Ultimamente se están realizando estudios para producir cortisona a partir de algunos estrofantos (estrofantus-Carmentosus).

La cortisona es elaborada en la zona fasciular de la corteza suprarrenal y se produce gracias al estímulo que ejerce sobre ella la corticotropina.

Sus efectos fisiológicos son múltiples y de gran intensidad, conferidos por su particular constitución química. Entre ellos podemos anotar los siguientes como principales: Actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono favoreciendo la gluconeogenesis y reduciendo la utilización periférica de glucosa; como consecuencia de esta acción tiene efecto catabólico sobre las proteínas, conduciendo un balance negativo y a la excreción exagerada de ácido úrico y creatinina. Esta acción catabólica se traduce por inhibición del crecimiento, **retardo de la granulación de las heridas y destrucción de los tejidos orgánicos**. En un comienzo de la administración de cortisona se produce ligera retención de sodio y cloro, posteriormente estos efectos se invierten, determinando aumento de la excreción de K. También el agua se retiene en principio y luego se excreta en exeso.

Sobre la hematopoyesis imprime un efecto bien definido. Estimula la maduración de la serie roja pudiendo su acción exagerada producir reticulocitosis y, en determinadas condiciones, poliglobulia (síndrome de Cushing). Estimula la neutrofilia, especialmente en los niños, los linfocitos en cambio disminuyen, por acción lítica sobre los órganos linfáticos (timo ganglios), conduciendo a una acentuada linfopenia. Sobre los eosinófilos tiene una acción idéntica, produciendo probablemente su aglutinación y destrucción en el sistema retículo endotelial, con la consiguiente eosinopenia. Sobre los macrófagos actúa estimulándolos, en cambio la proliferación fibroblástica disminuye (hecho en que se basa su efecto terapéutico sobre las enfermedades colágenas).

Interviene también en la formación de antígenos y se ha llegado a observar la anulación de acciones anafilácticas y la reactividad dérmica a diversos antígenos bacterianos.

En el tracto digestivo estimula la secreción de enzimas, especialmente en la pepsina gástrica, sin efecto sobre la acidez. También actúa sobre enzimas celulares, inhibiendo a la hialuronidasa y sobre los sulfhidrilos, cuya acción es deprimida, por disminución de glutatión sanguíneo.

Aunque todavía está en el campo de la experimentación, se ha establecido la probabilidad de que provoque aumento de los anticuerpos bacterianos.

A más de los efectos fisiológicos anotados, la cortisona como el resto de glucocorticoides, determina reacciones múltiples en las funciones del organismo, tanto en el orden fisiológico, como en el terapéutico. Este último por ser de gran importancia lo vamos a esquematizar en el siguiente cuadro adjunto.

Estos mismos efectos fisiológicos y terapéuticos que determina la cortisona, en determinados casos pueden llegar a producir resultados desfavorables, los mismos que Pascualini sintetiza en los siguientes:

1º—**Retención de sodio y agua.**—En la mayoría de los casos no se producen consecuencias apreciables, pero sin embargo, en algunos pacientes, después de la administración prolongada y especialmente cuando existe insuficiencia cardíaca o renal, pueden llegar a ser muy marcadas: edema cutáneo, insuficiencia cardíaca congestiva y hasta edema del pulmón.

2º—**Hipokalemia.**—La cortisona provoca una depleción del K. plasmático, con aumento de su excreción urinaria, que se traduce en algunas consecuencias clínicas, como debilidad muscular, fatigabilidad, depresión neuromuscular, meteorismo y arritmias. Esta hipokalemia evoluciona con la retención de Na y se acompaña de alcalosis.

3º—**Efecto diabético.**—Aunque de rara observación, la cortisona determina aumento de la glucemia, especialmente en ayunas, efecto que se presenta muy manifiesto en los casos de diabetes latente, pudiendo llegar a determinar la iniciación clínicamente apreciable de la enfermedad.

4º—**Trastornos nerviosos.**—Las alteraciones del metabolismo cerebral provocadas por la cortisona se traduce en algunos casos en un conjunto de trastornos mentales que pueden alcanzar gravedad; entre otros se ha constatado depresión mental, reacción maniaca, estados de estupor, estados delirantes, reacción suicida, insomnio, etc.

5º—**Síndrome de Cushing.**—Se origina esencialmente por el aumento de producción de glucocorticoides endógenos y consiguientemente la administración prolongada de cortisona puede dar lugar al desarrollo de un síndrome completo o alguna de sus manifestaciones básicas. Entre las más comunes de ellas citaremos: facies de luna, acné, hipertrichosis, estrías atróficas, queratosis pilar, recarga adiposa en la nuca, osteoporosis, hipertensión, aumento de la glucemia y disminución de tolerancia a la glucosa, poliglobulia e infecciones cutáneas.

6º—**Trastornos sexuales.**—En el hombre se ha observado la disminución de la libido durante el tratamiento con cortisona y, en la mujer, con menor frecuencia, amenorrea u otros cambios menstruales.

7º—**Difusión de infecciones.**—Como una posibilidad poco frecuente pero digna de tenerse en cuenta hay que anotar la difusión de infecciones previamente latentes o acantonadas, tales como abscesos glúteos en el sitio de inyección de la cortisona, y de ántrax de tipo disecante de cara.

8º—**Trastornos digestivos.**—En el curso del tratamiento con cortisona se ha observado acidez gástrica y diarrea, con menor frecuencia activación de úlceras gastroduodenales latentes, hemorragias en ulcerosos y perforación con peritonitis de evolución solapada y atípica que escapan al diagnóstico. Puede también producir meteorismo como manifestación muy frecuente, lo mismo que aumento patológico del apetito.

9º—**Trastornos sanguíneos.**—El aumento de la coagulabilidad de la sangre puede traducirse en algunas consecuencias clínicas serias: trombo-embolias.

10°—**Trastornos cutáneos.**—La cortisona puede producir algunos cambios cutáneos característicos (melanodermias).

11°—**Alteraciones de la cicatrización.**—La depresión de la granulación, de la fibroplasia y la acentuación de catabolismo proteico suelen redundar en retardo de la cicatrización de las heridas. Sin embargo, este efecto que es indiscutible, no resulta siempre aparente.

12°—**Activación de la infección tuberculosa.**—Durante el tratamiento con cortisona en algunos pacientes con Tb. inactiva, se ha constatado la reactivación de este proceso.

**CORTISONA EN LA TUBERCULOSIS.**—Como se puede apreciar en el cuadro de los efectos desfavorables de la cortisona, que lo hemos resumido en los renglones que anteceden, Pascualini anota la posibilidad de que el tratamiento con cortisona determine la reactivación de la infección tuberculosa o agrave la Tb activa. Esta tesis aparece apoyada por algunas observaciones en la que se ha comprobado la aparición clínica de tuberculosis anteriormente inaparentes.

A continuación expondremos algunas de estas experiencias, aquellas que creemos más objetivas:

En caso de periateritis nudosa, la administración de cortisona fue seguida aproximadamente dentro de un mes de la interrupción del tratamiento, por una siembra miliar pulmonar, de tubérculos microscópicos que, aunque no en forma segura, puede ser vinculada directamente al tratamiento hormonal.

En un caso de artritis reumatoidea, en pleno tratamiento con cortisona se desarrolló una bronconeumonía Tb de evolución fatal.

La administración de cortisona en un caso similar al anterior determinó la intensa reactivación de pequeños focos Tb inactivos, dando lugar a una Tb fibrocásica bilateral.

Un enfermo con artritis reumatoidea, durante el tratamiento con cortisona y ACTH, desarrolló una neumonía Tb que determinó su muerte.

Dohan, Richardson, Bluemle y Gyorgy, señalan el caso de una enferma de paniculitis recurrente. (enf. de Weber Christian), libre de Tb demostrable que a los 23 días de terminar una

serie de cortisona con un total de 3635 mgr. desarrolló una meningitis Tb. de evolución fatal.

Ante todos estos casos de aumento del desarrollo de la tuberculosis o a reactivación de procesos inactivos, muchos autores han tratado de dar una explicación a este problema. Unos creen que las lesiones se inician seguramente en antiguos complejos primarios inactivos, encapsulados, pero conteniendo bacilos vivos, viéndose facilitada su salida del foco debido a la acción de los glucocorticoides sobre el mismo, por inhibición de la actividad macrofágica y disminución del tejido linfoideo.

Otros autores consideran que estas hormonas carecen de acción fibrolítica sobre el tejido fibroso ya constituido, como el que constituye los fondos de encapsulación de la infección primaria u otras antiguas lesiones Tb curadas y, en consecuencia, sugieren otras posibilidades, como ser una infección latente en el momento de iniciar la terapéutica hormonal, una reinfección exógena accidental, o el desarrollo de lesiones neumónicas agudas no Tb. que destruirían el tejido pulmonar y la cápsula de los antiguos focos. Otros autores atribuyen la extensión de la lesión tuberculosa no a la acción positiva de las hormonas, sino a la depresión del sistema hipófiso-suprarrenal que sigue a la interrupción del tratamiento.

Frente a casos clínicos que demuestran la acción desfavorable de la cortisona en la Tb. existen múltiples estudios que demuestran lo contrario entre los que citaremos varios:

El Comité de Terapéutica de la Sociedad Americana Trudeau analizó las historias clínicas de 81 enfermos tratados con cortisona o ACTH, sin poder comprobar efecto desfavorable alguno sobre la Tb, incluso con el examen necrópsico.

El Dr. John R. Mote, médico director de los laboratorios Armour, ante la conferencia de Chicago, presentó un resumen de los trabajos efectuados y el número de enfermedades y pacientes estudiados durante las investigaciones del tratamiento con cortisona y ACTH, llegando a la conclusión que la cortisona en las siguientes infecciones: Tb. pulmonar, poliomielitis, hepatitis aguda a virus, hepatitis crónica a virus, pulmonía lobar, pulmonía a virus, requiere una investigación más meticulosa, porque hasta el momento actual no se ha podido demostrar a cabalidad si su acción es benéfica o no.

Freeman, Fershing, Wang y Smith relatan el siguiente caso: a dos enfermos de Tb pulmonar fibrocásica del lóbulo su-

perior, con baciloscopia positiva, se administró 100 U. I. por día de ACTH durante cinco semanas, en cuyo curso la fiebre desapareció entre las 24 y 48 horas de iniciado el tratamiento; aumentó el apetito y la sensación de bienestar y uno de los enfermos llegó a la euforia a las tres semanas, la tos cesó y el volumen de esputo se redujo a la mitad. Las sombras pulmonares se aclararon y en uno de los pacientes adquirieron aspecto de abscesos evacuados. La eritrosedimentación disminuyó; la baciloscopia se mantuvo positiva. En uno de los enfermos se produjo una evidente difusión de las lesiones.

En otra observación de Tb pulmonar avanzada citada por Pascualini revela que un paciente tratado con 100 U.I. drs. de ACTH durante doce días se produjo también normalización de la temperatura, la expectoración disminuyó y cesó el drenaje a través de una toraco-tomía, desaparecieron los sudores nocturnos, mejoró el apetito y se despertó sensación de bienestar. La eritrosedimentación se normalizó. La baciloscopia positiva no varió, lo mismo que las imágenes radiológicas pulmonares. Suspendida la medicación, el curso de la enfermedad se agravó.

En cuatro enfermos de Tb avanzada, con laringitis Tb, la administración de 100 U. I. diarias de ACTH, fue seguida en sólo el transcurso de seis a ocho horas de notable mejoría, con desaparición de las manifestaciones generales, se produjo apirexia, aumento de energía y apetito, mejoría de la fonación y desaparición de la reactividad cutánea a la tuberculina. A las 24 horas eran visibles cambios locales en la laringe, desaparición del edema, disminución de la granulación y epitelización. Una vez suspendido el tratamiento, reaparecieron los síntomas generales y el edema laríngeo. El epitelio se mantuvo sin cambios posteriores. Las lesiones pulmonares se hicieron radiológicamente menos densas durante la administración del ACTH. Después de 48 horas de suspendido este tratamiento, la densidad de las lesiones volvió a su aspecto primitivo.

Las observaciones realizadas hasta el momento actual no nos permiten tener un concepto claro de la acción de la cortisona sobre la tuberculosis. Por esta razón en los últimos años son muchos los científicos que se han dedicado al estudio experimental de este problema.

Entre las experiencias más interesantes hemos escogido para el presente trabajo las siguientes:

Hart y Rees, realizaron una serie de ensayos en ratones infectados por vía intravenosa, que desarrollan un tipo de infección pulmonar poco progresiva, predominantemente proliferativa y con escasos bacilos. En estos animales se inyectó cortisona, después de la inoculación, con lo cual las lesiones se exacerbaron. Se constataron lesiones pulmonares necróticas que contenían gran cantidad de bacilos. La mortalidad fue muy elevada. En ratones en los que se inyectó al mismo tiempo bacilos y cortisona, la mortalidad fue más elevada aún.

Estudios hechos en ratones demuestran que el tratamiento con cortisona neutraliza los efectos protectores de la vacunación antituberculosa de tal manera que ante nuevas inoculaciones se comportan como los animales no vacunados. Al mismo tiempo, aumenta la susceptibilidad a las infecciones con bacilos de virulencia reducida.

Trabajos experimentales en cobayos han demostrado que la cortisona agrava la tuberculosis, provoca lesiones más extensas, tanto en el sitio de la inyección como a distancia. En estas mismas experiencias se constató que la estreptomycinina, administrada simultáneamente con la cortisona, resulta menos eficaz que cuando se administra sola.

Otros trabajos en cobayos han determinado que la cortisona facilita el desarrollo de la tuberculosis y además interfiere la acción de la estreptomycinina. La hipersensibilidad específica es inhibida en cierta medida, en tanto que la elevación de la eritrosedimentación que se observa al comienzo de la infección es más moderada.

Experiencias realizadas en cobayos demuestran que la administración de ACTH impide el desarrollo del fenómeno de Koch después de la dosis reinfectante.

Por otra parte se ha comprobado tanto en el cobayo como en el hombre que durante la administración de cortisona y ACTH se han negativizado las reacciones tuberculínicas, positivizándose posteriormente a la suspensión del tratamiento.

Daniel S. Lukas realizó experiencias en 60 cobayos inoculados experimentalmente de tuberculosis, a los que administró cortisona y ACTH. Los dividió en dos grupos de treinta cada uno. En el primer grupo inyectó a diez de ellos cinco miligramos de acetato de cortisona cada doce horas; otros diez inyectó ocho miligramos de ACTH cada ocho horas y los diez restantes fueron tratados con inyecciones de cloruro de sodio

isotónico cada doce horas. La inoculación con el myco-bacterium tuberculosis la realizó después de cuarenta y ocho horas de haber iniciado la administración de las sustancias ya indicadas. Los mantiene en esta forma por catorce días, al cabo de los cuales son sacrificados para hacer el estudio anatómico e histopatológico. El segundo grupo es tratado en igual forma que el anterior, pero se los mantiene por veinte y ocho días.

El otro grupo constaba de igual número de cobayos tratados experimentalmente en la misma forma, pero durante 28 días.

Las conclusiones a las que llegó el autor después de estas experiencias son las siguientes: "Con ambas hormonas, pudieron observarse alteraciones en la frecuencia de las lesiones en el sitio de inoculación, en las características de las lesiones y en la extensión del proceso Tb, en el experimento que duró 14 días, pero no en el que se administró las hormonas durante 28 días.

Durante los períodos de tiempo en que se administró cantidades excesivas de dichos agentes, no se notó signos de incremento del proceso Tb experimental".

Konrad Birkhaug en su artículo "El efecto de la cortisona sobre la infección BCG en el cobayo", resume sus experiencias en los siguientes términos:

"La administración de cortisona a los cobayos inoculados con vacuna BCG viva o muerta, produjo una reducción importante en la respuesta inflamatoria al BCG y a la tuberculina, y limitó la difusión intradérmica de un colorante vital.

El hemograma de los animales BCG sensibilizados y tratados con cortisona reveló eosinopenia temprana, linfopenia acelerada y monocitosis (aumento de la proporción monocitos-linfocitos), pero no alteraciones sostenidas en el total de eritrocitos y leucocitos, Hb y coeficiente de eritrosedimentación.

El material autópsico procedente de los animales BCG sensibilizados y tratados con cortisona, mostró una importante reducción de la hiperplasia en los ganglios linfáticos regionales y distales y en el bazo, y notable atrofia suprarrenal, pero sin signos de exacerbación de las lesiones del BCG.

La cortisonoterapia durante el período activo de sensibilización con BCG produjo un aumento importante de la resistencia específica a una infección provocativa, el cual fue más acentuado en los animales sensibilizados con BCG vivo.

No se encontró, pues, pruebas de que la administración de cortisona durante la fase activa de sensibilización y después aumente la virulencia del BCG".

Y por fin citaremos la opinión del comité de Terapéutica de la Sociedad Americana Trudeau y el Subcomité de Laboratorio, que conjuntamente han estudiado la acción del ACTH y la cortisona en la Tb (x). Después de haber examinado numerosas comunicaciones verbales y treinta y nueve publicaciones al respecto, llegan a la conclusión de que en la Tb experimental de los animales de laboratorio la acción de la cortisona y ACTH es muy variable, acción que depende del animal empleado y de las condiciones de experimentación.

Manifiestan que estas hormonas determinan un descenso en la reacción de los pequeños vasos, con reducción de la respuesta inflamatoria de los tejidos sensibilizados al m. b. t.

En tanto que la cortisona ha reactivado siempre la infección Tb. del ratón, y al suprimir la hormona, las lesiones Tb suelen mostrarse más activas.

Ante el conocimiento de resultados aparentemente tan contradictorios de los estudios de la acción de la cortisona en la Tb, hemos creído muy interesante realizar experiencias con ese objeto en nuestro medio, ya que la importancia de este tema cada vez es mayor.

Nuestro objetivo fue conocer qué efecto produce la cortisona en animales de experimentación inoculados con m. b. t. y, en el caso de que estos fueran favorables, servirían para acortar el tiempo de respuesta a las inoculaciones diagnósticas de Tb. (las experiencias realizadas, sus resultados y nuestro criterio al respecto, lo expondremos más adelante).

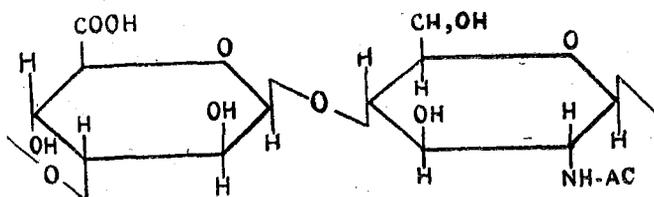
## **HIALURONIDASA Y SU ACCION SOBRE EL ORGANISMO**

Previo el estudio de hialurónidasa, una enzima mucolítica que tiene por objeto hidrolizar al ácido hialurónico, se hace imprescindible conocer cual es su composición y su farmacodinamia.

**ACIDO HIALURONICO.**—Es un muco-polisacárido que se encuentra formando parte de la fracción intercelular del tejido conjuntivo. Está constituido por una molécula gigante, de

peso molecular mayor al de 500.00. Posee, como características especiales, una gran viscosidad y tenacidad. La molécula del ácido hialurónico resulta del encadenamiento de moléculas de menor magnitud, que corresponden a hidratos de carbono menos complejos.

El ácido hialurónico fue aislado por primera ocasión por Meyer y Palmer en 1943. Meyer, fué también, el primero en hablarnos de su composición química, según él está constituido por restos del acetilglucosamina y de ácido glucorónico en la proporción de 1:1. En 1950, Meyer y Felling dan la fórmula siguiente para el ácido hialurónico:



Las funciones del ácido hialurónico conocidas actualmente son las siguientes:

- 1º.—Tiene la capacidad de absorber y retener grandes cantidades de líquidos sin perder su condición de gel estable; debido a ello actúa como antiedematígeno y retarda la difusión de los líquidos inyectados en el tejido conjuntivo.
- 2º.—Mantiene unidos - como cemento intercelular - a los elementos del tejido conjuntivo; y
- 3º.—Por su viscosidad y tenacidad confiere al tejido conjuntivo, y en especial al colágeno, la blandura, deformabilidad, distensibilidad y al aspecto mucogeloide que le caracterizan.

El ácido hialurónico, así como el resto de muco-polisacáridos, puede ser atacado y despolimerizado por una enzima, la misma que se conoce con el nombre de hialuronidasa. El primero en hablarnos de esta sustancia fué Duran - Reinald en 1928, quien trabajando en el Instituto Rockefeller de New York, aisló del testículo una sustancia con la cual pudo aumen-

tar en forma notable, a través de los tejidos, la difusión, del virus de la vacuna administrado por vía subcutánea. Posteriormente, logró modificar la absorción de los tejidos y difusión a través de los mismos de: Toxinas, sueros, fármacos, etc. A esta acción Duran Reynals llamó "**factor de difusión**". En 1936, Meyer y Col aísla la misma enzima, cuya identidad con el factor de difusión de Reynals, fué puesta de manifiesto en 1939 por Chain y Duthie.

La hialuronidasa al desdoblar el ácido hialurónico, destruye la acción fisiológica de este y, por tanto, determinará una actividad contraria a la del ácido hialurónico, la misma que puede ponerse de manifiesto mediante los siguientes fenómenos:

- 1º—Convierte al tejido conjuntivo en un tejido más permiable a los líquidos, como consecuencia de la transformación de su capacidad de imbibición, lo que trae consigo un aumento notable de la difusión de los líquidos introducidos en el mesénquima.
- 2º—Destruye el cemento intersticial que aglutina las fibras elementales, transformandole en una sustancia gelificable o semisoluble haciéndole perder su aspecto, estructura y resistencias normales, es decir, desnaturalizándolo.

La desnaturalización del sistema colágeno determina un aumento de su capacidad de absorción y, consecuentemente, un aumento del poder de difusión de cualquier sustancia que llegue a su interior.

Estos dos fenómenos causados por la presencia de hialuronidasa, en ocasiones pueden ser útiles al organismo, y en otras perjudiciales.

Normalmente existe hialuronidasa en algunos órganos de los seres vivos; en el hombre se encuentra especialmente en el humor acuoso y en las glándulas de Sertoli del conducto de Warthon. En estos órganos cumple con una acción fisiológica normal, así por ejemplo:

- a) En las células de Sertoli, da lugar a su estallido y a la liberación de espermatozoos;
- b) En el semen favorece el paso del espermatozoide has-

- ta la sede del óvulo a lo largo del canal útero-tubario;
- c) Facilita los procesos de fecundación dispersando las células coronarias que rodean al óvulo en los mamíferos, lo cual acelera la presentación de espermatozoides en el interior del óvulo; y
  - d) Así como en el sexo masculino acelera la liberación de espermatozoos, en el sexo femenino acelera el crecimiento del folículo ovular, la formación de las vacuolas de Call-Exner y el estallido folicular.

De la misma manera que la hialuronidasa tiene una acción fisiológica normal, puede también intervenir en procesos patológicos, así por ejemplo:

- a) La presencia normal de hialuronidasa en el organismo humano puede favorecer el desarrollo de sífilis. Aseguran algunos autores que esta enfermedad es más grave en el hombre que en la mujer debido a que los testículos son ricos en esta enzima. Su hipótesis la fundamenta en el hecho de que la sífilis es más benigna en los enfermos castrados; y
- b) Varios autores aceptan que tiene un papel preponderante la hialuronidasa en la proliferación celular de los tumores.

Cada día se encuentra más amplio el campo de acción de la hialuronidasa. Esta es la razón para que actualmente se la introduzca al organismo con diferentes objetivos.

La hialuronidasa que ingresa al organismo artificialmente puede alterar la pared de los capilares, ya por que debilita la lámina de sostén o por que modifica el cemento intercelular; y en otras ocasiones, puede actuar sobre los citoplasmas produciendo en ellos tumefacción o vacuolización. Sea por cualquiera de estos mecanismos, la verdad es que esta enzima aumenta la difusión, de manera espectacular, de cualquier sustancia inoculada juntamente con ella. Así es como el veneno de algunas víboras, que posee hialuronidasa, es difundido violentamente en el animal mordido; igual cosa sucede con el veneno de abejas y avispas; así como con las secreciones salivales de hemípteros y sanguijuelas hematófagos.

De la misma manera se comportará una solución anestésica o salina, un agente antibiótico o un germen patógeno; es decir, se esparcirá por los tejidos y llegará a su destino mucho más rápidamente cuando se inyecte con hialuronidasa, que cuando se inocule sola.

Para que la propagación o difusión intersticial de una sustancia se acelere por la presencia de hialuronidasa, se necesita que la presión local intersticial sea suficiente para producir el impulso mecánico necesario, el mismo que generalmente es provocado por las soluciones inoculadas. El índice de difusión está en proporción con la cantidad de enzima y su alcance en proporción con el volumen de la solución.

Actualmente, la medicina utiliza en gran escala la hialuronidasa, basándose en su acción de difusión. Esta es la razón por la que encontramos en la práctica médica muchos campos en los cuales se emplea hialuronidasa, entre los principales podemos citar los siguientes:

- 1) Para facilitar la difusión de los líquidos inyectados por vía subcutánea. Por la intensidad de esta acción se ha comparado a una gota de tinta que deja caer sobre un secante. "La enzima que permite a los tejidos absorber los líquidos como el secante absorbe la tinta".
- 2) Para acelerar la absorción sanguínea de los líquidos introducidos por vía parenteral. Esta acción, se ha llegado a decir, que permite la absorción de sustancias introducidas por vía parenteral tan velozmente como si hubieran sido administradas por vía endovenosa.
- 3) Para facilitar la anestesia local, en Odontología, Oftalmología, Otorrinolaringología, Obstetricia, Traumatología y Ortopedia. En todos estos casos el área de infiltración anestésica obtenida por el anestésico inyectado juntamente con hialuronidasa, es 3 veces mayor que la del anestésico solo.

Desafortunadamente "el factor de difusión" no sólo determina efectos favorables, sino, que también puede ser perjudicial para el organismo.

La hialuronidasa al suprimir la barrera defensiva del tejido conjuntivo, puede permitir que cualquier infección intro-

ducida con la inyección sea diseminada con tanta velocidad como si se inoculara por vía linfática o sanguínea. Este peligro justifica que la hialuronidasa, sólo deba emplearse en condiciones óptimas de esterilidad. De lo contrario un simple absceso o una infiltración localizada por una hipodermoclasia no estéril, pueden transformarse, gracias a la Hialuronidasa, en un enorme bloque flegmonoso, un foco gigante de necrosis o una septicemia. La hialuronidasa también puede agravar y mantener la gravedad de procesos inflamatorios. Al actuar esta enzima en numerosas enfermedades inflamatorias obra sobre los vasos y el tejido conjuntivo determinando edema interfibrilar y modificando la permeabilidad capilar, fenómeno que trae consigo un aumento de la absorción y difusión del agente patógeno que está actuando localmente. Y, por fin, la hialuronidasa es el factor primordial en las enfermedades colágenas, en las cuales el fenómeno patológico común es la desnaturalización o modificación microquímica profunda del tejido conjuntivo colágeno, incluyendo todos sus componentes. Estas son las denominadas "Colagenosis de Klemperer", entre otras se agrupan las siguientes enfermedades: artritis reumática, enfermedad cardioreumática, lupus eritematoso diseminado, artritis nodular multifocal diseminada de Kussmaul-Maier, síndromes de esclerema y esclerodermia progresiva, dermatitis ampullosa recidivante de Dühring, dermatomiositis generalizada, líquen escleroatrófico, retracción postdegenerativa de la aponeurosis palmar de Dupuytren y retracción postdegenerativa del pene "enfermedad de Peyronie". Además, existen las denominadas colagenosis secundarias entre las que se cuentan ciertos edemas crónicos con infiltración, como los que aparecen en las enfermedades vasculares de las extremidades.

En todas estas enfermedades existen un aumento de la formación de hialuronidasa, lo que trae consigo mayor permeabilidad vascular y aumento de la expansión y diseminación de los exudados inflamatorios, determinando en último término, la aparición de lesiones de tipo necrotizante o degenerativo).

Esta mayor producción de hialuronidasa, según Selye está determinada por hiper o discendocríneas; en esta forma él cree que los trastornos hormonales dan las colagenosis como consecuencia de un "stress" sufrido por el organismo. Es decir que para Selye estos procesos patológicos, formarían parte de las "enfermedades de adaptación".

La acción de la hialuronidasa se mide en unidades "turbi-reductoras" (TR) una unidad turbi-reductora es la cantidad de hialuronidasa, que en condiciones de ensayo, reduce la turbiedad causada por 0,2 miligramos de ácido hialurónico, a la causada por 0,1 miligramo.

Una de las ventajas importantes para el uso terapéutico de la hialuronidasa, es su inocuidad sobre el organismo sano. Estudios realizados con esta enzima altamente purificada, han demostrado que carece en forma absoluta de toxicidad aún en cantidades mucho más altas a las dosis terapéuticas. Es importante revelar que la administración de 75.000 unidades TR de hialuronidasa (500 veces mayor a la dosis terapéutica máxima), no produjo alteración significativa en la presión sanguínea, en la respiración ni en los tejidos.

**HIALURONIDASA EN LA TUBERCULOSIS.**—Estudios hechos ultimamente han ampliado el campo de acción de esta sustancia, llegándose en la actualidad a utilizar con objeto de acelerar el proceso inmunitario conferido por la vacunación B.C.G.

Desde Reynals, ya se hicieron estudios en tuberculosis con la hialuronidasa. Así por ejemplo Thomas y Duran Reynals determinaron la extensión de tuberculosis local en animales primaria y secundariamente infectados, mediante la acción de esta enzima, con la particularidad de que las lesiones tuberculosas generalizadas eran más extensas en los primeros. Esta diferencia atribuyeron a una inmunidad desarrollada más rápidamente en los animales secundariamente infectados.

Más tarde Bergqvist y Packelen inocularon cobayos y conejos intradérmica y subcutáneamente, con mezcla de bacilos tuberculosos (H 37 Rv) y una cepa de estafilococos productores de hialuronidasa, llegando a observar que la sensibilidad a la tuberculina se desarrollaba más rápido y fuertemente y que las lesiones tuberculosas locales y generales se desarrollaban en forma más veloz y grave en proporción directa a la producción de enzima de la cepa empleada.

Basándose en las experiencias anotadas, Konrad Birkhaug, utiliza la vacuna B.C.G. juntamente con hialuronidasa para inocular a cobayos, con el objeto de acelerar la respuesta inmunitaria del organismo frente a esta vacuna.

Su trabajo lo resume en las siguientes conclusiones:

"La hialuronidasa acelera e intensifica la dispersión local y general de la vacuna B.C.G. la producción de lesiones cutáneas de la vacunación y de la sensibilidad a la tuberculina o provoca en ocasiones infección tuberculosa generalizada **sin aumentar la virulencia de la vacuna**".

"La hialuronidasa hace que la vacuna B.C.G. produzca una resistencia específica ligeramente mayor frente a la infección tuberculosa que la vacuna B.C.G. sola".

"La acción sinérgica de la hialuronidasa y la vacuna B.C.G. produce prolongadas lesiones cutáneas ulceradas, hiperplasia linfo-ganglionar y a veces infección tuberculosa generalizada en los cobayos, y de ahí que no deba usarse la combinación en el hombre".

A pesar de estas conclusiones y, de que en una de ellas, nos habla sobre la ninguna acción que tiene esta combinación en la virulencia de la vacuna, es interesante anotar que en los estudios hechos por Birkhaug encontró los siguientes datos:

Realizada la necropsia de cobayos vacunados con B.C.G. y hialuronidasa, después de tres a seis meses de la vacunación, tomó los nódulos linfáticos y los órganos viscerales de estos animales de experiencia para realizar cultivos de bacilos ácido resistentes, llegando a formarse numerosas colonias toscas de estos bacilos. Posteriormente reinoculó hasta 10 miligramos de estos cultivos en cobayos normales, sin llegar a producir tuberculosis generalizada durante los siguientes seis meses y el cuadro patológico general era igual al de los animales inoculados con B.C.G. rutinariamente y necropsiados tres a seis meses después de una inoculación similar. En definitiva no hubo evidencia de la alteración de la virulencia en el organismo, por la asociación B.C.G. hialuronidasa.

Nosotros, preocupados siempre por obtener inoculaciones diagnósticas de myco-bacterium tuberculosis en un tiempo menor del habitual y, conocedores de los resultados obtenidos por Bergqvist y Birkhaug, trataremos de hacer un estudio experimental en cobayos inoculados bacilos tuberculosos simultáneamente con hialuronidasa.

En favor de que esta asociación pueda determinar una infección tuberculosa en menor tiempo que la producida por la inoculación de bacilos solos, se encuentra el hecho perfectamente establecido de que la hialuronidasa acelera e intensifica la difusión de cualquier substancia inoculada con ella.

En oposición a la hipótesis planteada, se encuentra el hecho, también probado, de que la hialuronidasa no exagera la virulencia del germen.

**TUBERCULINA.**—La tuberculina es una sustancia proteica, producida por el *myco-bacterium tuberculosis* y que determina una reacción específica en los organismos que han sido infectados por el bacilo tuberculoso.

Se la conoce desde 1890, en que descubrió Roberto Koch. Este descubrimiento se realizó por la búsqueda que este autor hacía de una vacuna para la tuberculosis: observó que en organismos tuberculosos, la reinoculación con bacilos muertos producía una zona de necrosis de rápida aparición, la que pronto curaba (fenómeno de Koch, ver más adelante) Igualmente creyó que las repetidas reinoculaciones con bacilos muertos provocaban una curación de las primitivas lesiones tuberculosas o por lo menos una detención de las mismas. Sin embargo Koch no se satisfizo con este procedimiento, pues como él decía: "Dichas suspensiones de bacilos muertos no son eprovechables en la práctica, porque éstos no son absorbidos ni eliminados por otras vías, sino que permanecen durante largo tiempo sin sufrir alteración en el sitio de inoculación, y producen abscesos más o menos grandes". Estas consideraciones le guiaron a intentar extraer la sustancia activa que producían los bacilos, con lo que obtiene la tuberculina, que se la conoce hoy como tuberculina antigua de Koch, siendo el procedimiento del que se valió el siguiente: Utilizó el cultivo de bacilos en caldo glicerinado, cultivo que lo mantuvo por dos meses, procediendo luego de este tiempo a dar muerte a los bacilos mediante la ebullición, somete el líquido así obtenido a la evaporación en una estufa a 38°C. hasta que su volumen quede reducido al décimo, terminando su preparación mediante la filtración del líquido así obtenido en una bujía. En esta forma obtuvo la llamada "Linfá de Koch", que se presenta como un líquido amarillo oscuro, transparente, siruposo, de olor suigéneris, que se altera fácilmente por acción del oxígeno del aire. Este líquido está compuesto por las toxinas del bacilo y por los componentes del medio de cultivo.

El principal interés de Koch al aislar la tuberculina fue, como dijimos, el encontrar un agente terapéutico para la infección tuberculosa, experimentos que concluyeron con un fra-

caso. Sin embargo ya este investigador anota las reacciones focales y generales que la inyección subcutánea de tuberculina producía en los organismos infectados con el *myco-bacterium tuberculosis*, en contraposición con la falta de reacción en los organismos normales. Cabe anotar que pasó desapercibida a la observación de Koch la reacción local que la tuberculina provocaba en el organismo tuberculoso, pese a lo que ya recomienda su empleo como medio diagnóstico en la tuberculosis.

Fueron Epstein y Escherich quienes por primera vez anotan la reacción local a la tuberculina, siendo particularmente notables los estudios de Escherich, quien a esta reacción llama *Stichreaktion*, llegando a la conclusión de que la piel de los organismos tuberculosos reaccionaba de un modo específico a la tuberculina en el sitio de la inyección, no siendo esta reacción debida a una infección secundaria o a una irritación no específica. Establece además que la reacción tiene valor diagnóstico para indicar si el sujeto es o no primoinfectado y no decidiendo si una afección clínica es tuberculosa. Adbirtió además que las grandes dosis de tuberculina son nocivas en los organismos tuberculosos.

Más tarde, estudios de otros investigadores, llegan a la conclusión de que prácticamente todos los tejidos del organismo tuberculoso poseen hipersensibilidad a la tuberculina, realizándose una serie de variantes en la forma de aplicación de la tuberculina con fines diagnósticos, algunos de los cuales son de tan fácil realización, que permitieron la generalización de este medio de diagnóstico, considerado hoy en día como indispensable en todos los centros médicos.

La Tuberculina Antigua, contiene además de las toxinas del bacilo, una serie de sustancias extrañas, procedentes del caldo glicerinado lo que determinaba que la reacción provocada en los organismos ante la presencia de esta sustancia, no necesariamente indica la respuesta específica a la presencia de tuberculosis, pudiendo presentarse reacciones de hipersensibilidad de otro tipo y como respuesta a cualquier de las otras sustancias. Para evitar estos inconvenientes y tratando además de investigar la naturaleza de las toxinas, se han realizado una enorme cantidad de variantes en la obtención de la tuberculina, siendo la primera debida al propio Koch, llamada Nueva Tuberculina, y que se la obtiene haciendo la suspensión de ba-

cilos finamente molidos en una solución al 50% de glicerina y agua. El resto de la enorme variedad de tuberculinas obtenidas, podemos decir que en esencia son iguales a la Tuberculina Antigua.

En los últimos años se ha llegado a la conclusión de que la tuberculina corresponde tan sólo a una de las tuberculoproteínas del bacilo de Köch. Es la Dra. Florence Seibert, de Filadelfia, quien por primera vez llega a aislar en estado de relativa pureza la tuberculina, a la que le da el nombre de PPD. (Derivado proteínico purificado).

Para la preparación del PPD los bacilos tuberculosos se cultivan en un medio exento de proteínas (medio glicerinado o de Sauton modificado). Este cultivo se lo mantiene por cinco o seis semanas, al cabo de las que se da muerte a los bacilos por el calor, procediéndose a separarlos por filtración a través de papel filtro y bujías Berkefeld. De esta manera en el líquido obtenido se encuentran tan sólo las proteínas provenientes de los bacilos. Luego por filtración a través de membranas de 7% colodión, las sales, la glicerina, etc., son separadas y el líquido resultante, concentrado, es una dilución de proteínas. Por fin mediante la precipitación con ácido tricloracético se obtiene esta proteína en forma de polvo, como un producto casi puro de tuberculina.

Para los usos clínicos, la tuberculina así obtenida debe ser estandarizada, para lo que se hace la comparación con un patrón internacional, obteniéndose así una potencia exacta del producto. El PPD se mide en unidades internacionales. Una unidad internacional de PPD (UI) es igual a 1/100 mgr. de tuberculina antigua Standar internacional, o a 1/50.000 mgr. del PPD Standar.

Cabe anotar que existen algunas diferencias entre las tubérculo-proteínas de los distintos tipos de bacilo de Koch: aviario, bobino, humano, las que sin embargo no son tan notables como para ser tomadas en cuenta en la práctica. Las tubérculo-proteínas son hidrosolubles, habiéndose llegado a aislar dos o tres de éstas, de las cuales por lo menos una es el principio activo de la tuberculina. El PPD (Purified Protein Derivative), parece ser el responsable de las reacciones de hipersensibilidad. Se calcula que este PPD tiene un peso molecular de 16.000, conteniendo un 4,4% de sacáridos y un 3% de ácido nucleico.

## FENOMENO DE KOCH.—HIPERSENSIBILIDAD.— REACCION TUBERCULINICA

Las primeras noticias que tenemos en lo referente al estudio de la hipersensibilidad, son los estudios de Jenner, quien observó que la inoculación del virus de la vacuna en personas que habían tenido ya esta infección o habían sido previamente vacunadas producía una reacción más rápida e intensa, de tipo local, que en las personas no vacunadas o que no habían sufrido la infección. Sin embargo, a pesar de la enorme trascendencia de los estudios de Jenner, poca importancia se dió al hecho en sí de la hipersensibilidad, dándose gran relieve al problema de la inmunidad. Es más tarde cuando Koch publica sus estudios sobre la tuberculosis y esencialmente sobre la reinfección tuberculosa, hecho que hoy conocemos como "Fenómeno de Koch", que se inicia una etapa de estudios y descubrimientos sobre la hipersensibilidad. Koch relata así sus experiencias a este respecto:

"Si un cobayo normal es inoculado por un cultivo de bacilos tuberculosos, la herida por lo general, cierra y en pocos días cura. Después de diez a catorce días aparece un nódulo firme, que pronto se abre, formando una úlcera, que persiste hasta que el animal muere. Completamente diferentes es el resultado si un cobayo tuberculoso es inoculado con bacilos tuberculosos. Para estos trabajos es mejor emplear cobayos que han sido infectados cuatro a seis semanas antes; en dicho animal la pequeña herida de la inoculación cierra al principio, pero en este caso no se forma el nódulo; al segundo día, sin embargo, una alteración peculiar aparece en el sitio de la inoculación: comienza a endurecerse y toma un color oscuro, no quedando estas lesiones limitadas al sitio de la inoculación, sino que se difunden para comprender una área de 0,5 a 1 cm. de diámetro. En los días que siguen se hace evidente que la piel alterada está necrosada. Finalmente, cae, dejando una úlcera superficial, que por lo general cura rápidamente y permanentemente, y los ganglios linfáticos regionales no son afectados. La acción del bacilo tuberculoso sobre la piel del cobayo normal es enteramente diferente de la acción en el cobayo tuberculoso. Este efecto sorprendente es producido no sólo por los bacilos tuberculosos vivos, sino también por los bacilos muertos, ya sea por ebullición prolongada, por baja temperatura, o por ciertas sustancias químicas".

Estudios posteriores demostraron que la acción local de la reinfección tuberculosa dependía del número de bacilos con que se hacía esta reinoculación, pues si eran en menor cantidad, no se producía la necrosis del tejido, produciéndose simplemente una inflamación local acelerada. Se llega así a una era de estudios y rápidos progresos en el campo de la hipersensibilidad a las heteroproteínas: anafilaxia, fenómeno de Arthus, enfermedad del suero, asma, fiebre del heno.

En 1907 von Pirquet estudiando la reacción producida por la vacuna, descubierta por Jenner cien años antes, da la denominación de alergia a este fenómeno, término que quería significar reacción acelerada. Más tarde hace estudios sobre la tuberculina, la que aplica en área escarificada de la piel en sujetos tuberculosos y sujetos normales, observando la reacción local que se producía en el primer caso, dando así lugar a una prueba de diagnóstico en los casos de infección tuberculosa. Hay que anotar, sin embargo, que este fenómeno ya había sido visto por Koch años antes, quien no le dió valor como prueba de diagnóstico, pues él buscaba hacer el tratamiento de las lesiones tuberculosas por este medio.

Existen varias formas de hipersensibilidad, las que en apariencia son totalmente diversas entre sí, como por ej: la anafilaxia, el fenómeno de Arthus, la fiebre del heno, eczema, enfermedad del suero, hipersensibilidad tuberculínica, etc., pero en el fondo diremos que tienen un fundamento común dependiendo sus variaciones tan sólo de la diversa reactividad de los tejidos y la calidad de las heteroproteínas que la provoquen. El fundamento común que existe es la producción de anticuerpos ante la presencia de una proteína extraña no digerida, anticuerpos que son diferentes para cada clase de heteroproteína de que se trate.

**ANAFILAXIA.**—La penetración de una heteroproteína al organismo por vía parenteral comúnmente, pudiendo hacerlo por cualquier otra vía, provoca un estado de hipersensibilidad, que ante un nuevo contacto con dicha proteína, si es que ésta encuentra rápidamente la vía hemática, provoca un colapso brusco del organismo, colapso que puede llevar a la muerte rápidamente. Este es el llamado Shoch anafiláctico. Cuando la nueva penetración de la heteroproteína no se hace en cantidad

suficientemente grande o el organismo no se encuentra muy sensibilizado, no se provocará la reacción anterior, sino que se limitará a un estado de inflamación aguda, edema generalizado, urticaria. Cuando el individuo sensibilizado se le inyecta en la piel el alérgeno (heteroproteína sensibilizante), se provocará rápidamente una reacción localizada, caracterizada por una pápula y eritema. Como ya dijimos, esta reacción a una heteroproteína, que en el sujeto normal no provoca ninguna reacción, se debe a la formación de anticuerpos a dicha proteína, provocándose contracción espasmódica de ciertos músculos involuntarios y aumento de permeabilidad capilar. El anticuerpo así formado, puede ser demostrado en la sangre y aún más puede ser transmitido de un sujeto hipersensible a uno no sensible, mediante la inyección de suero.

FENOMENO DE ARTHUS.—El fundamento del fenómeno de Arthus es la inyección repetida en días sucesivos de una proteína extraña por un cierto período de tiempo. Si después de esto inyectamos intravenosamente esta proteína extraña se provocará la ya conocida manifestación local: pápula y eritema local rápidos, los que sin embargo no desaparecerán como en el caso anterior sino que más luego se producirán petequias, aumento de tamaño, apareciendo finalmente necrosis de dicha zona. Es pues una reacción local rápida, prolongada y de mayor intensidad que la simple reacción anafiláctica. En este caso como en el anterior, la precipitina específica puede ser demostrada en el organismo hipersensible, pudiendo así mismo ser transmitida a sujetos normales.

Igual resultado se obtiene con la inyección única de gran cantidad de heteroproteína directamente a la circulación, lo cual nos hace ver que la reacción de Arthus no es sino una reacción anafiláctica magnificada. En igual forma en el organismo que se encuentra sensibilizado según el tipo Arthus, cuando realizamos la inyección de la proteína directamente a la circulación, provocaremos un shock anafiláctico. Depende pues este tipo de reacción de la mayor cantidad de precipitinas específicas que se han formado en el organismo, y así mismo de este mayor número de precipitinas la intensidad de la reacción.

HIPERSENSIBILIDAD TIPO POLEN.—En esta denominación podemos asimilar las formas de hipersensibilidad del tipo

eczema, asma, fiebre del heno. Este es el tipo de hipersensibilidad muy similar al anafiláctico, siendo su principal diferencia en la vía de introducción de la heteroproteína, pues vemos que si en sujeto sensibilizado inyectamos el alérgeno intradérmico, provocaremos la típica pápula y el eritema. Además si la inyección la hacemos directamente al torrente circulatorio podemos provocar el Shock anafiláctico o urticaria generalizada, similar a la enfermedad del suero. La precipitina específica en este caso no es posible demostrarla en el suero, pero sí puede ser transmitida a un sujeto normal mediante la inyección de suero. La especial reactividad de ciertos tejidos en este caso, como serían mucosa pituitaria, bronquial, músculos de Reissesen, etc., está influida tan sólo por la vía de penetración del antígeno.

En resumen podemos decir que la diversa reactividad del organismo frente a las heteroproteínas en estos tres tipos de hipersensibilidad dependerá de los siguientes factores: 1º Ruta por la que el antígeno penetra en el organismo en el primero y subsiguientes contactos; 2º Cantidad en la que el antígeno penetra en el organismo; 3º Grado en el que el organismo se sensibiliza, lo cual depende de los tejidos, y de los organismos y especies; 4º Carácter del antígeno sensibilizante.

**HIPERSENSIBILIDAD TUBERCULINICA.**—Bajo esta denominación podemos comprender algunos tipos de hipersensibilidad bacterianos, desde luego, especialmente, al bacilo de Koch. La diferencia fundamental con los anteriores, estriba en que es necesaria la presencia del bacilo en el organismo, pudiendo encontrarse vivo o muerto y en otros casos atenuado, como en la vacunación con B.C.G. En el caso de no encontrarse el bacilo presente en el organismo y querer sensibilizar a dicho organismo sólo con sus toxinas, por ejemplo, con la tuberculina, vamos a provocar simplemente un fenómeno de anafilaxia. Las particularidades de esta reacción son las siguientes: Al inyectar intradérmicamente tuberculina en el organismo tuberculizado, no vamos a encontrar la pápula rápida e inestable y el eritema como en los casos anteriores, sino que la reacción que se produce es tardía, después de algunas horas, progresando hasta alcanzar su máximo a las 24-48-76-92 horas, desapareciendo después lentamente. Esta reacción está caracterizada por eritema y una tumefacción dura que difiere de la tumefacción blanda que se encuentra en los tipos anteriores.

Puede en los casos muy intensos ir aún a la necrosis y ulceración de la piel. Igualmente, cuando la tuberculina penetra al sistema circulatorio, se produce una reacción retardada, que puede aún llevar a la muerte, contrastando con el colapso brusco que se provoca en la reacción anafiláctica. Se encuentra además como carácter diferencial una reacción inflamatoria en cualquier sitio del organismo donde se encuentren lesiones tuberculosas, lo que es conocido como reacción focal. La precipitina específica no puede ser demostrada en el organismo así sensibilizado, no pudiendo tampoco transferirse este estado de hipersensibilidad a un sujeto no sensible. Cuando in vitro ponemos en contacto células sensibilizadas con este tipo tuberculínico, con tuberculina, estas células mueren, lo cual no sucede en la anafilaxia. Un organismo sensibilizado según el tipo tuberculínico, generalmente no podrá sensibilizarse según los tipos anteriores y viceversa. En los casos de hipersensibilidad tipo tuberculina, ese organismo reaccionará a la introducción de la tuberculina o de bacilos intactos, en tanto que en el tipo anafiláctico, sensibilizado a las proteínas de una bacteria, no reaccionará a la introducción de esa bacteria íntegra.

Por experiencias realizadas en organismos no sensibles a las tubérculo-proteínas, así como al m.b.t., se ha concluido que ni las unas ni el otro provocan reacciones tóxicas en este organismo y así se puede inyectar cantidades de tuberculina directamente al torrente circulatorio, sin que se produzcan manifestaciones de orden tóxico. Igualmente parece que el m.b.t. tampoco provoca reacciones tóxicas mientras el organismo no se encuentra sensibilizado, comprobando lo cual tenemos la enorme proliferación de bacilos en el organismo no sensible, sin provocar, en un primer momento, esta clase de reacciones. Igualmente podemos encontrar gran número de bacilos en los macrófagos, a los que no pueden matar. Por el contrario, cuando se trata de organismos sensibilizados, pequeñas cantidades de tuberculina ya son capaces de producir grandes reacciones de orden tóxico, e igualmente el m.t.b. provoca idénticas reacciones, inclusive matando a los macrófagos que los engloban. Una experiencia que comprueba esto es la siguiente: In vitro, si colocamos células vivas de un organismo no sensible en contacto sea de tuberculina o de myco bacterium tuberculosis, éstas siguen proliferando sin sufrir ninguna alteración; pero si colocamos células de un organismo sensibilizado en contacto con

cualquiera de estas dos sustancias, estas células mueren. Así pues, podemos afirmar que los bacilos o la tuberculina no tienen ningún poder tóxico para el organismo no sensibilizado, tornándose altamente tóxicas para el ya sensibilizado.

La mayor o menor rapidez en la aparición de la hipersensibilidad en un organismo, depende en primer lugar de la mayor o menor susceptibilidad de dicho organismo para recibir el *myco bacterium tuberculosis*, además de la virulencia del germen, del número de gérmenes que penetra, de la vía de penetración y de la capacidad propia del organismo para desarrollar hipersensibilidad.

El tiempo mínimo, experimentalmente comprobado en cobayos, para desarrollar esta hipersensibilidad, va de dos a tres semanas. En humanos no es fácil determinarlo, pues no se conoce el momento en que se realiza la infección, pero sin embargo se ha podido ver que lactantes de pocas semanas, ya presentan reacciones positivas a la tuberculina. Igualmente, en el caso de lactantes de Lübeck, infectados accidentalmente, se pudo observar que la hipersensibilidad más rápida apareció veinte y tres días después de la inoculación con bacilos. En el caso de la inoculación de bacilos atenuados, como sería el BCG, la aparición de la hipersensibilidad demora más tiempo, lo que puede atribuirse antes que a la presencia de toxinas menos sensibilizantes, a que tiene menor capacidad para reproducirse dentro del organismo, que las formas virulentas de bacilos, es decir que en último término viene a constituir simple problema de número, es decir, supone la existencia de mayor cantidad de toxina sensibilizante. Hemos de anotar además, que también puede conseguirse sensibilizar a un organismo mediante la inyección de bacilos muertos, sea por el calor o por algún producto químico, sensibilización que se consigue al igual que con los bacilos vivos, lo cual nos está demostrando que no depende mayormente este fenómeno de toxinas secretadas por los bacilos vivos, sino de toxinas ya existentes en estos organismos.

Otro factor digno de tomarse en cuenta en la rapidez de aparición de la hipersensibilidad es la resistencia natural del terreno, lo que a la final también puede tener su explicación como simple problema numérico, pues, el organismo que no presente resistencia natural a la proliferación de los bacilos, tendrá a más corto plazo un número mayor de bacilos y por

lo tanto de antígeno, lo que le hará más rápidamente sensible que aquel en el que la proliferación de los bacilos estuvo obstaculizada por la resistencia natural. Este hecho tan simple en apariencia, no constituye una regla, pues hay casos, en los que con relativa resistencia natural a la infección, rápidamente se presenta hipersensibilidad, lo que posiblemente se deba a la gran capacidad de ese organismo a desarrollar hipersensibilidad, pese a la resistencia natural que presenta a la proliferación del bacilo. Dentro de esta capacidad del organismo para desarrollar hipersensibilidad está además de la parte constitucional, una serie de factores de orden fisiológico o patológico. Tenemos el caso de las ratas blancas, que aunque son naturalmente resistentes a la infección tuberculosa, se puede conseguir tuberculizarlas, dependiendo del número de bacilos inoculados y de la vía; pero pese a encontrarse tuberculizadas, muy difícilmente presentan reacciones de hipersensibilidad. En el lado opuesto tenemos a los conejos, los que también son naturalmente resistentes a la cepa humana, pese a lo que fácilmente desarrollan reacciones de hipersensibilidad a esta cepa, aun en el caso de inyectar bacilos muertos. En el hombre se han encontrado diferencias raciales para la menor o mayor facilidad con que desarrollan hipersensibilidad y se sabe, tiene mayor facilidad el negro que el blanco para hacerlo. Aun en individuos de la misma raza podemos encontrar diferencias, en ocasiones notables.

Existen otras causas no dependientes de la mayor o menor susceptibilidad del organismo para desarrollar hipersensibilidad. Así en ciertos momentos de la vida puede esta capacidad estar disminuida como en ciertas infecciones interrecurrentes como el sarampión, influenza, estados caquéticos, deshidratación. La acción de la cortisona en el organismo igualmente se ha comprobado disminuye la hipersensibilidad, punto este que tiene que ver con numerosos estados tanto fisiológicos como patológicos.

La vía de entrada también tiene importancia en el establecimiento de la hipersensibilidad. Por vía subcutánea e intraperitoneal es como más rápidamente se consigue la aparición de esta reacción, siendo más tardía por otras vías, incluyendo la endovenosa, la muscular, la digestiva, etc, lo cual puede ser atribuido a la clase de tejidos y a la facilidad de reaccionar de los mismos.

**Fenómeno de Kock.**—Para estudiar este fenómeno habrá que hacerlo comparativamente entre un grupo experimental no sensible y otro hipersensible. Si inoculamos un número igual de bacilos vivos a ambos grupos subcutáneamente, podemos observar que a las pocas horas se inicia una reacción inflamatoria con exudación de líquido y acumulo de polimorfonucleares notándose que el grupo hipersensible este proceso se realiza con mayor rapidez e intensidad, diferencia que conforme pasa el tiempo va haciéndose más notable. Posteriormente se presentan células mononucleares, las que también lo hacen más rápidamente y en mayor cantidad. Los polimorfonucleares se acumulan en los hipersensibles, formando verdaderos abscesos, encontrándose también procesos hemorrágicos y la iniciación de necrosis en el tejido conectivo del epitelio de los vasos y de las mismas células inflamatorias. En los controles o sea en los no sensibilizados, no encontramos ninguna de estas características. El proceso continúa progresando, especialmente la necrosis, que alcanza su máximo entre las 48 a 72 horas, desprendiéndose después el foco necrótico, el que deja una úlcera rodeada de polimorfo y monocucleares, úlcera que cura lentamente. Entre tanto en los controles, hasta ese momento, encontramos un foco inflamatorio mucho más moderado, en el que recién se han hecho presentes los mononucleares y aún no es evidente la necrosis de los tejidos, pero su evolución se alarga, llegando tardíamente a la ulceración por necrosis, cuando ya la hipersensibilidad se ha establecido; igualmente encontramos tempranamente la propagación ganglionar del proceso inflamatorio, hecho este que no lo encontramos en los hipersensibles.

Este fue el hecho descrito por Koch, pero si es que lo repetimos con menor número de bacilos, podemos observar que disminuye la intensidad del proceso, aunque no la rapidez con que éste se presenta. Así la necrosis será menos aparente, pudiendo observarse macroscópicamente la rápida aparición de un nódulo, el que se presenta mucho antes que en los no sensibles y que puede persistir por algún tiempo y hacer su regresión posteriormente.

La reacción histológica provocada por la tuberculina en los organismos hipersensibles, podemos decir que en síntesis es la misma reacción inflamatoria ya conocida: vaso dilatación capilar, la que es seguida de exudación y aflujo de polimorfonucleares y más tarde de mononucleares. Los pasos subsi-

güentes dependen del grado de sensibilización del organismo y de la cantidad de tuberculina inyectada, pudiendo llegar a la necrosis y ulceración consiguiente, seguida, en los casos de gran reacción, de aflujo de células gigantes y epitelioides, sin que podamos decir que en ningún caso estas células sean específicas de esta reacción, representando más bien una reacción a la presencia de tejido necrótico, especialmente las células epitelioides que podemos encontrarlas como una reacción del organismo a la presencia de un cuerpo extraño, como vendría a significar el foco necrótico. En resumen podemos afirmar que la reacción a la tubérculo proteína se asemeja mucho al fenómeno de Kock. La diferencia estriba en que con la introducción del *mycobacterium tuberculosis* se formará el tubérculo y con la tuberculina, no. La formación del tubérculo es una reacción a la presencia de los componentes líquidos del bacilo, y no de sus toxinas, ocurriendo este fenómeno tanto en los organismos sensibles como en los no sensibles e igualmente en presencia o ausencia de necrosis. La tuberculina en los organismos sensibles provoca además de la reacción local una reacción focal en todos los sitios donde se encuentren lesiones tuberculosas. Esta reacción focal es muy semejante a la reacción local descrita, caracterizándose por un proceso inflamatorio agudo el que puede ser seguido de necrosis. Esta reacción focal se debe a que las células y tejidos que rodean al foco tuberculoso poseen un grado mayor de hipersensibilidad que el resto del organismo lo cual hace que su reacción sea igualmente más intensa.

Cuando las tubérculo-proteínas llegan a la sangre en cantidad suficiente, se provocará una reacción general, caracterizada por hipertermia, cefalea, raquialgia, dolores articulares, anorexia y postración. Cuando estas reacciones son muy intensas, y sumadas a las reacciones focales pueden provocar la muerte. Estas manifestaciones desaparecen dentro de las 18 a 36 horas subsiguientes. Es notable observar que los sujetos no sensibles a los que se inocula *mycobacterium tuberculosis*, no presentan ninguna clase de reacción general, como sería fiebre, postración, anorexia, etc., hasta tanto no se haya instalado el proceso de hipersensibilidad, por lo que se puede creer que dichos síntomas sean dependientes de la producción de tubérculo proteínas. Podemos igualmente anotar que mediante la desensibilización por medidas apropiadas en enfermos

tuberculosos, se consigue la desaparición de la sintomatología descrita.

**RELACION DE LA HIPERSENSIBILIDAD Y RESISTENCIA ADQUIRIDA.**—Casi todos los actuales estudios a este respecto parecen confirmar que no son fenómenos dependientes el uno del otro la hipersensibilidad y la resistencia adquirida al *mycobacterium tuberculosis*, aunque por su aparición simultánea en la mayoría de los casos se creyó que eran una sola cosa. Igualmente por no haberse podido probar la existencia de anticuerpos específicos al bacilo tuberculoso, ni tampoco la transmisión pasiva de la inmunidad de organismos tuberculizados a otros normales, se pensó que el mecanismo de defensa se hacía fundamentalmente por la hipersensibilidad. Asimismo, tomando en cuenta que en toda infección son los procesos inflamatorios los que evitan la generalización y que en el líquido inflamatorio se encuentran anticuerpos que intervienen en la destrucción del agente causal, y que los fenómenos de hipersensibilidad se caracterizan fundamentalmente por una inflamación acelerada, se pensó era este fenómeno el que daba la resistencia relativa del organismo.

Todos estos argumentos han sido seriamente objetados en la actualidad. Así se ha comprobado que en ciertos casos aparece la resistencia relativa mucho más rápidamente que la hipersensibilidad, como por ejemplo en los casos en que se hace una inoculación por vía venosa. También se ha llegado a desensibilizar a organismos tuberculosos mediante repetidas reinoculaciones de pequeñas cantidades de bacilos por vía venosa (uno de los métodos más efectivos para la desensibilización es la repetida inyección por vía venosa del antígeno), sin que se compruebe al mismo tiempo una baja de la resistencia del organismo.

El hecho ya conocido de que ni el *mycobacterium tuberculosis* ni la tuberculina tienen mayor poder tóxico sobre el organismo normal y que en cambio en el sensibilizado se convierten en venenos poderosos, matando a las células tanto *in vitro* como *in vivo*, como lo prueba la rápida necrosis que se produce en el fenómeno de Kock o en la inyección de una cantidad un tanto mayor de tuberculina, parecen ser los mayores argumentos en contra de la relación o dependencia de los fenómenos de hipersensibilidad y resistencia. Existen además numerosos he-

chos tales como la baja de las reacciones de sensibilidad que acompañan al mejoramiento del complejo primario, fenómeno igual que se aprecia en ciertas tuberculosis generalizadas hematógenas, que nos llevan a pensar que se tratan de dos fenómenos independientes.

**MÉTODOS EMPLEADOS PARA BUSCAR LA HIPERSENSIBILIDAD.**—Se conoce un gran número de procedimientos y métodos, el fundamento de todos los cuales, es la reacción de un organismo o tejido frente a la tuberculina, reacción que dependerá de que el mismo se encuentre o no sensibilizado al *Mycobacterium tuberculosis*.

Las pruebas a la tuberculina pueden clasificarse en la siguiente forma:

- ¡Prueba intra cutánea (Mantoux)
- ¡Prueba subcutánea local (Stichreaktion)
- ¡Percutánea (prueba de Moro o dermatubina)
- ¡Prueba cutánea (von Pirquet)
- ¡Prueba subcutánea
- ¡Prueba conjuntival.

Las pruebas que más aceptación han tenido son la intracutánea de Mantoux y la cutánea de von Pirquet por ser estas dos las que mayor número de casos positivos arrojan e igualmente por la sencillez de su realización. La de Mantoux tiene la ventaja de que la cantidad de tuberculina empleada puede ser medida en forma exacta y permite así mismo una evaluación cuantitativa de la reacción.

Entre las otras pruebas, hay algunas que ofrecen mayores facilidades para su realización, por lo que tienen sus indicaciones especiales, como sería su empleo en Pediatría. La dermatubina emplea en lugar de tuberculina pura, una suspensión de bacilos muertos en un filtrado glicerinado de tuberculina concentrada.

En muchas ocasiones podemos toparnos con resultados falsos en la realización de estas pruebas, y así podemos obtener falsas reacciones positivas o negativas. Haremos un ligero recuento de estas posibles causas de error:

**Falsas reacciones positivas.**—Prácticamente podemos reducir las a dos causas: presencia de otras enfermedades infecciosas como sería la lepra, artritis, actinomicosis, blastomicosis

y ciertos estados de debilitamiento. La otra causa sería la sensibilización de tipo anafiláctico a la tuberculina, cuando se han realizado varias pruebas. Cabe anotar, sin embargo, que esta no es frecuente y actualmente casi la podemos descartar con el empleo del PPD que muy raramente o nunca da este tipo de sensibilización. Además es fácilmente descartable por el tipo y los caracteres mismos de la reacción.

**Falsas reacciones negativas.**—Pueden depender de la cantidad insuficiente de tuberculina utilizada. Otra causa es que el organismo tuberculoso aún no se encuentra sensibilizado y está, podríamos decir, en estado de latencia, el mismo que puede durar hasta algunos meses en ciertos casos.

Sabemos que en ciertas formas de tuberculosis como la meningitis, diseminación miliar, estados de toxemia, etc., las reacciones son negativas con el empleo de las dosis corrientes de tuberculina, obteniéndose las más de las veces reacción positiva con mayores dosis.

En ciertas infecciones interrecurrentes como neumonía, sarampión, escarlatina, tos ferina, difteria, tifoidea, sífilis secundaria; o algunos estados fisiológicos o no como el embarazo, lactancia, exposición a la luz ultravioleta, vacunación tifoidea, anestesia general, etc., podemos obtener falsas reacciones negativas, los que se tornan positivas con el empleo de concentraciones más fuertes de tuberculina.

Estos hechos nos hacen pensar que más que una pérdida de la hipersensibilidad, tenemos una disminución de la reactividad cutánea.

Para la interpretación final, cabe asimismo descartar todos los errores de técnica y especialmente el empleo de material inadecuado.

## **RESPUESTAS ORGANICAS A LA ADMINISTRACION DE B. C. G.**

1.—VACUNACION ANTITUBERCULOSA.— RECUENTO HISTORICO.—B. C. G.—A partir del descubrimiento hecho por Koch, del agente etiológico de la Tb. numerosos investigadores se dedican a buscar un método de vacunación contra esta

enfermedad, basándose en vacunas contra otras afecciones. Es así como, se emplean bacilos muertos, vivos, atenuados o diferentes productos derivados del germen.

Conozcamos algunas de esas importantes experiencias:

**VACUNACION POR BACILOS MUERTOS.**—Muchos son los científicos que tratan de producir inmunidad para la Tb. mediante la inyección de bacilos muertos. La única diferencia que se encuentra entre todos estos métodos es el mecanismo por el que dan muerte a los bacilos. Así: Straus utiliza la ebullición y sostiene que en el conejo llega a establecer un estado de refractariedad para la Tb. Dembinski, confirma la tesis anterior al evitar la muerte de un conejo que ha recibido una inyección endocerebral de dos miligramos de bacilos muertos, cuando previamente se les inmuniza con el mismo material, por vía endovenosa, con un miligramo, en tanto que sin la dosis inmunizante fallecían a las 24 o 48 horas. Sin embargo, Sternberg, confirma que al inyectar endovenosamente bacilos muertos por ebullición al cobayo o al conejo se observa la formación de abscesos miliares en distintos órganos, como consecuencia de la liberación de toxinas al desintegrarse los bacilos. Posteriormente, Di Donna emplea bacilos muertos mediante el sol; Mousseu y Gompil con el cloro; Loeffler y Matsda tratan los bacilos previamente con el frío y luego por el calor (70°C. durante 9 a 15 días). Luego Maragliano aplica una suspensión bacteriana concentrada, glicerinada con bacilos virulentos muertos, mediante escarificaciones en el brazo. Es el primero en utilizar la vacuna antituberculosa en humanos, desde luego sin conseguir resultados eficaces.

Posteriormente, basándose en los trabajos de Di Donna-Henry y Schrotter, que utilizaron medios físicos para matar al bacilo, son muchos los autores que encontraron varios procedimientos, gracias a los cuales no solamente muere el bacilo, sino que también queda privado de sus porciones tóxicas (grasas o lipoides generalmente) así por ejp. Fontés utiliza fermentos excitantes en los ganglios y bazo; Vallée, agua yodada, Rappin, fluoruro de sodio; Noguchi, oleato de sodio u oleato de neurina; y muchas otras substancias empleadas por diferentes autores. Otros tratan de modificar al germen durante su desarrollo, con ese fin Levy-Blumenthal y Marxner agregan la úrea a los medios de cultivo y Rabinowisch el formol.

Todas estas experiencias aunque han determinado cierta resistencia en los animales de experimentación, podemos decir que en definitiva han fracasado, pues se llegó a establecer, por experiencias hechas en vacunas, que la resistencia obtenida solamente evitaba la aparición de procesos agudos, rápidamente mortales, determinando un curso crónico a la infección.

**VACUNACION POR BACILOS VIVOS.**—En vista de que los bacilos muertos no establecen una manifiesta inmunidad, otros científicos emplean bacilos vivos con la misma finalidad.

Cavagnis, en 1886, parece ser el primero en usar bacilos vivos (esputos tb. suspendidos en agua fenicada, administrados en dosis crecientes). Luego en 1889 Mafucci, establece la importancia que puede tener en la vacunación, el tipo de bacilo y preconiza el uso del bacilo bovino para la vacunación humana. Behrin introduce el método de la "bovovacunación" (vacunan animales bovinos con bacilos "tipo humano" conservados por varios años en laboratorio). El mismo que es descartado porque los animales eliminan en la leche, heces y orina, durante mucho tiempo, los bacilos. Además la inmunidad no duraba más de 12 a 14 meses. Koch y Schultz reciben las mismas objeciones que el anterior a su método ("Tauroman" (vacunan bovinos con suspensión de bacilos tipo bovino avirulentos), Klimer prepara su vacuna a partir de bacilos humanos existentes en órganos de salamandra (previamente infectada), en una suspensión atenuada por el calor. Con este método cree haber obtenido una vacuna preventiva y curativa para la Tb. en humanos y cobayos. Friedman en 1903, descubre el bacilo de su nombre (aislado de una tortuga de agua del acuario de Berlín, desprovisto de patogenicidad para los mamíferos y otros animales de sangre caliente) con el cual reproduce lesiones típicas de la Tb. en el cobayo. Más tarde Orth en 1907 emplea este bacilo para preparar vacunas de valor preventivo y terapéutico. Su eficacia ha sido discutida por muchos autores sin que se haya llegado a probar su valor. Ferrán en 1897, prepara su vacuna "antialfa" con numerosas cepas de gérmenes alfa y epsilon (primero y último estados del bacilo de Koch encontrados en su mutación morfológica y biológica no ácido resistentes y que se cultivan con facilidad).

Sin embargo, ninguna de estas vacunas resuelve el problema de la profilaxis de la Tb., correspondiente a Calmette y Guérin el privilegio de solucionarlo.

Estos eminentes bacteriólogos, entre 1908 y 1909, al estudiar el cultivo del bacilo de Koch, descubrieron que se atenúa la virulencia del mycobacterium Bobis al desarrollarse en medios con bilis de buey. Demostraron que la inyección de 100 miligramos, de un cultivo en papa biliada a un bovino provoca en él una infección general de tipo tífico que después de 20 días de evolución cura sin dejar lesiones anatómicas en los órganos.

Tres miligramos de bacilo de Koch virulento generalmente produce una tb. miliar que evoluciona en un mes, al inyectar en un bovino. Calmette inocula a uno de los bovinos tratados previamente con bacilos biliados 3 miligramos de bacilos no biliados y el animal no presentó niugún signo de Tb.; logrando sobrevivir 18 meses; en la necropsia no se encontraron lesiones tuberculosas, pero la inyección de la maceración de ganglios produce en cobayos una tb. común. El autor interpreta este resultado afirmando que los bacilos de Koch virulentos no han logrado desarrollar la infección por el estado de resistencia que ha adquirido el animal gracias a la inyección del bacilo biliado. Explica la virulencia del macerado de ganglios por la persistencia en ellos del bacilo tb. en forma latente. Estos hechos llevaron a Calmette y Guerin a preparar el bacilo biliado que lleva su nombre.

La cepa originaria proviene de un cultivo de bacilos tipo bovino, virulento, que ha perdido su virulencia por haber sido cultivado en papa con bilis de buey y glicerina al 5%; con la circunstancia especial de haber sufrido esta cepa 230 pasajes en el transcurso de 13 años. Durante este tiempo los autores demuestran que la pérdida de virulencia se hacía gradualmente y que el medio óptimo para obtener esta modificación es la papa saturada de bilis. Después de los primeros cuatro años de esta experiencia, observaron la disminución de la virulencia para el bovino y cobayo, pero seguía siendo patógeno para el caballo y conejo. Continuaron haciéndose las resiembras cada quince días hasta llegar a los 230 pasajes, cuando constataron que la virulencia se había perdido por completo para todos los animales de laboratorio, aún empleando dosis elevadas y sea cual fuere la vía de inoculación. Además abservaron que la siembra de este bacilo modificado en los medios comunes (papa glicerinada, medio de Sauton o medios con huevos), no le permiten recuperar su virulencia.

Calmette y Guerin, por fin preparan su vacuna actualmente conocida como B.C.G. (Bacillus Calmette Guerin), para uso humano, en 1921, en el Instituto Pasteur de París. Desde ese entonces se viene utilizando, en forma creciente, esta vacuna para la profilaxis de la tb. en los humanos. Pudiendo afirmarse que en la actualidad es uno de los medios más eficaces con que cuenta la Medicina en su lucha contra la Tb.

Calmette y Guerin y sus colaboradores hicieron un estudio detallado de los caracteres morfológicos, culturales y patógenos del B.C.G., que a decir de ellos es una variedad microbiana de caracteres fijos.

Morfológicamente es más largo, más delgado y contiene más granulaciones que los bacilos de tipo bovino, de los cuales proviene. Conserva las propiedades ácido resistentes, es decir se tiñe en rojo por el método de Ziehl Neelsen. Dar Zine, establece las diferencias entre los bacilos humano y bovino con el B.C.G. mediante la impregnación argéntica mientras los dos primeros presentan una membrana negra de plata reducida y un contenido amarillento, el B.C.G. no tiene esa membrana externa y se colorea sólo de amarillo, al igual que los microbios comunes.

Sus cultivos en papa glicerinada se presentan en forma de masa cerebroidea amarillenta, húmeda y poco confluyente. Al sembrar un trozo de película proveniente del medio anterior, en medio de Sauton se forma una capa espesa, blanca que se refleja sobre las paredes del tubo.

Y, por fin, al explicar la acción patógena experimental del B.C.G. llega a la conclusión definitiva que es absolutamente INOCUO, puesto que no provoca lesiones tb. activas.

En síntesis podemos definir al B.C.G. diciendo que es UNA CEPA ESPECIAL DE GERMENES TB BOVINOS CON CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS, CULTURALES Y PATOGENAS ESPECIFICAS, ENTRE LAS QUE SE DESTACA SU AVIRULENCIA INMUTABLE.

ACCION DEL B.C.G. EN EL ORGANISMO DE LOS SERES VIVOS.—Esta es diferente según se considere en organismos reactivos o no a la tuberculina.

Al administrar B.C.G. a un organismo no reactor a la tuberculina, por cualquier vía (oral, subcutánea, intraperitoneal,

intravenosa, etc.), determina en esta la formación de anticuerpos específicos para el m.b.t. Es decir, ha provocado una primo infección tuberculosa, artificial. Una vez introducido el B.C.G. al organismo puede dar: una reacción local, caracterizada en el sitio de la inyección por una tumefacción, cuando se usa la vía subcutánea, en ocasiones puede formarse un verdadero absceso que se ulcera al cabo de unos 10 días y que cicatriza en corto tiempo. Una reacción regional constatable por la hipertrofia de los ganglios correspondientes maxilares, mesentéricos, etc.), y, a veces reacciones de tipo general como elevación térmica por ej. En todo caso ninguna de las manifestaciones expuestas representan un peligro para la persona que las presentaran, ya que son pasajeras y no traducen la presencia de infección tuberculosa.

Cuando el B.C.G. se administra a reactivos positivos a la tuberculina, la respuesta orgánica es diferente. Solamente se observan fenómenos locales. Cuando es inyectado el B.C.G. por vía subcutánea determina una infección eritematosa en torno al sitio de la vacunación que aparece uno o dos días después de practicada ésta, teniendo como característica el ser muy parecida a una infección producida por gérmenes patógenos. En ocasiones en vez de tumefacción puede formarse un absceso que posteriormente se ulcera. Esta reacción determinada por la presencia del B.C.G. en organismos sensibles a la tuberculina (es decir organismos que han sufrido la infección primaria tb, natural o artificial), se conoce con el nombre de fenómeno de Koch.

FUNDAMENTO DE LA VACUNACION ANTITUBERCULOSA CON B.C.G.—Tratando de obtener una substancia curativa para la tb, Koch aisló la "tuberculina vieja" y observó que al administrarla por vía subcutánea a un organismo vivo, éste reaccionaba de diferente manera según haya sido o no infectado por el m.b.t. Cuando el organismo es virgen a la infección tuberculosa no presenta reacción alguna; en cambio cuando ha sido previamente infectado por el bacilo de Koch, acusa una reacción inflamatoria local en el sitio de la inyección.

Posteriormente este fenómeno ha sido interpretado de la siguiente manera:

Un organismo vivo al ser infectado por primera vez por el m.b.t., no tiene mecanismos de defensa específicos para ope-

nerse a esa invasión, su organismo responde dando lesiones locales, regionales (ganglionares) y generales a consecuencia de la diseminación linfática y hemática de los bacilos; y da lugar a la formación de anticuerpos específicos del m.t.b. Como consecuencia de esta infección, el ser vivo puede morir o no (dependiendo de la virulencia y número d bacilos, así como el estado de resistencia natural del receptor). En todo caso este organismo ha quedado provisto de un sistema específico de defensa ante la infección tb, **lo que se pone de manifiesto por la reacción positiva ante la tubérculo proteina.**

Si a este organismo receptor positivo para la tuberculina, vuelve a invadir el m.b.t. se encuentra con anticuerpos específicos que impiden su acción patógena, es decir, se ha producido una resistencia relativa, por cierto, a la reinfección tb.

De lo expuesto se ha comprobado que todo organismo primoinfectado se encuentra en menor posibilidad de contraer la enfermedad tuberculosa. Esta circunstancia llevó a muchos científicos a tratar de producir resistencia artificial a la tuberculosis, lo que se consiguió mediante la administración de B.C.G., prueba de lo cual es la reacción positiva a la tuberculina que dan todos los seres vivos que han recibido B.C.G.

En definitiva, podemos resumir lo expuesto, diciendo que el fundamento para el uso de B.C.G. en la vacunación anti tb, consiste en el hecho de que el B.C.G. determina en el organismo vírgen la primo infección tb, en forma artificial, mediante la introducción de bacilos vivos avirulentos que van a determinar la formación de anticuerpos específicos para el m.b.t., con lo cual se obtiene la inmunidad para la tb.

Desde luego, es necesario anotar que la inmunidad conferida por el B.C.G. no es absoluta, como tampoco lo es la establecida por otras vacunas (viruela, tifoidea, etc.). Si el organismo vacunado sigue en contacto permanente y masivo con focos infecciosos y hay déficit en su estado general es posible que contraiga la enfermedad, no obstante ello numerosos estudios han comprobado que aun en ese caso la enfermedad reviste menos gravedad que la presentada por reactores negativos a la tuberculina en las mismas condiciones.

En el momento actual, en relación a la vacunación por el B.C.G. se han establecido las siguientes conclusiones:

- 1) Una persona que ha recibido B.C.G. está en mejo-

res condiciones para reaccionar favorablemente ante la infección tuberculosa.

- 2) La resistencia relativa para la tb. conferida por el B. C.G., es mayor que la proporcionada por la primo-infección natural, ya que ésta es determinada por bacilos virulentos (de poder y dosis desconocidos), en tanto, que con el B.C.G. se produce la infección primaria con un germen de calidad y dosis conocida, que en ningún momento puede producir la enfermedad en el huésped que lo alberga.

### **CONDICIONES NECESARIAS PARA LA VACUNACION CON B.C.G.**

- 1.—Tener la absoluta seguridad que la cepa es de caracteres estables y completamente inocua. Con este objeto, en la actualidad los laboratorios donde se cultiva el B.C.G. son exclusivamente destinados a este trabajo y su personal es cuidadosamente controlado a fin de impedir la presencia de una persona bacilífera. Por fin ninguna vacuna es utilizada hasta que no se hayan verificado las pruebas de esterilidad y pureza.
- 2.—La vacuna debe usarse dentro de los primeros quince días posteriores a su preparación.
- 3.—Debe usarse la vacuna B.C.G. en personas que previamente han demostrado ser no rectoras a la tuberculina; esto implica que sistemáticamente debe realizarse la reacción a la tuberculina antes de vacunar con B. C.G. Se excluirá de esta prueba solamente a los niños recién nacidos y hasta los 10 días de edad (se ha comprobado que en las dos primeras semanas de vida un organismo siempre es reactor negativo a la tuberculina).

No se aconseja administrar B.C.G. a los reactores positivos a la tuberculina 1.—Porque no es necesario, ya que tienen anticuerpos específicos para el m.b.t.; y 2.—Porque en ocasiones puede determinar REACCIONES DESAGRADABLES, conocidas con el nombre de "Fenómeno de Koch".

## PROCEDENCIA Y VIAS DE ADMINISTRACION DEL B.C.G. SU USO ACTUAL.

A pesar de que estos datos no corresponden al presente trabajo, con el afán de completar el estudio general hecho sobre B.C.G. los comentaremos de una manera ligera.

En cuanto a la procedencia de las vacunas empleadas actualmente en los diferentes países del mundo, diremos de una manera general que se preparan a partir de la cepa de Calmette y Guérin.

Las vías más utilizadas para su administración son: la oral, la intradérmica o la subcutánea.

El uso humano del B.C.G. empieza en 1921, desde entonces su empleo ha seguido una curva ascendente, hasta que en la actualidad se considera la medida antituberculosa más importante la vacunación con B.C.G.

En nuestro país los primeros estudios sobre B.C.G. se los debe al Dr. Pablo Arturo Suárez, quien en su afán de iniciar su empleo en el país, importó por primera vez cepas de B.C.G. de la Argentina y luego del Brasil. A partir de éstas se obtuvieron en Quito los primeros cultivos de B.C.G., en 1936, estando a cargo la preparación de los mismos del señor Lcdo. Rodrigo Dávalos. Desde 1940 el cultivo de B.C.G. se encuentra a cargo del Dr. Alfonso de la Torre, quien logró vacunar hasta junio de 1950 más de 15.000 niños, en la Maternidad de Quito, en el Departamento de Maternidad de la Caja del Seguro y en clínicas particulares.

El Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez", empezó a producir la vacuna en 1945; luego en 1949 adquiere mayor incremento la preparación y el empleo de B. C.G. gracias a la creación del Departamento Nacional de Vacunación y, por fin, desde 1950 se encuentra en vigencia un programa de vacunación en masa, en un comienzo, a cargo de la Joint Enterprise (VI—1950); y luego de la Dirección General de Sanidad.

Antes de concluir es necesario referirnos a la controversia que hasta hoy se mantiene sobre el uso del B.C.G. Efectivamente existen varios autores que sostienen la ineficacia del B. C.G. en la profilaxis de la tuberculosis, así por ejemplo, unos manifiestan que es preferible dejar que los niños adquieran

resistencia natural a la tuberculosis. Otros creen que siendo el B.C.G. un bacilo "que alguna vez fue virulento", fácil es que pueda readquirir su virulencia. Y, finalmente, unos terceros dicen que la resistencia a la tuberculosis no siempre se presenta con la administración de B.C.G. y, en el caso de presentarse, desaparece muy pronto.

Estos argumentos han sido rebatidos por muchos estudios. Así por ej. se ha establecido es mejor que los niños adquieran a través del B.C.G. resistencia a la Tb., porque así la posibilidad de adquirir la Tb. solamente se circunscribe a una reinfección exógena; mientras que si se les deja adquirir la primo infección natural no se puede delimitar las consecuencias y, aun en el caso de que no se produzca en ese momento la enfermedad, ésta puede presentarse como consecuencia de una reinfección exógena o de una reactivación del m.b.t. Irvine contesta diciendo "no existe todavía ningún caso seguro de muerte por vacunación de B.C.G. Y, para los que sostienen el tercer argumento expuesto, existen estadísticas que establecen que del 98 al 99% de no reactores a la tuberculina, con el B. C.G., pueden convertirse en reactores positivos. (1) Además "existen actualmente algunas pruebas que demuestran que la defensa relativa conferida por el B.C.G., se mantiene aún cuando la reacción tuberculínica se haya mostrado negativa posteriormente. (1).

Para terminar este ligero estudio sobre el B.C.G. y justificar su empleo en la vacunación antituberculosa citaremos la resolución al respecto de la XII Conferencia Sanitaria Panamericana, y el Comunicado Oficial del Comité Especial de Investigaciones Médicas y Terapéuticas de la Sociedad "Americana Trudeau" (Tomado de la publicación hecha en 1951, por el Dr. Jorge A. Higgins. "Vacunación Antituberculosa con B.C.G.")

"La XII Conferencia Sanitaria Panamericana reunida en Caracas en Enero de 1947, aprobó por unanimidad, la siguiente recomendación de la Comisión de Tuberculosis:

"Teniendo en cuenta que ya existen los trabajos que justifican la introducción de la Vacuna B.C.G. dentro de la práctica de la administración sanitaria, se recomienda su uso sujeto a los principios clásicos establecidos, en lo que toca a su aplicación y a su valor como un elemento que debe agregarse a las medidas de profilaxis, de eficacia ya reconocida en la lucha antituberculosa y sin que éstas sufran ningún menoscabo".

(Actas de la XII Conferencia Sanitaria Panamericana, Washington, Enero 1949, pág. 141. 7172).

"La resolución de esta Conferencia Sanitaria a la cual asistieron representantes de todos los países americanos, incluyendo en ellos a Canadá y EE. UU. no puede ser más clara y terminante. Esa resolución específica muy sabiamente, dice que debe emplearse la vacunación con B.C.G., pero al mismo tiempo establece, que no deben de menospreciarse las otras medidas de profilaxis antituberculosas, reconocidas como útiles, tales como el aislamiento de los enfermos, la búsqueda de casos aparentemente sanos, etc., pues decimos aquí, que la vacunación por B.C.G. no soluciona por sí sólo el problema de lucha antituberculosa y no lo soluciona porque la vacunación, como toda inmunización artificial, no produce sino una protección relativa y sería insensato, vacunar con B.C.G. y dejar a los vacunados impúnemente expuestos a la infección continuada y repetida".

"La Sociedad "Americana Traudeau", la más importante sociedad de especialistas tisiólogos de los Estados Unidos, por intermedio de su Comité especial de Investigaciones médicas y terapéuticas, dió un comunicado oficial sobre el B.C.G., en mayo de 1949, del cual extraemos algunas de sus más importantes recomendaciones:

"III.—Sobre las bases de los estudios publicados, puede esperarse una apreciable reducción de la incidencia de la Tuberculosis clínica, cuando se vacunan (con B.C.G.) ciertos grupos de personas en peligro de contraer la enfermedad por estar muy expuestos al contagio, tener una baja resistencia a la enfermedad o ambas cosas a la vez".

"A la luz de los presentes conocimientos, es recomendable la vacunación de los siguientes grupos más vulnerables, sobrentendiendo que se trate de reactores negativos a la tuberculina:

1.—Médicos, estudiantes de Medicina y enfermeras expuestos al contagio tuberculoso.

2.—Todo el personal de hospitales, laboratorios, cuyo trabajo los expone al contacto con el bacilo de la tuberculosis.

3.—LOS INDIVIDUOS QUE ESTAN INEVITABLEMENTE EXIPUESTOS A LA INFECCION TUBERCULOSA EN EL HOGAR.

4.—Los pacientes y empleados de manicomios, prisiones, y otras instituciones de custodia en quienes se sabe que la incidencia de tuberculosis es muy alta; y,

5.—LOS NIÑOS Y ALGUNOS ADULTOS CONSIDERADOS CON POCA RESISTENCIA Y QUE VIVAN EN COMUNIDADES EN QUE LA MORBILIDAD Y MORTALIDAD TUBEBCULOSA SEAN ALTAS. (Informe de la American Trudeau Society, Amer. Review of Tuberculosis, Vol. 60, Nov. 1949, pág. 681, 682).

"Como se puede fácilmente ver a través de esta última resolución, la Sociedad Trudeau de Estados Unidos, recomienda la vacunación con B.C.G. en las comunidades como las nuestras en que los índices de morbilidad y mortalidad tienen cifras extraordinariamente elevadas".

### CAPITULO III

1º—FUNDAMENTO PARA LAS EXPERIENCIAS REALIZADAS.—En vista de que hasta el momento actual los conocimientos sobre la acción de la cortisona y hialuronidasa en la tuberculosis no son definitivos, encontrándose aún en experimentación, hemos querido ser dos estudiosos más de este problema en nuestro país, con el afán de encontrar la manera de acortar el tiempo para el diagnóstico por inoculación, el mismo que en la actualidad nunca es menor de seis semanas. Con este propósito hemos utilizado en las experiencias, que a continuación exponemos, la tuberculina y el B.C.G.

Los fundamentos teóricos en que se basan nuestras posiciones han sido ya expuestos al tratar de cada una de estas sustancias enunciadas en el somero estudio de ellas, realizado en el segundo capítulo de este trabajo. Sin embargo, no creemos que esté por demás el volver a hacer un ligero recuerdo aplicándolo a nuestros fines:

**Cortisona:** De ella hemos creído que sería de especial interés su acción sobre el tejido conjuntivo y colágeno, por cuan-

to la opinión más extendida sobre la curación de la tuberculosis es aquella que se realiza por englobamiento y encapsulación fibrosa de las lesiones producidas por el bacilo de Koch, y si con la cortisona impedimos la formación de este tejido, lógicamente el proceso tuberculoso no tendrá curación o se verá acelerado. Podemos creer también que la cortisona actúa preferentemente sobre el tejido fibroso de formaciones patológicas de otro orden, tal sería el caso de la artritis deformante crónica, por ejemplo, otra acción de la cortisona que hemos creído de especial interés es aquella que se realiza sobre la hipersensibilidad en general y de la tuberculosis en particular, pues sabemos que tras un tratamiento con cortisona, desaparecen las reacciones a la tuberculina o se atenúan en tal forma de casi no ser apreciables.

Problemas todos estos muy difíciles de resolver y sobre los cuales en ningún caso podemos decir que la nuestra será la última palabra.

**Tuberculina.**—Basándonos en la acción que la tuberculina tiene sobre organismos hipersensibles, la que se traduce por efectos locales, focales y generales, creemos que las altas dosis de tuberculina podrían agravar la infección tuberculosa, tanto por la intensificación de las lesiones en los diversos órganos tomados, como por la disminución de las defensas orgánicas debido a la reacción general, lográndose en esta forma un desarrollo más rápido de la infección.

**B.C.G.**—Del hecho establecido ya desde Koch, que la reinfección tuberculosa puede dar reacción local en el sitio de la inoculación a los 3 — 4 días después de practicada, y de que actualmente sabemos que esta reacción se presenta no sólo en los organismos que han tenido la primo-infección natural, sino también en aquellos vacunados con B.C.G., hemos basado nuestras experiencias en este fenómeno, con el propósito de utilizarlo con fines diagnósticos.

**Hialuronidasa.**—Basándose en el hecho comprobado de que una sustancia inyectada simultáneamente con hialuronidasa, aumenta su poder de difusión y el organismo receptor su poder de absorción, suponemos que será posible aumentar la difusión local y general del *myco-bacterium tuberculosis* al ser inoculado en animales de experiencia juntamente con hialuronidasa.

luronidasa. De obtenerse este hecho en la práctica, y, si actúa sobre la virulencia de los bacilos, necesariamente la infección tuberculosa se hará presente en forma más temprana y generalizada a todo el organismo.

## MÉTODOS Y MATERIALES

### CEPAS DE MYCO BACTERIUM TUBERCULOSIS Y MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS

En nuestras experiencias, hemos empleado dos cepas de bacilos tuberculosos, una proporcionada por el Dr. Galo Hidalgo, mantenida en los Laboratorios "Life" y que corresponde a la cepa internacional H 37 Rv; y, otra, obtenida en los Laboratorios de LEA.

La cepa de mycobacterium tuberculosis hominis H 37 Rv, fué aislada en 1905 del esputo de un joven de 19 años con tuberculosis pulmonar crónica, en los Laboratorios "Saranac", por el Dr. E. R. Baldwin.

Esta cepa la hemos empleado, siguiendo la costumbre últimamente adoptada en todas las investigaciones sobre tuberculosis. Las razones para escoger la cepa H 37 Rv. son:

- a) Conservar estable su virulencia; y
- b) Ser capaz de producir la clásica tuberculosis generalizada de "Villemin", en los animales de experiencia.

Estas dos cualidades permiten obtener caracteres invariables a lo largo de las experiencias, lo que significa una garantía en los resultados de la investigación, pues, las diferencias que se obtengan no tendrán como causa una diferente virulencia del germen empleado.

La cepa aislada en los Laboratorios de LEA, en Quito, es de tipo humano, eugónica y corresponde al esputo de una joven de 22 años con tuberculosis pulmonar crónica, muy avanzada, activa. El cultivo patrón se le realizó en medio de Lownstein-Jensen-Holm, donde ha desarrollado fácilmente.

La razón que nos obligó a utilizar la segunda cepa descrita, es la muerte de la anterior. Posiblemente esto se debió

a la prolongada permanencia de la cepa en un medio de cultivo complejo.

La nueva cepa ha sido utilizada en los cobayos inoculados el 28-II-55, tanto en los que sirvieron de testigos como en los tratados con las diferentes substancias que más adelante indicamos.

**Medios de cultivo.**—Como medio de mantenimiento de la cepa que servía de inóculo, hemos utilizado el de Lowenstein y para las inoculaciones se ha realizado el trasplante a medios líquidos: Tween-albúmina y Sauton.

**Medio de Lowenstein.**—No hemos utilizado el primitivo medio de Lowenstein, pues hemos creído que mejores resultados íbamos a obtener con la modificación que de este medio hizo Hensen-Holm, cuya fórmula es la siguiente:

**Solución de sales:**

|   |        |     |
|---|--------|-----|
| Sulfato monopotásico .....                  | 2, 4   | gr. |
| Sulfato de magnesia 7H <sub>2</sub> O ..... | 0,24   | gr. |
| Citrato de magnesia .....                   | 0,60   | gr. |
| Asparragina .....                           | 3,60   | gr. |
| Glicerol .....                              | 12     | gr. |
| Agua destilada .....                        | 600,00 | gr. |
| Almidón de patata .....                     | 30     | gr. |
| Huevos batidos .....                        | 1.000  | cc. |
| Verde de Malaquita, sol. acuosa al 2% ..... | 20     | cc. |

La preparación realizamos en la siguiente forma: Se hace la solución de las sales en el agua destilada, a la que se añade el almidón de patata, sometiéndose la mezcla así obtenida al autoclave a 121°C. por 30 minutos. Los huevos que se van a utilizar deben ser de no más de una semana. Hay que lavarlos con jabón y cepillo o en una mezcla de jabón y sosa, luego de lo que se los coloca en alcohol durante 30 minutos. Se los rompe en un recipiente adecuado, constatando su buen estado, procediéndose a mezclar y agitar, ayudándose preferentemente de perlitas de vidrio añadidas al recipiente donde se verifica la mezcla. Se añaden los huevos a la solución ante-

riormente preparada, previa filtración a través de una gasa. A esta solución se le añade 20 cc. de la solución de Verde Malaquita al 2%. Se deja reposar una hora, después de lo cual se coloca en los tubos y éstos en posición inclinada, son colocados en el coagulador durante una hora, a 85°C.

**Medio líquido de Dubos y Davis, modificado:**

|  |       |     |
|--|-------|-----|
| Extracto de levadura .....                         | 2,00  | gr. |
| Proteosa - peptona .....                           | 2,00  | gr. |
| Casitona .....                                     | 2,00  | gr. |
| Ma <sub>2</sub> HP04 12H <sub>2</sub> O .....      | 2,50  | gr. |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....              | 1,00  | gr. |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O .....          | 0,60  | gr. |
| Na <sub>3</sub> . citrato. 2H <sub>2</sub> O ..... | 1,50  | gr. |
| Tween 80 .....                                     | 0,50  | gr. |
| Glicerina pH 7,00 .....                            | 50,00 | gr. |

El Tween 80 es una sustancia tenso activa hidro y liposoluble, caracterizada por poseer propiedades hidrofílicas (alcoholes poli hidroxil etilénicos) y de propiedades lipofílicas (cadenas alifáticas del ácido graso). Es absorbido por la superficie hidrofóbica del bacilo tuberculoso y su efecto "mojante" permite una distribución difusa del mismo en el medio acuoso. Parece que la "mojada" de la superficie bacteriana facilita el intercambio metabólico entre el micro organismo y el medio incrementando la velocidad del crecimiento. La albúmina bovina (fracción V del plasma) que se añade al terreno (10 cc. por cien) neutraliza efectos tóxicos de pequeñas cantidades de ácidos grasos libres en el Tween liberados por acción de una lipasa del mismo bacilo.

**Medio líquido de Sauton:**

|   |       |     |
|---|-------|-----|
| Sulfato de magnesio (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)   | 0,50  | gr. |
| Acido cítrico .....   | 2,00  | gr. |
| Fosfato dipotásico (H <sub>2</sub> HP0 <sub>4</sub> ) ..... | 0,50  | gr. |
| Asparragina .....   | 4,00  | gr. |
| Citrato de hierro amoniacal .....                           | 0,35  | gr. |
| Glicerina bidestilada .....                                 | 35,00 | gr. |
| Agua corriente .....  | 1.000 | cc. |

Disuelto y alcalinizado a un pH 7,2 (alrededor de 16 cc. de una solución de hidróxido de amonio por lt.).

Esterilización al autoclave.

Después de la esterilización, el pH debe permanecer en 7.2.

PREPARACION DEL INOCULO.—El mycobacterium tuberculosis de la una u otra cepa, ha sido mantenido en medio de Lowenstein-Jensen-Holm. De este medio la cepa H 37 Rv. ha sido transplantada al medio de Dubos, cada 45 días, al mismo tiempo que se hacía una nueva resiembra en el medio Lowenstein modificado. En el medio de Dubos (Tween-Albúmina) permanecía el tiempo necesario para que aparezca el brote de bacilos inoculados (de 8 a 15 días).

La cepa aislada por nosotros, del medio sólido era transplantada al medio líquido de Sauton, donde permaneció durante quince días.

La cepa una vez que había brotado en el medio de Dubos o de Sauton, mediante un papel filtro ordinario, en condiciones de completa asepsia, era sometida a un proceso de filtración, gracias al cual los bacilos quedaban en un papel y el medio líquido pasaba a través de él. Se procede luego a recogerlos y colocarlos en un tubo de pesada, para luego ver su peso exacto en una balanza de precisión. Se traslada los bacilos a un matraz, debiéndose realizar una nueva pesada del tubo, para averiguar por diferencia el peso de los bacilos que vamos a utilizar para preparar el inóculo.

El matraz contiene en su interior una serie de bolas de acero, siendo sometido a agitación mecánica por el tiempo de diez minutos, al cabo de los cuales se añade agua bidestilada en dos partes, a fin de que ambas formen una suspensión de bacilos que por cada décimo de centímetro cúbico contenga un miligramo de bacilos. Se realiza así una nueva agitación mecánica por tiempo de diez minutos, al cabo de los cuales la suspensión se encuentra lista para su empleo.

Para hacer la inoculación, hemos empleado un miligramo de bacilos, es decir un décimo de centímetro cúbico, la inoculación hemos realizado con una jeringuilla de tuberculina. El sitio elegido para la inyección ha sido la cara interna del muslo derecho, por vía subcutánea.

**ANIMALES DE EXPERIMENTACION UTILIZADOS.**—Las investigaciones se han realizado en dos grupos, uno con ratas y ratones albinos y otro con cobayos.

**PRIMER GRUPO:**

Se emplearon tres ratas albinas, tres ratones albinos y dos cobayos. Previa a la inoculación de myco-bacterium tuberculosis, a todos estos animales se les practicó la reacción de Mantoux, constatándose que NO ERAN REACTORES A LA TUBERCULINA y por tanto indemnes de tuberculosis.

Los ocho animales indicados fueron inoculados mycobacterium tuberculosis cepa H 37 Rv en la dosis de 1 mgr. por vía subcutánea en el muslo derecho el 25-XI-53. A partir de esta fecha se realizaba diariamente el examen físico y semanalmente se controlaba el peso y la sensibilidad a la Tuberculina.

En los ratones y ratas se encontró un aumento constante de peso y la permanente NEGATIVIDAD a la reacción de Mantoux.

En los cobayos, si bien es cierto que no hubo alteración notable en su peso, en cambio se apreció por la palpación (desde la segunda semana) la presencia de ganglios inguinales derechos hipertróficos.

Después de cincuenta días de inoculado, fueron sacrificados los ocho animales en experimentación, obteniéndose los siguientes DATOS DE NECROPSIA:

En las ratas y ratones albinos no se encuentran lesiones tuberculosas macroscópicas ni al examen histopatológico.

**En los cobayos:**

- 1) Nódulo caseoso en el sitio de la inoculación; (Chancro de inoculación).
- 2) Ganglios inguinales derechos hipertrofiados y caseosos;
- 3) Ganglios pélvicos hipertróficos y caseificados; y
- 4) Bazo con nódulos diminutos en toda su superficie (granulía tuberculosa).

## SEGUNDO GRUPO:

En vista de que los ratones y ratas albinos, no eran sensibles a la tuberculosis, en este grupo se emplearon exclusivamente cobayos.

Ante la imposibilidad de conseguir cobayos de una misma edad y de un peso standard, se han utilizado animales de peso y edad diferentes.

Esta circunstancia no nos permite valorar en los resultados finales los cambios obtenidos en el peso, pues, se dan casos en los cuales el aumento de peso es constante hasta la fecha misma de su muerte, lo que se explica porque se trata de cobayos en plena etapa de desarrollo.

Todos los animales de este grupo, previa a la inoculación de mycobacterium tuberculosis, fueron sometidos a la prueba de sensibilidad a la TUBERCULINA, mediante la reacción de Mantoux. Sin excepción de ninguna clase la respuesta siempre fue NEGATIVA.

Para la reacción de Mantoux se utilizó PPD. (DERIVADO PROTEINICO PURIFICADO) a la dosis de cinco unidades y 10 unidades por vía intradérmica en el abdómen.

La inoculación de mycobacterium tuberculosis, se practicó con 1 mgr. de bacilos por vía subcutánea en la cara interna del muslo derecho, con excepción de los cobayos vacunados con B.C.G., en quienes se practicó la inoculación del mycobacterium tuberculosis en el muslo izquierdo.

Posteriormente a la inoculación se realizaba diariamente el examen físico y, semanalmente se controló el peso y la sensibilidad a la Tuberculina.

Los cobayos correspondientes al 2º GRUPO, se subdividieron en seis lotes:

- 1) Cobayos tratados con CORTISONA y testigos;
- 2) Cobayos tratados con HIALURONIDASA y testigos;
- 3) Cobayos tratados con P.P.D. y testigos;
- 4) Cobayos tratados con B.C.G. y testigos; y
- 5) Cobayos HIPOALIMENTADOS y testigos.

Los procedimientos y las dosis empleadas con cada uno de estos lotes se detallan a continuación, a propósito de los protocolos de los animales en experimentación.

## COBAYOS TRATADOS CON CORTISONA

En todos los cobayos de este grupo antes de iniciar las experiencias, se comprobó que tenían **reacción de Mantoux Negativa**, siendo luego inoculados por **vía subcutánea, en el muslo derecho, con un miligramo de micobacterium tuberculosis.**

Desde el mismo día de la inoculación, han sido inyectados por vía subcutánea en el **muslo izquierdo**, 5 miligramos de cortisona diarios, en los dos primeros cobayos, y en los restantes 10 miligramos diarios. El tiempo durante el cual recibieron este tratamiento, se indica a propósito de cada animal.

La Cortisona empleada, corresponde al acetato de cortisona "Ciba".

### COBAYO Nº 1

Sexo: Masculino.—Color: Azulejo. Peso inicial: 250 gr.

Se inyecta un mgr. de mycobacterium tuberculosis "cepa H 37 Rv" por vía subcutánea en el muslo derecho, el 3-VI-54.

A partir del 4-VI-54, recibe diariamente 5 mgr. de CORTISONA, durante **23 días.**

**Evolución.**—La reacción de Mantoux se mantiene constantemente negativa. Se controla semanalmente su peso, observándose un aumento progresivo hasta 300 gr. el 19-VII-54. 10 días más tarde de la inoculación aparece por primera vez el chancro de inoculación. 21 días más tarde se aprecia un ganglio mediano móvil, en la región inguinal derecha.

**Datos de necropsia.**—(21-VII-54.) 6 semanas posteriores a la inoculación, los hallazgos patológicos son los siguientes:

- 1) Chancro de inoculación caseificado y fistulizado;
- 2) Ganglio superficial de la región inguinal derecha hipertrófico y caseoso;
- 3) Ganglio inguinal profundo derecho hipertrofiado y caseoso;
- 4) Ganglio pélvico hipertrófico;
- 5) Todas las vísceras abdominales y torácicas normales.

## **COBAYO Nº 2**

Sexo: Masculino.—Color: amarillo.—Peso inicial: 580 grm.  
Se inocula 1 mlgram. de m.b.t. (vía subcutánea muslo derecho). Recibe desde el siguiente día de la inoculación (4-VI-54) **5 miligramos de cortisona diarios, durante 23 días.**

**Evolución.**—La reacción Mantoux se mantiene negativa hasta la necropsia.

Su peso no altera durante seis semanas; al último peso es de 575 gr.

A los 15 días de inoculado, presenta en la región inguinal derecha, ganglio pequeño, móvil y duro, que en los días posteriores prácticamente no aumenta de volumen.

**Datos de necropsia.**—21-VII-54.—(6 semanas posteriores a la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación caseificado, con fístula hasta la piel;
- 2) En la región inguinal derecha, ganglio superficial y profundo hipertrófico; el primero de ellos caseificado;
- 3) Ganglio pélvico hipertrofiado; y
- 4) Las vísceras torácicas y abdominales normales.

## **COBAYOS TESTIGOS**

Con el objeto de apreciar las alteraciones que determina la administración de cortisona, así como de hialorunidasa, tuberculina y BCG, en la evolución de la infección tuberculosa, se han estudiado simultáneamente con los cobayos de experimentación varios animales testigos.

Los cobayos testigos han sido inoculados mycobacterium tuberculosis en la misma fecha que los otros y han sido sacrificados también al mismo tiempo que aquellos para los cuales sirven de control. Durante su evolución no han recibido ningún tratamiento especial.

La inoculación de los testigos se practicó en el muslo derecho, por vía subcutánea, con un miligramo de m.b.t.

Al igual que los animales para los que sirvieron de control han sido examinados diariamente y controlados, tanto el peso como la sensibilidad a la tuberculina, semanalmente.

### TESTIGO Nº 1

Ha servido para el control de la evolución de la tuberculosis experimental en los cobayos con cortisona Nº 1 y Nº 2 que acabamos de describirlos, así como también para los siguientes animales:

Nº 1 y Nº 2, con hialuronidasa.

Nº 1 y Nº 2, con PPD.

Nº 1 y Nº 2, con BCG.

Y, para el hipoalimentado N 1.

El 3-VI-54, es inoculado micobacterium tuberculosis (cepa H37 Rv) 1 miligramo por vía subcutánea en el muslo derecho.

**Datos de necropsia.**—21-VII-54.—(el mismo día que los cobayos de los cuales es testigo).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglios inguinales superficiales en lado derecho, hipertróficos y caseosos; y en el lado izquierdo, tan sólo 1 hipertrofiado (tamaño de una arveja).
- 3) Ganglio inguinal izquierdo profundo, hipertrófico y caseoso;
- 4) Ganglio pélvico, hipertrófico y parcialmente caseificado;
- 5) Bazo hipertrófico y ligeramente granuloso; y
- 6) El resto de vísceras abdominales y torácicas normales.

### COBAYO Nº 3

Sexo: Masculino.—Color: Amarillo con blanco.—Peso inicial: 545 gr.

El 8-IX-54, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea, muslo derecho). Desde esta misma fecha recibe **durante 27 días 10 mgr. diarios de CORTISONA.**

**Evolución.**—La reacción de Mantoux siempre negativa.

A los quince días se aprecia ganglio inguinal derecho del tamaño de una lenteja. Cinco días más tarde se hace palpable un ganglio de iguales caracteres en el lado izquierdo. El derecho sigue aumentando de tamaño.

**Datos de necropsia.**—15-X-54, (cinco semanas posteriores a la inoculación).

- 1) Ganglios inguinales superficiales y profundos de ambos lados, hipertróficos y caseificados;
- 2) Ganglio pélvico hipertrofiado y caseoso;
- 3) Bazo de aspecto granuloso;
- 4) Hígado mosqueado. Vesícula hipertrófica; y
- 5) Corazón hipertrofiado.

## TESTIGO Nº 2

Este sirvió de control para los siguientes cobayos:

Nº 3 de Cortisona; Nº 3 de Hialuronidasa; Nº 3 de P.P.D; y Nº 2 de hipoadministración.

Sexo: Masculino.—Color: Blanco. Peso inicial: 685 grs.

El 8-IX-54, es inoculado un mgr. de m.b.t. por vía subcutánea en el muslo derecho.

**Evolución.**—La R. de Mantoux es POSITIVA después de la tercera semana.

Sube el peso de 685 gr. a 750 gr.

**Datos de necropsia.**15-X-54.—En el mismo día que los cobayos indicados más arriba se realizó su sacrificio).

- 1) Chancro de inoc. caseoso;
- 2) Ganglio inguinal derecho, profundo, caseoso e hipertrofiado;
- 3) Ganglio pélvico hipertrófico y caseificado;
- 4) Bazo de aspecto granuloso; y
- 5) El resto de vísceras abdominales y torácicas normales.

#### **COBAYO Nº 4**

Sexo: Masculino.—Color: Blanco. Peso inicial: 405 gr.

El 8-IX-54, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea, muslo derecho). A partir de esta fecha recibe **28 dosis de 10 mgr. de CORTISONA** (vía intramuscular-muslo izquierdo).

**Evolución.**—La reacción de Mantoux nunca llega a ser positiva.

El peso aumenta progresivamente hasta llegar a 485 gr. 5 semanas más tarde de la inoculación. Durante las seis semanas de la evolución no se aprecia signos patológicos.

**Datos de necropsia.**—25-X-54, (seis semanas más tarde de la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio derecho inguinal profundo, ligeramente hipertrófico y caseoso;
- 3) Ganglio pélvico discretamente hipertrofiado; y
- 4) Los dos pulmones presentan zonas congestivas.

#### **TESTIGO Nº 3**

Es testigo de los siguientes cobayos:

Nº 4 de Cortisona; Nº 4 de P.P.D.; y Nº 4 de Hialuronidasa.

Sexo: Masculino.—Color: amarillo. Peso inicial 395 gr.

El 8-IX-54, es inoculado 1 mgr. de m.b.t. por vía subcutánea en el muslo derecho.

**Evolución.**—A partir de la cuarta semana, el Mantoux es POSITIVO.

En el transcurso de seis semanas aumenta 50 gr. de peso (de 395 gr. a 445).

**Datos de necropsia.**—25-X-54.—(Es sacrificado el mismo día que los tres en experimentación).

- 1) Chancro de inoculación caseoso;

- 2) Ganglio inguinal derecho, profundo, hipertrófico y caseoso;
- 3) Ganglio pélvico, idem;
- 4) Bazo de superficie granulosa; y
- 5) El resto de vísceras torácicas y abdominales normales.

### **COBAYO Nº 5**

Sexo: Masculino.—Color: Blanco. Peso inicial: 385 gr.

Se inocular 1 mgr. de bacilos tuberculosos (tipo humano, por vía subcutánea en el muslo derecho, desde la misma fecha de la inoculación en el muslo izquierdo recibe 10 mgr. diarios de Cortisona durante 25 días.

**Evolución.**—El peso se mantiene sin alteración durante las cuatro semanas.

Desde el veintiunavo día acusa astenia y anorexia que se van acentuando progresivamente hasta que muere espontáneamente a los 26 días de inoculado.

La reacción de Mantoux es negativa tanto al comienzo como al final de la experiencia.

### **Datos de necropsia.**—26-III-55.

- 1) Ganglios inguinales derechos e izquierdos, tanto superficiales como profundos, hipertróficos y caseosos;
- 2) Ganglios mesentéricos hipertrofiados y caseificados;
- 3) Bazo granuloso;
- 4) Hígado con nódulos caseificados; y
- 5) Pulmones con zonas neumónicas que alternan con nódulos caseosos.

NOTA.—En el frotis del caseum, proveniente de los ganglios mesentéricos e inguinales; así como también de los nódulos caseosos del hígado y pulmones, se encuentra gran cantidad de bacilos alcohol-ácido resistentes.

### **COBAYO Nº 6**

Sexo: Masculino.—Color: Café con amarillo. Peso inicial: 370 gr.

El 28-II-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea-muslo derecho).

Recibe 10 mgr. diarios de Cortisona durante 28 días, en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—En la segunda semana asciende el peso, para volver a bajar a lo normal desde la tercera semana. Su último peso es de 375 gr. (26-III-55). La reacción de Mantoux es negativa desde el comienzo de la experiencia hasta el final (cuarta semana).

**Datos de necropsia.**—30-III-55.

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho profundo hipertrófico y caseificado.
- 3) Ganglios Pélvico: idem; y
- 4) Bazo: ligeramente granuloso.

### **COBAYO Nº 7**

Sexo: Femenino.—Color: Negro con blanco. Peso inicial: 350 gr.

El 28-II-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea, muslo derecho).

Recibe 10 mgr. diarios de Cortisona durante 28 días en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—Hacia la cuarta semana el peso sube a 385 gr. La reacción de Mantoux es negativa tanto al principio como al final de la experiencia.

**Datos de necropsia.**—30-III-55.

- 1) Ganglio inguinal profundo, derecho hipertrófico y par-

cialmente caseoso, lo mismo que el chancro de inoculación;

- 2) Ganglio pélvico ligeramente hipertrofiado y caseoso;
- 3) Bazo discretamente granuloso; y
- 4) En el contenido intestinal se pudo apreciar la presencia de vermes.

### **COBAYO Nº 8**

Sexo: Masculino.—Color: amarillo con blanco. Peso inicial: 335 gr.

El 28-II-55, recibe 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea-muslo derecho).

Recibe 10 mgr. diarios de Cortisona en el muslo izquierdo, durante 18 días.

**Evolución.**—Desde la segunda semana aumenta de peso. Su último peso fué de 360 gr. el 17-III-55, muere espontáneamente.

**Datos de necropsia.**—17-III-55.

- 1) Estenosis intestinal al nivel del ileon (causa de la muerte, oclusión intestinal); y
- 2) Zonas neumónicas bilaterales.

NOTA.—El corte histológico tonto del tejido pulmonar como esplénico, no revela lesión tuberculosa.

### **TESTIGO Nº 6**

Sexo: Masculino.—Color: Blanco y plomo. Peso inicial: 635 gr.

Ha servido de control para los siguientes cobayos: 5-6-7 de Cortisona; 5-6-7 y 8 de Hialuronidasa; 5-6-7 y 8 de Tuberculina; y 11-12-13-14 y 15, de B.C.G.

**Evolución.**—Desde que se inicia su control, se aprecia la presencia de una tumoración dura, fija, del tamaño de un fréjol

en la base del cuello; posteriormente se fistuliza y deja escapar un líquido purulento.

El peso disminuye en dos semanas hasta 595 gr.

El 19-III-55, muere espontáneamente.

**Datos de necropsia.—19-III-55.**

- 1) Ganglios inguinales y pélvicos, así como vísceras abdominales y torácicas completamente normales; y
- 2) A nivel del cuello presenta un gran absceso que contiene en su interior mucho líquido francamente purulento.

NOTA.—El frotis del líquido purulento del absceso, no contiene bacilos alcohol-ácido resistentes.

Los cortes histológicos de hígado y bazo, tampoco rebelan lesión tuberculosa.

**TESTIGO Nº 7**

Sexo: Masculino.—Color: negro con blanco. Peso inicial: 265 gr.

Ha servido de control para los siguientes cobayos: Nos. 5-6-7 y 8 de Cortisona; 5-6-7 y 8 de Hialuronidasa; 5-6-7 y 8 de Tuberculina; y 11-12-13-14 y 15 de B.C.G.

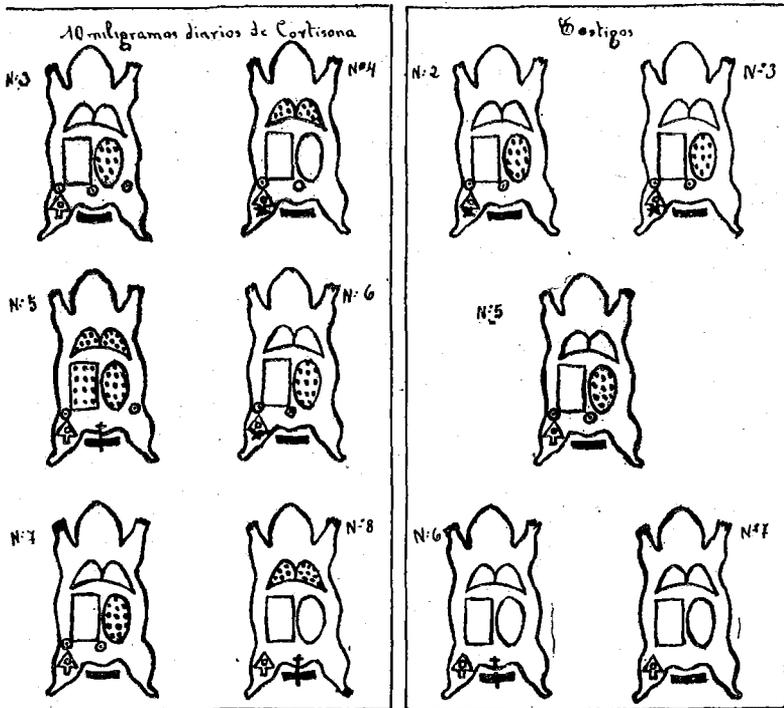
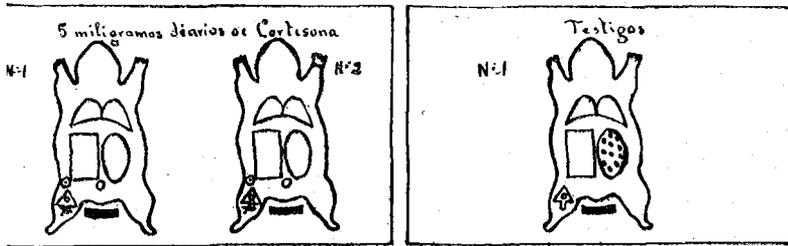
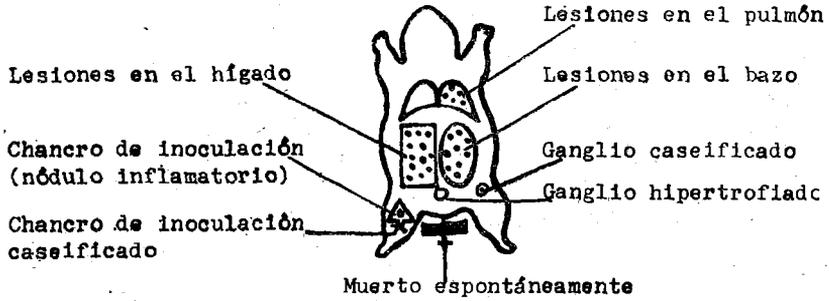
El 28-II-55, se inyecta 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea, muslo derecho).

**Evolución.**—Se nota una baja progresiva de peso hasta llegar en la cuarta semana, a 320 gr.

En la cuarta semana la reacción de Mantoux se vuelve positiva.

**Datos de necropsia.—30-III-55.**

- 1) No se encuentran datos patológicos macroscópicos.



## COBAYOS TRATADOS CON HIALURONIDASA

Después de constatar, mediante la reacción de Mantoux, que todos los cobayos eran vírgenes a la infección tuberculosa, se les inoculó un miligramo de micobacterium tuberculosis en el muslo derecho por vía subcutánea. **Previa a la inoculación, los bacilos fueron mezclados con hialuronidasa**, en la siguiente forma:

Para los dos primeros 1 miligramo de m.b.t. y 75 unidades T. R. de hialuronidasa.

Para el tercero y cuarto: 1 miligramo de m.b.t. y 150 U. T.R. de hialuronidasa; y

Para los cuatro últimos: 1 miligramo de m.b.t. y 750 U. T.R. de hialuronidasa.

### COBAYO N° 1

Sexo: Masculino.—Color: blanco. Peso inicial: 390 gr.

El 3-VI-54 se inocula 1 mgr. de mycobacterium tuberculosis (cepa H37 Rv) mezclado con 75 unidades turbirreductoras de Hialuronidasa. Desde esta fecha se continúa inyectando la misma dosis de hialuronidasa un día por medio, durante catorce veces.

**Evolución.**—Después de la tercera semana la reacción de Mantoux es POSITIVA. A los quince días se aprecia en la región inguinal derecha un ganglio móvil del tamaño de una lenteja. Posteriormente aumenta de volumen y aparecen otros pequeños a su alrededor. El peso aumenta progresivamente hasta llegar a 455 gr. después de cinco semanas.

**Datos de necropsia.**—21-VII-54.—(Seis semanas después de la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho profundo, hipertrófico y parcialmente caseificado;
- 3) Bazo hipertrofiado, de aspecto granuloso, con nódulo caseoso rodeado de una zona inflamatoria; y
- 4) Los dos pulmones se encuentran con pequeñas zonas de congestión.

## COBAYO Nº 2

Sexo: Femenino.—Color: bayo. Peso inicial: 297 gr.

El 3-VI-54, se inocula en el muslo derecho por vía subcutánea, 1 mgr. de m.b.t. mezclado con 75 unidades turbirreductoras de Hialuronidasa. A partir de esta fecha se administran 14 dosis de 75 unidades T.R. de Hialuronidasa.

**Evolución**—A partir de la cuarta semana la reacción de Mantoux es POSITIVA

Durante las dos primeras semanas baja el peso hasta 265 gr., para luego subir hasta 335 gr. ocho días antes de su muerte.

**Datos de necropsia.**—21-VII-54, (seis semanas después de la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho superficial ligeramente hipertrofiado;
- 3) Ganglio inguinal derecho profundo hipertrófico y caseificado;
- 4) Ganglio pélvico hipertrofiado;
- 5) Asas intestinales adheridas al páncreas y a la pared abdominal. En la válvula ileo-cólica presencia de nódulo caseoso;
- 6) Bazo hipertrófico y granuloso. Las demás vísceras abdominales y torácicas, normales.

NOTA.—El cobayo que sirvió para el control de los dos animales que anteceden es el testigo Nº 1 (ver página Nº 79).

## COBAYO Nº 3

Sexo: Masculino.—Color: blanco con amarillo. Peso inicial: 715 gr.

El 8-IX-54, se inocula por vía subcutánea en el muslo derecho, 1 mgr. de m.b.t. mezclado con 150 unidades T.R.,

de Hialuronidasa. A partir de esta fecha recibe 27 dosis de 150 unidades T.R. diariamente.

**Evolución.**—Desde la cuarta semana la reacción de Mantoux es POSITIVA.

El peso desciende en forma discreta y paulatina hasta llegar a 695 gr. Después de 15 días de la inoculación aparece ganglio inguinal derecho del tamaño de una lenteja, móvil. Una semana más tarde el existente aumenta de volumen y aparecen otros más pequeños en el lado derecho e izquierdo.

**Datos de necropsia.**—15-X-54 (cinco semanas posteriores a la inoculación).

- 1) En la región inguinal derecha e izquierda, ganglios superficiales y profundos hipertróficos y caseosos; lo mismo que el chancro de inoc.;
- 2) Ganglio prevertebral grandemente hipertrofiado y caseoso;
- 3) Bazo de aspecto granuloso; y
- 4) El resto de vísceras abdominales y torácicas, normales.

NOTA.—El cobayo que sirvió de control para este animal es el Testigo Nº 2 (Ver Pág. Nº 80).

#### COBAYO Nº 4

Sexo: Masculino. Color: blanco. Peso inicial: 300 gr.

El 18-IX-54, se inocula 1 mgr. de m.b.t. mezclado con 150 unidades T.R. de hialuronidasa. A partir de esta fecha se administran diariamente 27 dosis de hialuronidasa de 150 unidades T.R. cada una.

**Evolución.**—A partir de la cuarta semana, la reacción de Mantoux es POSITIVA.

El peso se eleva en forma paulatina, hasta ascender a 360 gr. Quince días después de la inoculación es posible palpar pequeños ganglios inguinales en el lado derecho; después de ocho días se palpa también un ganglio en el lado izquierdo.

**Datos de Necropsia.**—25-X-54 (seis semanas posteriores a la inoculación).

- 1) Ganglios inguinales superficiales y profundos, de ambos lados, aparecen hipertrofiados y caseificados; lo mismo que el chancro de inoc.;
- 2) Ganglio pélvico hipertrofiado y caseoso;
- 3) Bazo intensamente granuloso; y
- 4) Pulmón derecho con zonas de congestión.

NOTA.—Para este cobayo sirvió de control el Testigo N° 3. (Ver Pág. N° 81).

### **COBAYO N° 5**

Sexo: Femenino. Color: plomo con blanco. Peso inicial: 385 gr.

El 28-II-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. juntamente con 750 unidades T.R. de hialuronidasa, en el muslo derecho (vía subcutánea).

**Evolución.**—Al iniciarse la cuarta semana se encuentra reacción de Mantoux positiva débil. El peso aumentado hasta la cuarta semana en que llega a 425 gr.

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) Chancro de inoculación pequeño no caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho profundo ligeramente hipertrofico;
- 3) Ganglios pélvicos hipertrofiados no caseosos;
- 4) Bazo e hígado con nódulos caseosos aparentemente bien circunscritos;
- 5) Pericarditis fibrosa con derrame, pleuras adheridas y con derrame, nódulos infiltrativos en el pulmón.

### **COBAYO Nº 6**

Sexo: Masculino. Color: amarillo. Peso inicial: 335 gr.

El 28-11-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. juntamente con 750 unidades T.R. de hialuronidasa en el muslo derecho.

**Evolución.**—A las cuatro semanas se encuentra Mantoux positivo débil. El peso aumentado hasta 440 gr. en ese mismo tiempo.

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) Ganglios pélvicos hipertrofiados no caseificados; y
- 2) Bazo granuloso.

### **COBAYO Nº 7**

Sexo: Masculino. Color: blanco. Peso inicial: 440 gr.

El 28-11-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. juntamente con 750 unidades T.R. de hialuronidasa (en el muslo derecho, vía subcutánea).

**Evolución.**—El peso aumenta hasta el 9-III-55, en que llega a 450 gr. Muere espontáneamente el 22-III-55.

**Datos de Necropsia.**—22-III-55.

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglios pélvicos y mesentéricos hipertróficos y caseificados;
- 3) Hígado y páncreas con nódulos de caseum;
- 4) Bazo con gran hipertrofia; y
- 5) Pulmones con focos neumónicos y nódulos caseosos.

**COBAYO Nº 8**

Sexo: Masculino. Color: bayo. Peso inicial: 350 gr.

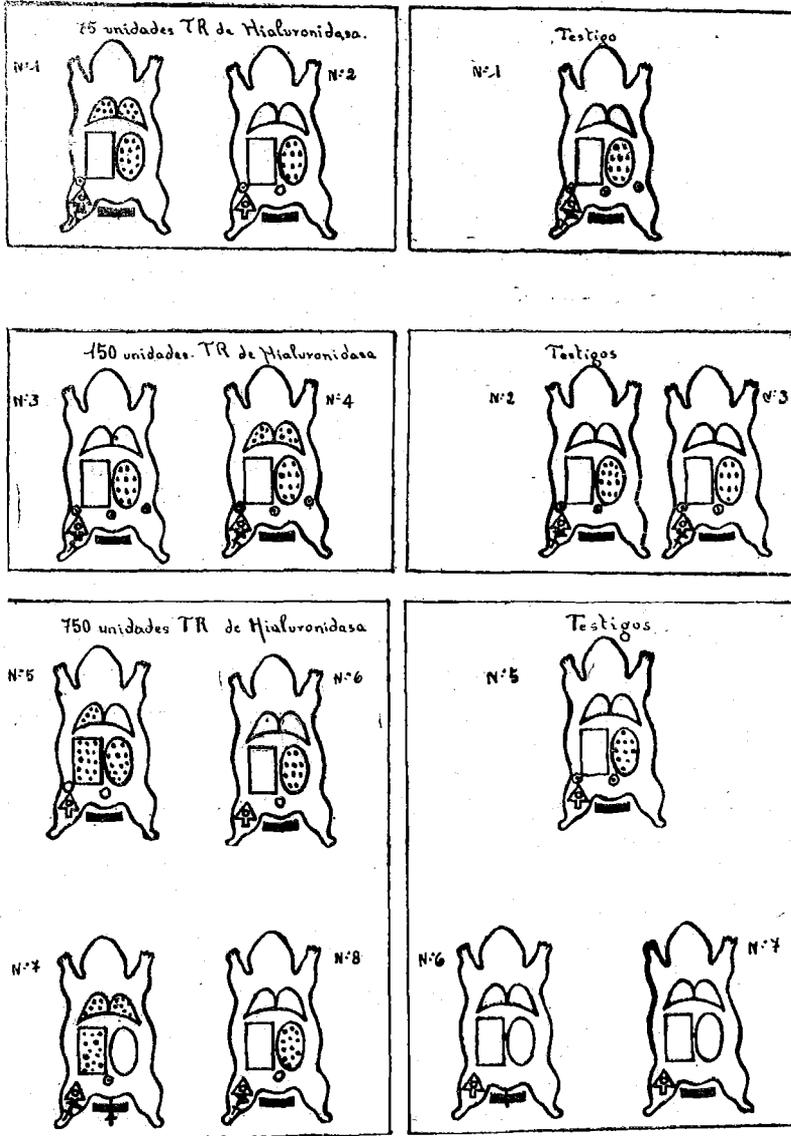
El 28-II-55, se inocularon 1 mgr. de m.b.t. juntamente con 750 unidades T.R. de hialuronidasa en el muslo derecho vía subcutánea.

**Evolución.**—A las cuatro semanas presenta reacción de Mantoux positiva. El peso ha bajado hasta 335 gr. (26-III-55).

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) Chancro de inoc. parcialmente caseoso;
- 2) Ganglios pélvicos hipertrofiados y caseosos; y
- 3) Bazo granuloso.

**NOTA.**—Para estos últimos 4 cobayos, sirvieron de control los testigos Nos. 6 y 7. (Ver Págs. Nos. 84 y 85).



**LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS DE COBAYOS INOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TRATADOS CON HIALURONIDASA**

## **COBAYOS TRATADOS CON TUBERCULINA (P.P.D.)**

Antes de iniciar el trabajo experimental con este grupo de cobayos, se constató que eran reactores negativos a la tuberculina.

Las experiencias se inician inoculando un miligramo de *Mycobacterium tuberculosis* por vía subcutánea en el muslo derecho.

Posteriormente, una vez que la reacción de Mantoux se convirtió en positiva, es decir, eran sensibles a la tuberculina, se empezó a inyectar P.P.D. por vía subcutánea en el muslo izquierdo.

La dosis de P.P.D. para los dos primeros, fue de 50 unidades diarias; para el tercero y cuarto de 100 unidades diarias, y para los cuatro últimos de 200 unidades al día.

El tiempo que recibieron este tratamiento, se indica en el protocolo de cada cobayo.

### **COBAYO Nº 1**

Sexo: Femenino. Color: café con blanco. Peso inicial: 225 gr.

El 3-VI-54, se inocula 1 mgr. de *Mycobacterium tuberculosis* (cepa H 37 Rv), por vía subcutánea, muslo derecho.

Desde el quinceavo día de la inoculación se administran, día por medio, 50 unidades de P.P.D. (14 dosis).

**Evolución.**—Desde la iniciación de la tercera semana el Mantoux es POSITIVO.

El peso aumenta progresivamente hasta 355 gr. 21 días después de la inoculación en la región inguinal derecha se palpa un ganglio del tamaño de una arveja móvil y duro.

**Datos de Necropsia.**—21-VII-54. (Seis semanas después de la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación no caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho superficial hipertrofiado;
- 3) Ganglio inguinal derecho profundo hipertrófico y parcialmente caseoso;
- 4) Bazo hipertrofiado; y
- 5) El resto de vísceras abdominales y torácicas normales.

## COBAYO N° 2

Sexo: Masculino. Color: blanco con negro. Peso inicial: 600 gr.

El 3-VI-54, se inocula un mgr. de m.bt. Desde el siguiente día se administran 14 dosis de P.P.D., 50 unidades día por medio.

**Evolución.**—A partir de la tercera semana el Mantoux es POSITIVO.

El peso disminuye paulatinamente hasta 495 gr. A los 21 días se palpa ganglio móvil del tamaño de una lenteja en la región inguinal derecha.

**Datos de Necropsia.**—21-VII-54 (seis semanas más tarde a la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho superficial ligeramente hipertrófico y caseoso;
- 3) Ganglio inguinal derecho profundo hipertrófico y caseificado;
- 4) Ganglio pélvico hipertrofiado y caseoso;
- 5) Bazo hipertrofiado e intensamente granuloso;
- 6) Congestión pulmonar bilateral; y
- 7) El resto de vísceras abdominales y torácicas normales.

NOTA.—Para el control de estos dos cobayos se utilizó el Testigo N° 1. (Ver Pág. N° 79).

## COBAYO N° 3

Sexo: Masculino. Color: amarillo con blanco. Peso inicial: 270 gr.

El 8-IX-54, se inocula 1 mgr. de H 37 Rv. por vía subcutánea, muslo derecho. A partir del quinceavo día se administra 100 unidades diarias de P.P.D. durante 17 días.

**Evolución.**—Al final de la segunda semana la reacción de Mantoux es POSITIVA.

El peso aumenta de 270 gr. a 355 gr. No se aprecian signos patológicos.

**Datos de Necropsia.**—15-X-54. (Cinco semanas más tarde a la inoculación).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho profundo hipertrófico y caseoso;
- 3) Ganglio pélvico hipertrofiado y caseoso;
- 4) Bazo granuloso;
- 5) Hígado moscado; y
- 6) El resto de vísceras abdominales y torácicas normales.

NOTA.—El control de este cobayo se hizo con el testigo N° 2. (Ver Pág. N° 80).

#### **COBAYO N° 4**

Sexo: Masculino. Color: negro con blanco. Peso inicial: 420 gr.

El 8-IX-54, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (vía subcutánea, muslo derecho).

Desde el quinceavo día se inyecta en el muslo izquierdo 100 unidades diarias de P.P.D., durante 17 días.

**Evolución.**—Al final de la segunda semana la reacción de Mantoux es POSITIVA.

El peso asciende de 420 gr. a 485 gr. No hay signos patológicos.

**Datos de Necropsia.**—25-X-54 (seis semanas más tarde).

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho profundo, caseificado;
- 3) Ganglio pélvico del tamaño normal caseoso;
- 4) Bazo granuloso;
- 5) Hígado moscado; y
- 6) Pulmón derecho con nódulo blanquecino de apariencia tuberculosa.

NOTA.—Sirvió de control para este cobayo el Testigo N° 3 (Ver Pág. N° 81).

### **COBAYO Nº 5**

Sexo: Masculino. Color: Blanco. Peso inicial: 225 gr.

El 28-11-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (en el muslo derecho, vía subcutánea).

**Evolución.**—El Mantoux aún es negativo.  
Muere espontáneamente el 5-III-55.

**Datos de Necropsia.**—5-III-55.

- 1) Hígado hipertrófico, color rojo oscuro con numerosas granulaciones blanquecinas diseminadas en todo el parénquima;
- 2) Bazo color rojo pálido con granulaciones similares al anterior, menos numerosas;
- 3) Intestino, se encuentran unas pocas granulaciones blanquecinas de mayor tamaño que las anteriores; y
- 4) Pulmones con focos neumónicos bilaterales.

**Datos Histopatológicos.**—En el frotis hecho de las granulaciones no se encuentra presencia de m.b.t.

Los cortes histopatológicos de las vísceras no revelan lesiones tuberculosas.

### **COBAYO Nº 6**

Sexo: Masculino. Color: blanco con café. Peso inicial: 310 gr.

El 28-11-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (en el muslo derecho vía subcutánea). El 12-III-55, se encuentra Mantoux positiva. A partir del 14-III-55, se administra 200 unidades diarias de P.P.D., por vía subcutánea, hasta el 28 del mismo mes (15 días).

**Evolución.**—El peso ha aumentado progresivamente hasta 345 gr. en la cuarta semana.

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) Chancro de inoculación pequeño no caseoso;
- 2) Ganglios inguinales ligeramente hipertróficos;
- 3) Bazo granuloso; y
- 4) Hígado y riñón con nódulos inflamatorios hemorrágicos.

**COBAYO Nº 7**

Sexo: Masculino. Color: blanco. Peso inicial: 330 gr.

El 28-II-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (en el muslo derecho, vía subcutánea).

**Evolución.**—Muere espontáneamente el 10-III-55. No se pudo leer la R. de Mantoux.

**Datos de Necropsia.**—10-III-55.

- 1) Ganglios pélvicos hipertróficos;
- 2) Pericarditis con derrame, pericardio engrosado; y
- 3) Pulmones con infiltrados neumónicos.

**Datos Histopatológicos.**—En el frotis realizado no se aprecia presencia de bacilos.

El corte histopatológico no revela la existencia de lesiones tuberculosas.

**COBAYO Nº 8**

Sexo: Masculino. Color: amarillo. Peso inicial: 305 gr.

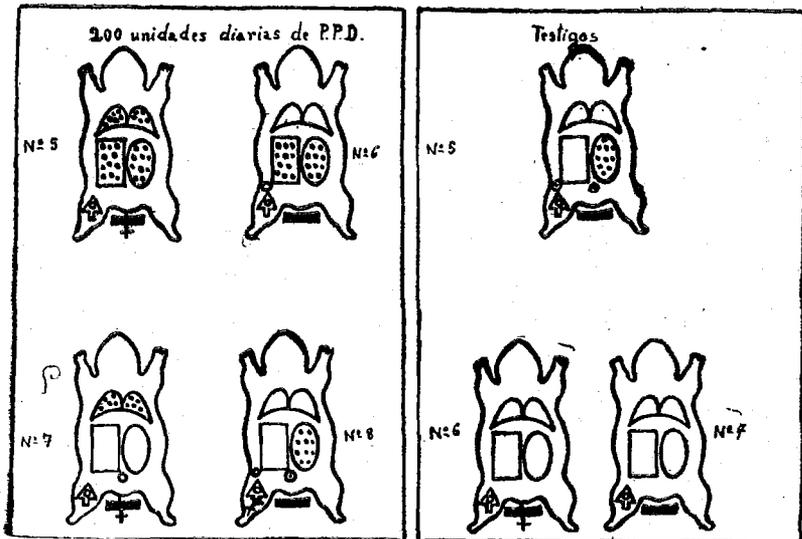
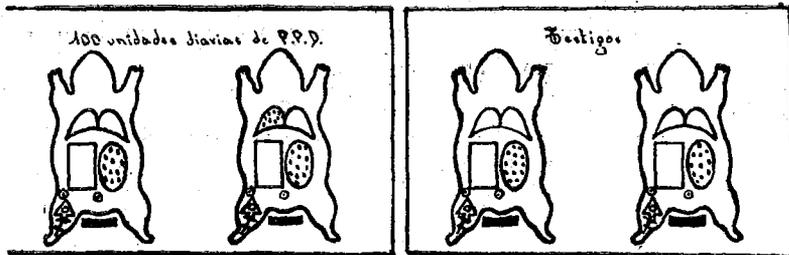
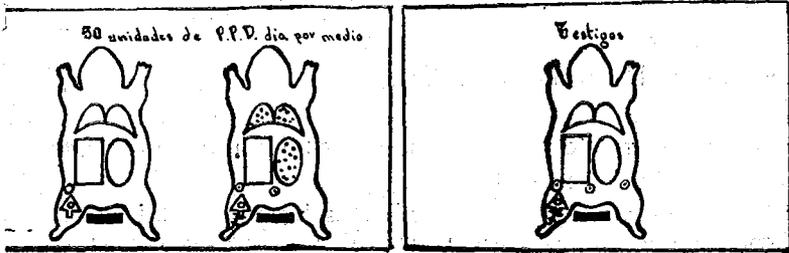
El 28-II-55, se inocula 1 mgr. de m.b.t. (en el muslo derecho, vía subcutánea). El 12-III-55, se realiza prueba de Tuberculina (Mantoux) la que es positiva. El 14-III-55, se inicia la administración de 200 unidades diarias de P.P.D. por vía subcutánea hasta el 28-III-55 (15 días).

**Evolución.**—El peso ha aumentado hasta 330 gr. en la cuarta semana.

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) Chancro de inoculación de mediano tamaño ligeramente caseificado;
- 2) Ganglios inguinales profundos hipertrofiados;
- 3) Artritis de la articulación de la rodilla izquierda;
- 4) Ganglios pélvicos hipertróficos y parcialmente caseificados; y
- 5) Bazo ligeramente hipertrófico y granuloso con lesiones inflamatorias y hemorrágicas.

NOTA.—Para estos 4 últimos cobayos, sirvieron de controles los testigos Nos. 6 y 7 (Ver Págs. Nos. 84 y 85).



**LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS DE COBAYO INOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TRATADOS CON TUBERCULINA**

## COBAYOS TRATADOS CON B.C.G.

Una vez que se constató eran vírgenes a la infección tuberculosa, todos los cobayos de este grupo, fueron vacunados con 75 miligramos de B.C.G. por vía subcutánea en el muslo derecho.

Después de dos meses (en los dos primeros cobayos), de 3 meses (en los cobayos números 4-7-8 y 9) y de 4 meses (en los 4 últimos), se **inoculó un miligramo de mycobacterium tuberculosis, por vía subcutánea en el muslo izquierdo.**

Previa a la inoculación, se comprobó mediante la reacción de Mantoux que eran sensibles a la tuberculina.

### COBAYO Nº 1

Sexo: Masculino. Color: blanco con amarillo. Peso inicial: 570 gr.

Recibe vacuna B.C.G. (75 mg. en 3 cc.), el 29-III-54. Dos meses más tarde la reacción de Mantoux se convierte en positiva.

El 3-VI-54, se inocula mycobacterium-tuberculosis. Cepa H 37 Rv. 1 mg. en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—Se controla semanalmente su peso y estado clínico, sin encontrar datos patológicos de importancia.

A los veinte días de inoculado se aprecia un ganglio inguinal izquierdo, móvil, del tamaño de una lenteja. Su peso se mantiene normal, siendo de 565 gr. el 19 de julio del 54.

**Datos de Necropsia.**—(21-VII-54). Se constatan los siguientes datos patológicos:

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal izquierdo superficial hipertrofiado del tamaño de una arveja;
- 3) Ganglio inguinal izquierdo profundo hipertrofiado y caseoso;
- 4) Ganglio pélvico: idem.;
- 5) Bazo ligeramente granuloso; y
- 6) El resto de vísceras tanto abdominales como torácicas, normales.

### COBAYO Nº 2

Sexo: masculino. Color plomo. Peso inicial: 580 gr.

Recibe 75 mg. de B.C.G. en 29-III-54. Dos meses más tarde la reacción de Mantoux es positiva.

El 3—VI—54, se inocula 1 mg. de m. b. t. en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—El peso se mantiene normal hasta el día en que es sacrificado (575 gr.). A los 21 días deinoculado presenta pequeño ganglio inguinal izquierdo móvil.

**Datos de Necropsia.**—

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal superficial izquierdo ligeramente hipertrófico;
- 3) Ganglio inguinal izquierdo profundo hipertrófico y caseificado;
- 4) Bazo ligeramente hipertrófico; y
- 5) El resto de vísceras abdominales y torácicas normales.

NOTA.—El control de los dos cobayos que anteceden se hizo con el Testigo Nº 1 (Ver Pág. Nº 79).

**COBAYO Nº. 3**

Sexo: masculino. Color: blanco. Peso inicial: 280 gr.

Recibe 75 mg. de B.C.G. el 2-VII-54.

El 4—VII—54, amanece moribundo, para evitar errores en los resultados posteriores, se decide descartar de la prueba a este cobayo.

**COBAYO Nº. 4**

Sexo: masculino. Color: azulejo. Peso inicial: 435 gr.

Recibe 75 mg. de B.C.G., por vía subcutánea en el muslo derecho, el 5-VII-54. Un mes más tarde la reacción de Mantoux continúa negativa.

El 9-VIII-54, se vuelve a vacunar con B.C.G. con la

misma dosis y en el mismo sitio. Seis semanas más tarde de la reacción de Montoux se convierte en positiva.

El 6-XI-54, se inocula 1 mg. de m.b.t. en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—Cinco semanas después de la inoculación muere espontáneamente.

**Datos de Necropsia.**—(13-XII-54).

- 1) Fístula en el flanco lateral derecho del abdomen, por donde salen al exterior los intestinos;
- 2) Ganglios axilares, derechos e izquierdos, grandemente hipertrofiados y caseificados; y
- 4) Todas las vísceras abdominales y torácicas normales.

#### COBAYO Nº 5

Sexo: masculino. Color: café. Peso inicial: 345 gr,  
Recibe 75 mg. de B.C.G. por vía subcutánea en el muslo derecho el 5-VII-54.

**Evolución.**—Muere espontáneamente 19 días más tarde.

**Datos de Necropsia.**—(24-VII-54).

- 1) Ganglio inguinal derecho superficial ligeramente hipertrófico; y
- 2) Leve congestión pulmonar bilateral.

#### COBAYO Nº 6

Seso: Masculino. Color: amarillo (crespo). Peso inicial:  
350 gr.  
Recibe 75 mg. de B.C.G. por vía intraperitoneal el 4-VIII-54.

**Evolución.**—Al siguiente día muere espontáneamente.

**Datos de Necropsia.**—(5-VIII-54).

- 1) Ganglios inguinales y axilares hipertróficos; y
- 2) Absceso de contenido purulento en la base lateral izquierda del cuello y muslo derecho.

**COBAYO Nº 7**

Sexo: Masculino. Color: amarillo (crespo). Peso inicial: 420 gr.

Recibe 75 mg. de B.C.G. por vía intraperitoneal el 4-VIII-54. A los dos meses la reacción de Mantoux es débilmente positiva. El 6-XI-54, se inyecta en el muslo izquierdo un mg. de m.b.t.

**Evolución.**—El peso se mantiene normal y no hay datos patológicos al examen físico.

**Datos de Necropsia.**—(23-XII-54).

- 1) Ganglio inguinal profundo izquierdo hipertrófico y caseificado.

**COBAYO Nº 8**

Sexo: Masculino. Color: blanco (crespo). Peso inicial: 530 gr.

Recibe 75 mgr. de B.C.G. por vía intraperitoneal el 4-VIII-54. Después de dos meses la reacción de Mantoux es ligeramente positiva.

El 6-XI-54, se inyecta un mgr. de m.b.t. en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—A los veinte días de inoculado muere espontáneamente.

**Datos de Necropsia.**—(26-XI-54).

- 1) Ganglio pélvico ligeramente hipertrófico;

- 2) Bazo totalmente adherido al pancreas, riñón izquierdo y asas intestinales;
- 3) Hígado de color apizarrado; y
- 4) Pulmones derecho e izquierdo, con zonas de infiltración neumónica.

### **COBAYO N° 9**

Sexo: Masculino. Color: blanco. Peso inicial: 365 gr.

Recibe 75 mg. de vacuna B.C.G. por vía intraperitoneal el 4-VIII-54. Dos meses más tarde la reacción de Mantoux se encuentra dudosamente positiva. El 6-XI-54, se inocula 1 miligramo de m.b.t. por vía subcutánea, en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—A pesar del control diario no se constata fenómeno de Koch.

**Datos de Necropsia.**—23-XII-54. (Seis semanas más tarde de la inoculación). No se encuentran datos patológicos.

### **COBAYO N° 10**

Sexo: Masculino. Color: azulejo. Peso inicial: 415 gr.

Recibe 75 mgr. de vacuna B.C.G. mezclada con 1 cc. de hialuronidasa en el muslo izquierdo. A los treinta días todavía continuaba la reacción de Mantoux negativa.

El 23-XII-54, es sacrificado equivocadamente.

**Testigo N° 4.**—Sirvió de control para la evolución de la infección tuberculosa y para el desarrollo del fenómeno de Koch en los cobayos Nos. 4-7-8 y 9. (No nos referimos a los cobayos vacunados con B.C.G. Nos. 3-5-6-10, por cuanto éstos murieron espontáneamente antes de ser inoculados micobacterium tuberculosis).

En vista de que en los animales vacunados con B.C.G. y luego inoculados con m.b.t., fundamentalmente lo que hemos tratado de encontrar es el "fenómeno de Koch", nos pareció interesante controlar este proceso, mediante cobayos testigos que reciban por dos ocasiones inoculación de bacilos virulentos. **La primera inoculación de mycobacterium tuberculosis, se realiza simultáneamente a la vacunación con B.C.G. de los otros cobayos (en el muslo derecho por vía subcutánea); y la reinoculación se practica al mismo tiempo que se inocula por primera vez bacilos virulentos en los vacunados (en el muslo izquierdo, vía subcutánea).**

**Primera inoculación.**—8 de setiembre de 1954: Un miligramo de m.b.t. por vía subcutánea en el muslo derecho.

Reacción de Mantoux positiva a partir de la cuarta semana. (Octubre-54).

**Reinoculación.**—6 de noviembre de 1954; Un miligramo de m.b.t. por vía subcutánea en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—En 28 días aumenta setenta gramos de peso; posteriormente mantiene estable este peso hasta su muerte.

Veinte días después de la reinoculación, se aprecia en el muslo derecho un nódulo inflamatorio de medio centímetro de diámetro (chancro de inoculación), que no aumenta de tamaño hasta la necropsia.

**Datos de Necropsia.**—23-XII-54. (Setenta y cinco días más tarde de la primera inoculación de bacilos tuberculosos). Su sacrificio se realizó al mismo tiempo que los cobayos de B.C.G. Nos. 7 y 9.

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) Ganglio inguinal derecho, profundo, hipertrófico y caseoso; y
- 3) El resto de ganglios y vísceras tanto abdominales como torácicas normales.

**NOTA.**—En vista de que los cobayos inoculados el 26-XI-54 es decir, en 48 días, no se habían tuberculizado, procedimos a efectuar una resiembra en medio de Lowenstein, de la cepa H 37 Rv, utilizada para la inoculación de los cobayos antes anotados, sin que logremos obtener un brote nuevo de bacilos hasta 60 días después. Este hecho nos per-

## COBAYO Nº 11

Sexo: Femenino. Color: blanco. Peso inicial: 475 gr.

Recibe 75 mgr. de B.C.G. con hialuronidasa por vía subcutánea en el muslo derecho el 22-XI-54. Seis semanas más tarde la reacción de Mantoux es positiva.

El 28-II-55, se inocular 1 mg. de m.b.t. en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—3-III-55 (3 días después de inoculado).

Aparece pequeña zona inflamatoria en el sitio de la inoculación. Esta zona inflamatoria no progresa en los días siguientes, y, más bien, cinco días más tarde empieza a desaparecer hasta hacerlo totalmente dos días más tarde.

El peso se eleva discretamente, en la cuarta semana después de la inoculación, llega a 485 gr.

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

1) Bazo ligeramente granuloso.

## COBAYO Nº 12

Sexo: Masculino. Color: blanco con negro. Peso inicial: 510 gramos.

El 22-XI-54, es inoculado con B.C.G. juntamente con hialuronidasa 150 unidades T.R. (la dosis de B.C.G. es de 75 mgr.). Seis semanas más tarde se encuentra reacción de Mantoux positiva.

El 28-II-55, es inoculado con 1 mgr. de m.b.t. en el muslo izquierdo.

**Evolución.**—Presencia de pequeña zona inflamatoria en el muslo izquierdo que aparece a los cinco días de realizada la

---

mitió concluir que el último cultivo de la cepa H 37 Rv, empleada por nosotros, estuvo muerta.

timo cultivo de la cepa H 37 Rv, empleada por nosotros, estuvo muerta.

Por la razón antes expuesta, excluimos este lote de cobayos, para la valorización de los resultados obtenidos en nuestras experiencias.

inoculación, sin adenopatía satélite, que hace su regresión lentamente hasta ser inapreciable una semana más tarde.

**Datos de Necropsia.**—30-III-54.

No se encuentran datos macroscópicos patológicos.

●

### **COBAYO Nº 13**

Sexo: Femenino. Color: blanco. Peso inicial: 350 gr.

El 22-XI-54, recibe 75 mgr. de B.C.G. juntamente con 150 unidades T.R. de hialuronidasa, por vía subcutánea, en el muslo derecho.

**Evolución.**—Muere espontáneamente el 9-XII-54.

**Datos de Necropsia.**—9-XII-54.

- 1) Tejido celular subcutáneo y peritoneo con equimosis;
- 2) Presencia de ganglios hipertróficos en las regiones axilares e inguinales.
- 3) Hígado intensamente congestionado.

●

### **COBAYO Nº 14**

Sexo: Masculino. Color: blanco. Peso inicial: 550 gr.

El 30-XI-54, recibe 75 mgr. de B.C.G. conjuntamente con 300 unidades de hialuronidasa. Seis semanas más tarde se encuentra reacción de Mantoux positiva.

El 28-II-55, recibe 1 mgr. de m.b.t. en el muslo izquierdo, vía subcutánea.

**Evolución.**—A los seis días de realizada la inoculación se encuentra una pequeña zona inflamatoria en el muslo izquierdo sin adenopatía satélite. Aumenta lentamente hasta llegar a tener 1 cm. de diámetro. El 16-III-55, se la punciona sin lograr

extraer líquido. Comienza a disminuir de tamaño hasta el 26 de marzo en que es inapreciable.

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) En el sitio de la inoculación pequeño nódulo inflamatorio.
- 2) Bazo granuloso.

**COBAYO N° 15**

Sexo: Femenino. Color: amarillo. Peso inicial: 420 gr.

El 30-XI-54, es inoculado con 75 mgr. de B.C.G., vía subcutánea en el muslo derecho. A las seis semanas se aprecia reacción de Mantoux positiva.

El 28-II-55, recibe 1 mgr. de m.b.t. en el muslo izquierdo (vía subcutánea).

**Evolución.**—Cinco días más tarde aparece una pequeña zona inflamatoria en el sitio de la inoculación, la que aumenta ligeramente de tamaño hasta el 9-III-55.

Muere accidentalmente por un traumatismo el 10-III-55.

**Datos de Necropsia.**—

- 1) Presencia de nódulos inflamatorios en el muslo izquierdo.

NOTA.—Para estos cinco últimos cobayos vacunados con B.C.G., sirvieron de control los Testigos Nos. 5-6-7.

**TESTIGO N° 5**

Al igual que el N° 4, este cobayo fue inoculado con *Mycobacterium tuberculosis* el 8-IX-54; y reinoculado el 26-XI-54. (Cepa muerta).

Por no haberse presentado fenómeno de Koch y porque la reinoculación fue hecha con bacilos muertos, a este animal no se lo sacrifica, para poder volverle a reinocular bacilos tubercu-

losos vivos y, así, poder apreciar si se presenta o no el "Fenómeno de Koch". **Con este objeto es reinoculado el 28-11-55**, simultáneamente con los siguientes cobayos: Nos. 5-6-7 y 8 de Cortisona; 5-6-7 y 8 de Hialuronidasa; 5-6-7 y 8 de P.P.D.; 11-12-13-14 y 15 de B.C.G.; y los testigos 6 y 7.

Sexo: Masculino. Color: negro, amarillo y blanco. Peso inicial: 390 gr.

**Evolución.**—El peso asciende progresivamente, hasta llegar un mes después a 475 gr. y, a los seis meses (9-III-55) a 605 gr. Desde entonces empieza a bajar su peso hasta 585 gr., dos días antes de su muerte. El 15-I-55, se obtiene por primera vez reacción de Mantoux positiva, la misma que fue mucho más intensa 15 días más tarde.

Cinco días después de la reinoculación con m.b.t., en el muslo izquierdo se aprecia la existencia de un nódulo inflamatorio en el sitio de la reinoculación. El tamaño de este nódulo diariamente iba aumentando hasta que 10 días más tarde de su aparición se fistuliza, dejando escapar un líquido purulento (del cual se hace frotis). Mediante una jeringuilla se extrae todo el contenido del nódulo; a los 5 días la fístula se ha cicatrizado y el nódulo ha reducido notablemente su volumen (fenómeno de Koch).

**Datos de Necropsia.**—30-III-55.

- 1) En el muslo izquierdo (sitio de reinoculación) presenta un gran absceso, de 1 cm. de diámetro, totalmente caseificado;
- 2) Ganglios superficiales y profundos de la región inguinal derecha caseificados;
- 3) Ganglio pélvico caseoso; y
- 4) Bazo de aspecto intensamente granuloso.

NOTA.—El frotis realizado con el líquido extraído del nódulo del muslo izquierdo, así como de los ganglios inguinales y pélvico, revelan elevado número de bacilos alcohol-ácido resistentes por campo.

Para informe sobre los Testigos Nos. 6 y 7, ver las Págs. Nos. 84 y 85.

## COBAYOS HIPOALIMENTADOS

A pesar de que en el plan de esta tesis, aprobado por el Consejo Directivo de la Facultad, no constan las experiencias con animales hipoadimentados, nos ha parecido interesante tratar de acortar los resultados diagnósticos mediante la hipoadimentación. Desde muy antiguo se ha establecido que un organismo alimentado insuficientemente, presenta un terreno más lábil para el asiento de cualquier enfermedad, especialmente de la tuberculosis.

Si, la tuberculosis, puede presentarse con mayor facilidad en organismos desnutridos; también en organismos hipoadimentados la infección tuberculosa puede desarrollarse más rápidamente. Lo que trataremos de probar con las experiencias realizadas en cobayos inoculados con *mycobacterium tuberculosis*, a los cuales se les ha sometido a un régimen alimenticio inferior al normal.

Como en los grupos anteriores, **la inoculación se realizó en el muslo derecho por vía subcutánea, con un miligramo de *mycobacterium tuberculosis*.** La ración alimenticia diaria, se explica en cada cobayo.

### COBAYO Nº 1

Sexo: Masculino. Color: azulejo. Peso inicial: 410 gr.

El 3-VI-54, se inyecta un mgr. de *mycobacterium tuberculosis* (Cepa H 37 Rv) por vía subcutánea en el muslo derecho.

Previa a la inoculación se había establecido que la ración alimenticia diaria, promedial de este cobayo era de 180 gr. 2 veces al día. Desde la fecha de inoculación esta ración alimenticia se disminuye al 50% durante 18 días y, luego al 40% durante 30 días.

**Evolución.**—A partir de la tercera semana el Mantoux es POSITIVO. Durante los primeros 10 días disminuye 25 gr. de peso, llegando a pesar 385 gr., en esta cifra se mantiene hasta su muerte.

A los 21 días de la inoculación se palpa ganglio duro, mó-

vil, del tamaño de una lenteja en la región inguinal derecha. Posteriormente no aumenta su volumen.

**Datos de Necropsia.**—21-VII-54.

- 1) Fístula cutánea en el sitio de la inoculación;
- 2) Chancro de inoculación caseificado;
- 3) Ganglios inguinales derechos: superficial y profundo, hipertróficos y caseosos;
- 4) Ganglio pélvico hipertrofiado;
- 5) Bazo granuloso; y
- 6) Focos neumónicos múltiples en ambos pulmones.

NOTA.—Para el control de este cobayo se utilizó al Testigo Nº 1.  
(Ver Pág. Nº 79)

**COBAYO Nº 2**

Sexo: Femenino. Color: blanco. Peso inicial: 405 gr.

30 días antes de inocularse el mycobacterium tuberculosis inicia su régimen de hipoadalimentación con una ración diaria igual al 60% de la normal.

El 8-IX-54, se inocula un miligramo de m.b.t. por vía sub-cutánea en el músculo derecho.

**Evolución.**—Desde la tercera semana la R. de Mantoux es POSITIVA.

El peso disminuye constantemente desde 405 grs. hasta 225 grs. en el transcurso de 68 días.

23 días después de la inoculación se hace presente a la palpación el chancro de inoculación y un ganglio de 1 cm. de diámetro en la región inguinal derecha.

Muere espontáneamente, el 14-X-54.

**Datos de Necropsia.**—14-X-54.

- 1) Chancro de inoculación caseificado;
- 2) En la región inguinal derecha el ganglio superficial y el profundo hipertróficos y caseosos;

- 3) Ganglio pélvico hipertrofiado y caseificado; y
- 4) Todas las vísceras abdominales y torácicas normales.

NOTA.—El control de este coboyo se realizó con el Testigo Nº 2.  
(Ver Pág. Nº 80).

Inoculados 3 meses después del B.C.G.

Nº 1      Nº 2

Testigo

Nº 1

Inoculados 2 meses después del B.C.G.

Nº 4      Nº 7

Nº 8      Nº 9

Testigos

Nº 4

Inoculados 4 meses después del B.C.G.

Nº 11      Nº 12

Nº 14      Nº 15

● Nódulo inflamatorio en el sitio de la inoculación "Fenómeno de Koch"

Nº 5 Inoculado y re inoculado con *Mycobacterium tuberculosis*

Nº 6      Nº 7

● Nódulo caseificado (necrosis) en el sitio de la inoculación "Fenómeno de Koch"

**CUADRO Nº 1**

**RESULTADOS EN COBAYOS INOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TRATADOS CON CORTISONA**

| Coby. Nº | durac. trat. en días | durac. experm. semanas | Reacción de Mantoux |       | Lesion. necrops. |
|----------|----------------------|------------------------|---------------------|-------|------------------|
|          |                      |                        | Inic.               | Final |                  |
| Nº 1     | 23                   | 6                      | —                   | —     | ++               |
| Nº 2     | 23                   | 6                      | —                   | —     | ++               |
| Test. 1  |                      | 6                      | —                   | +     | ++               |
| Nº 3     | 27                   | 5                      | —                   | —     | ++               |
| Nº 4     | 27                   | 6                      | —                   | —     | ++               |
| Nº 5     | 27                   | 4*                     | —                   | —     | +++              |
| Nº 6     | 28                   | 4                      | —                   | —     | —                |
| Nº 7     | 28                   | 4*                     | —                   | —     | —                |
| Nº 8     | 18                   | 3*                     | —                   | —     | —                |
| Test. 2  |                      | 5                      | —                   | +     | ++               |
| Test. 3  |                      | 6                      | —                   | ++    | ++               |
| Test. 5  |                      | 23                     | —                   | +     | +++              |
| Test. 6  |                      | 3*                     | —                   | +     | +                |
| Test. 7  |                      | 4                      | —                   | +     | —                |

\* Cobayo muerto espontáneamente. El resto fueron sacrificados en el plazo que se indica en el cuadro.

- + Lesiones mínimas: Chancro de inoculación y adenopatía satélite.
- ++ Lesiones moderadas: Chancro, adenopatía satélite y otras lesiones ganglionares.
- +++ Lesiones avanzadas: mismas anteriores y otras lesiones viscerales.
- ++++ Lesiones generalizadas.

**CUADRO Nº 2**

**RESULTADOS EN COBAYOS INOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TRATADOS CON HIALURONIDASA**

| Coby. Nº | durac.        | durac.           | Reacción de |       | Lesion.  |
|----------|---------------|------------------|-------------|-------|----------|
|          | trat. en días | experim. semanas | Inic.       | Final | necrops. |
| Nº 1     | 26            | 6                | —           | +     | ++       |
| Nº 2     | 26            | 6                | —           | +     | ++       |
| Test. 1  |               | 6                | —           | ++    | ++       |
| Nº 3     | 1             | 5                | —           | +     | ++       |
| Nº 4     | 1             | 5                | —           | +     | ++       |
| Test. 2  |               | 5                | —           | +     | ++       |
| Test. 3  |               | 6                | —           | +     | ++       |
| Nº 5     | 1             | 3*               | —           | +     | —        |
| Nº 6     | 1             | 4                | —           | +     | ++       |
| Nº 7     | 1             | 3*               | —           | +     | —        |
| Nº 8     | 1             | 4                | —           | +     | ++       |
| Test. 5  |               | 23               | —           | +     | +++      |
| Test. 6  |               | 3*               | —           | +     | —        |
| Test. 7  |               | 4                | —           | +     | —        |

\* Cobayos muertos espontáneamente.

- + Lesiones mínimas: Chancro de inoculación y adenopatía satélite.
- ++ Lesiones moderadas: Chancro, adenopatía satélite y otras lesiones ganglionares.
- +++ Lesiones avanzadas: mismas anteriores y otras lesiones viscerales.
- ++++ Lesiones generalizadas.

**CUADRO Nº 3**

RESULTADOS EN COBAYOS INOCULADOS CON  
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TRATADOS  
CON TUBERCULINA (P.P.D.)

| Coby. Nº | durac.<br>trat. en<br>días | durac.<br>experim.<br>semanas | Reacción de<br>Mantoux |       | Lesion.<br>necrops. |
|----------|----------------------------|-------------------------------|------------------------|-------|---------------------|
|          |                            |                               | Inic.                  | Final |                     |
| Nº 1     | 26                         | 6                             | —                      | +     | ++                  |
| Nº 2     | 26                         | 6                             | —                      | +     | ++                  |
| Test. 1  |                            | 6                             | —                      | +     | ++                  |
| Nº 3     | 21                         | 5                             | —                      | +     | ++                  |
| Nº 4     | 21                         | 5                             | —                      | +     | ++                  |
| Nº 5     |                            | 1*                            | —                      | —     | —                   |
| Nº 6     | 14                         | 4                             | —                      | +     | ++                  |
| Nº 8     | 14                         | 4                             | —                      | +     | ++                  |
| Test. 2  |                            | 5                             | —                      | +     | ++                  |
| Test. 3  |                            | 6                             | —                      | +     | ++                  |
| Test. 5  |                            | 23                            | —                      | +     | +++                 |
| Test. 6  |                            | 3*                            | —                      | +     | —                   |
| Test. 7  |                            | 4                             | —                      | +     | —                   |

\* Cobayos muertos espontáneamente.

+ Lesiones mínimas: Chancro de inoculación y adenopatía satélite.

++ Lesiones moderadas: Chancro, adenopatía satélite y otras lesiones ganglionares.

+++ Lesiones avanzadas: mismas anteriores y otras lesiones viscerales.

++++ Lesiones generalizadas.

**CUADRO Nº 4**

**RESULTADOS OBTENIDOS EN COBAYOS VACUNADOS CON 75 mgrs. DE B.C.G. Y REINOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS**

| Coby. Nº | Tiemp. entre vacunación e inoculac. | Tiemp. entre inoculac. y necropsia | Reacción de Mantoux |          | Fenómeno de Koch | Lesiones de necropsia |
|----------|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------|----------|------------------|-----------------------|
|          |                                     |                                    | Inic.               | An. Ino. |                  |                       |
| Nº1      | 3 meses                             | 6 seman.                           | —                   | +        | No               | ++                    |
| Nº2      | 3 meses                             | 6 seman.                           | —                   | +        | No               | ++                    |
| Test. 1  |                                     | 6 seman.                           | —                   | —        | No               | ++                    |
| Nº 4     | 2 meses                             | 5 seman.                           | —                   | +        | No               | ++                    |
| Nº 7     | 2 meses                             | 6 seman.                           | —                   | +        | Np               | ++                    |
| Nº 8     | 2 meses                             | 3 seman.*                          | —                   | +        | No               | ++                    |
| Nº 9     | 2 meses                             | 6 seman.                           | —                   | +        | No               | —                     |
| Test. 4  |                                     | 6 seman.                           | —                   | —        |                  | +++                   |
| Nº 11    | 4 meses                             | 4 seman.                           | —                   | +        | Si               | ++                    |
| Nº 12    | 4 meses                             | 4 seman.                           | —                   | +        | Si               | —                     |
| Nº 14    | 4 meses                             | 4 seman.                           | —                   | +        | Si               | ++                    |
| Nº 15    | 4 meses                             | 2 seman.*                          | —                   | +        | Si               | +                     |
| Test. 7  |                                     | 4 seman.                           | —                   | —        |                  | —                     |
| Test. 5  | 5 meses**                           | 4 seman.                           | —                   | +        | Si               | +++                   |

\* Cobayos muertos espontáneamente.

\*\* Cobayo inoculado y reinoculado con mycobacterium tuberculosis.

- + Lesiones mínimas: Chancro de inoculación y adenopatía satélite.
- ++ Lesiones moderadas: Chancro, adenopatía satélite y otras lesiones ganglionares.
- +++ Lesiones avanzadas: mismas anteriores y otras lesiones viscerales.
- ++++ Lesiones generalizados.

**CUADRO Nº 5**

**RESULTADOS EN COBAYOS INOCULADOS CON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS E HIPOALIMENTADOS**

| Coby. Nº | Durac. Experi-<br>m. semanas | Reacción de Mantoux |       | Lesiones  |
|----------|------------------------------|---------------------|-------|-----------|
|          |                              | Inic.               | Final | Necropsia |
| Nº 1     | 6                            | —                   | +     | ++        |
| Test. 1  | 6                            | —                   | +     | ++        |
| Nº 2     | 5                            | —                   | +     | ++        |
| Test. 2  | 5                            | —                   | +     | ++        |

- + Lesiones mínimos: Chancro de inoculación y adenopatía satélite.
- ++ Lesiones moderadas: Chancro, adenopatía satélite y otras lesiones ganglionares.
- +++ Lesiones avanzadas: mismas anteriores y otras lesiones viscerales.
- ++++ Lesiones generalizadas.

**CAPITULO I V**

**DISCUSION DE LA CASUISTICA**

Analizando los experimentos realizados, podemos observar como hecho más saliente la poca intensidad con que los cobayos se han tuberculizado, pese a que el tiempo de experimentación ha sido de cuatro semanas como mínimo hasta seis meses (un solo caso) como máximo. Hecho éste que no podemos atribuirlo a menor virulencia del germen, pues como se ha expuesto ya, han sido utilizadas sólo dos cepas, una de las cuales ha sido tomada de un tuberculoso activo. Creemos pues poder afirmar que este hecho se lo debe atribuir al terreno. Estas observaciones coinciden con las realizadas por los doctores Muggia e Hidalgo, quienes sostienen que la poca intensidad de la infección se debe principalmente a la baja de la tensión del oxígeno, concomitante con la menor presión atmosférica. Entre otros factores que pueden contribuir a determinar estos resultados po-

demos mencionar una mayor resistencia de los cobayos al bacilo, la cual sería de tipo racial, factores nutricionales, etc. En todo caso sin tener datos experimentales mayores al respecto, no podemos sacar conclusiones sobre la causa de tal hecho.

Se ha realizado un control semanal del peso, habiéndose obtenido datos variables, habiendo aumentado en unos y disminuído en los menos. Este dato en todo caso carece de valor, pues no siendo todos los cobayos de la misma edad, ni tampoco habiendo sido ésta controlada, suponemos que unos se encontrarían todavía en etapa de crecimiento, por lo que era lógico suponer que el peso iría en incremento.

La reacción a la tuberculina en todos los casos ha sido negativa al comenzar la experimentación, habiéndose tornado positiva a la finalización de la misma, lo cual nos está indicando que pese a la resistencia relativa de estos cobayos utilizados en nuestra experiencia al *mycobacterium tuberculosis*, los procesos de hipersensibilidad se han establecido más o menos fácilmente, aunque en ningún caso hemos obtenido una hipersensibilidad muy acentuada.

### **Cobayos tratados con Cortisona**

En este grupo de experiencias, los resultados obtenidos no han diferido mayormente en relación a los testigos, pues las lesiones anatómicas e histopatológicas no varían fundamentalmente en intensidad. **Un dato constantemente obtenido es la falta de reacción de hipersensibilidad en este grupo, pues pese a que se han comprobado lesiones tuberculosas de intensidad variable, no se obtuvo al final de las experiencias ni un solo caso de reacción de Mantoux positiva.** Se han utilizado dosis de cortisona de cinco y de diez miligramos diarios en dos grupos diversos, sin que se pueda anotar variaciones en la respuesta en estos dos grupos. De esto podemos concluir que la cortisona no acelera la infección tuberculosa en los cobayos, aunque hay que citar que se presentó un caso de tuberculosis generalizada en este grupo experimental, lo cual, por ser un solo caso aislado, no tiene validez para hacer deducciones, ya que podemos atribuirlo tanto como a la acción de la cortisona, a una mayor susceptibilidad del cobayo hacia el bacilo o a otros factores que escapan al análisis. Sin embargo este hecho resta alguna importancia a la con-

clusión anteriormente anotada, puesto que en la literatura revisada al respecto se citan casos de un mayor avance de la infección tuberculosa tras el empleo de la cortisona y aún casos de reactivación de antiguos procesos. En síntesis podemos afirmar que con el empleo de la cortisona se consigue atenuar o abolir la hipersensibilidad en los cobayos inoculados con *Mycobacterium tuberculosis*, sin disminuir la resistencia relativa del organismo hacia el bacilo. Respecto a la contraindicación absoluta de la cortisona en procesos tuberculosos activos, creemos que deben hacerse estudios más detenidos, pues sin estar en capacidad de negar esta contraindicación, sentamos la discusión, y más bien podríamos hablar de una contraindicación relativa. Habríamos igualmente deseado hacer un control de los síntomas que acompañan a la infección para poder deducir si juntamente con la disminución o desaparición de la hipersensibilidad ellos se modifican, hecho que se anota en la literatura, no habiéndolo podido hacer por las dificultades que ofrecen los animales de experiencia.

### **Cobayos tratados con Hialuronidasa**

Con el empleo de hialuronidasa en cobayos inoculados con *Mycobacterium tuberculosis*, **no se ha logrado acelerar el proceso infeccioso en los mismos**, tanto si se hace la inoculación juntamente con la hialuronidasa como si se inyecta ésta diariamente por vía subcutánea. La observación abarca desde casos tratados con 75 u TR en inyecciones diarias, hasta los inyectados 750 u TR juntamente con los bacilos. Parece pues que no tiene acción general sobre el organismo o si la tiene ésta es tan fugaz que no influye sobre el desarrollo de la infección, siendo en todo caso su acción más local, por que **su efecto se reduce a evitar la formación del chancro de inoculación y adenopatía satélite o hacerlo menos aparente**, como hemos podido observar en la casuística. **Las lesiones sin ser más desarrolladas que en los testigos tienden a ser más generalizadas**, lo cual se explica perfectamente por reabsorción más rápida de los bacilos, lo que equivale a hacer una inoculación por vía venosa. Se deduce, pues, que la hialuronidasa no tiene ninguna acción sobre la virulencia del bacilo y tampoco se encuentran cambios en los fenómenos de hipersensibilidad. Nos inclinamos pues a creer que la acción de esta droga es puramente local.

### **Cobayos tratados con Tuberculina**

En este grupo experimental con el empleo de PPD por vía subcutánea en dosis de cincuenta unidades en un grupo y de cien en otro, **se encuentra que el desarrollo de la infección en relación a los testigos es la misma**, sin que al parecer la dosis empleada tenga influencia. Localmente la tuberculina produce una reacción inflamatoria más o menos intensa, que en un caso llegó a abarcar la articulación de la rodilla provocando una artritis. Las reacciones focales al momento de la necropsia son apreciables por la congestión y a veces equímosis visibles alrededor de los focos tuberculosos, los mismos que no se los encuentra más extensos que en los testigos. En cuanto a las reacciones generales, éstas han sido tan pequeñas, que clínicamente no se las ha podido observar. Con un control de la temperatura especialmente, cosa que no la hemos podido observar, posiblemente se habrían podido encontrar reacciones de tipo general.

### **Cobayos inoculados con B.C.G. y m.b.t.**

Después de la inoculación con B.C.G. se obtiene reacción positiva a la tuberculina en un tiempo que oscila entre 6 y 8 semanas, siendo en todos los casos la reacción positiva débil. **En el grupo en que se efectuó la inoculación de m.b.t. entre los dos y tres meses, no se obtiene fenómeno de Koch apreciable. En cambio, en los casos en que se efectuó la inoculación a los cuatro meses, el fenómeno de Koch es manifiesto al cabo de un tiempo que varía de una a dos semanas**, el cual hace su regresión hasta la cuarta semana, siendo poco o nada apreciable en la necropsia. En todos los casos ha sido de intensidad moderada, no pudiendo obtenerse ulceración, tampoco la comprobación bacteriológica por punción del nódulo. Las lesiones en otros órganos parecen ser ligeramente menores, habiéndose obtenido un caso en que tras haberse presentado el fenómeno de Koch, no se encontró en la necropsia lesiones tuberculosas. Podemos pues afirmar que **son por lo menos necesarios cuatro meses de espera entre la vacunación con B.C.G. y la inoculación con m.b.t. para que el fenómeno de Koch sea apreciable y que en ningún caso éste se presta a la comprobación bacteriológica.** Respecto a la protección que el B.C.G. presta al organismo fren-

te al m.b.t. en cobayos, en unos casos es absolutamente efectiva, mientras en el resto la protección es relativa.

En resumen podemos concluir diciendo que ni la cortisona, ni la hialuronidasa, ni la tuberculina, y, ni la hipoadministración, permiten acortar, de manera apreciable, el tiempo de inoculación con fines diagnósticos en la tuberculosis. **En cambio, merece especial atención el hecho de que en cobayos mantenidos por cuatro meses con vacuna B.C.G. se produce el fenómeno de Koch en el transcurso de los 15 días siguientes a la inoculación de bacilos virulentos. Si es verdad que la aparición del fenómeno de Koch, no pudo ser comprobada por el simple examen bacteriológico, en cambio quedó perfectamente demostrado por el examen histopatológico.**

**Esta circunstancia, nos permite recomendar realizar el diagnóstico biológico de la tuberculosis, utilizando cobayos previamente vacunados con B.C.G. y luego inoculados con el material sospechoso de contener micobacterium tuberculosis virulento. Lo evidente de su existencia se obtendrá mediante la aparición del "Fenómeno de Koch".**

En vista de que en nuestras experiencias se produce el fenómeno de Koch solamente en aquellos cobayos que previa a la inoculación de bacilos virulentos se mantuvieron **4 meses** vacunados con B.C.G., creemos que para las inoculaciones diagnósticas es necesario que los cobayos permanezcan vacunados un tiempo no menor de cuatro meses. Si el tiempo durante el cual están vacunados es mayor de cinco meses, posiblemente al diagnóstico puede hacerse sin recurrir a cortes histopatológicos.

Como un caso interesante, citamos el del cobayo **testigo Nº 5**, el cual fue inoculado con micobacterium tuberculosis virulento, siendo reinoculado, también con bacilos virulentos, cinco meses más tarde; y que presentó, los primeros indicios del fenómeno de Koch después de cinco días de la reinoculación, los que se caracterizaron por un nódulo inflamatorio, que llegó a la necrosis con doce días de posterioridad. En el material de necrosis se constató la presencia de abundantes bacilos alcohol-ácidorresistentes. Como se puede observar en este caso la aparición del fenómeno de Koch fue rápida, y su regresión fue lenta, a tal punto que después de cuatro semanas, cuando se realizó la necropsia, aún no había desaparecido, si bien había reducido notablemente su volumen.

La sucedido con este cobayo nos permite comprobar dos hechos:

1º—Que la supervivencia, en nuestro medio, de cobayos inoculados con m.b.t. es muy grande, pues en la necropsia de este caso no se encontraron lesiones generalizadas de tuberculosis a pesar de haber transcurrido más de cinco meses.

2º—Que el fenómeno de Koch es un dato valioso para el diagnóstico de la tuberculosis, aunque en este caso no recomendamos su empleo, por el peligro que representa el mantener cobayos tuberculizados en un laboratorio por largo tiempo.

### CONCLUSIONES

- 1º—En nuestras experiencias, no hemos obtenido tuberculosis generalizadas en cobayos.
- 2º—La reacción tuberculínica-vira a la positividad en un tiempo variable entre tres y cuatro semanas después de realizada la inoculación.
- 3º—La cortisona no acelera el proceso de tuberculización en cobayos inoculados.
- 4º—La cortisona evita e inhibe la hipersensibilidad cutánea en cobayos tuberculizados sin disminuir la resistencia relativa.
- 5c—La Hialuronidasa no acelera el proceso infeccioso, pues parece ser su acción únicamente local.
- 6º—La Hialuronidasa favoreciendo la más rápida reabsorción de los bacilos tienden a hacer la tuberculosis más generalizada pero no más intensa.
- 7º—La tuberculina produce reacciones locales y focales manifiestas en cobayos inoculados con m.b.t.; siendo las generales poco ó nada apreciables.
- 8º—Con el empleo de la tuberculina no se encuentran lesiones más extensas que en los testigos.
- 9º—El B.C.G. vira la reacción tuberculínica entre la tercera y cuarta semana.
- 10.—Con el B.C.G. se produce la aparición manifiesta del fenómeno de Koch a partir del cuarto mes de vacunado y en el transcurso de los 15 días siguientes a la inoculación

- de bacilos virulentos, siendo en todos los casos de intensidad moderada.
- 11.—Ninguno de los tres primeros procedimientos es aplicable para la reducción del tiempo de inoculación hecho con fines diagnósticos.
  - 12.—En cobayos vacunados con B.C.G. y mantenidos, en esta forma, durante por lo menos cuatro meses, se puede hacer el diagnóstico rápido de tuberculosis por la producción del fenómeno de Koch, que es constante y comprobable histopatológicamente.

## BIBLIOGRAFIA

### CAPITULO I

- 1º—Barzizza C., Manso Soto A.—Microbiología.
- 2º—Baquerizo Amador L.—Manual de Diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis.—1953.
- 3º—Colmer J. A.—Diagnóstico clínico por los análisis de laboratorio.— I y II Tomos.—1945.
- 4º—Golberg.
- 5º—Rey A. Pangagas J. C.—Tratado de tisiología.—1949.
- 6º—Tapia M.—Formas anatomo-clínicas, diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis pulmonar.—I y II Tomos.—1945.
- 7º—Hidalgo G.—Cultivo del m.b.t. en embriones de pollo.—Tesis doctoral.—1954.

### CAPITULO I I

#### (Cortisona)

- 1º—Barzizza C. y Manso Soto A.—Microbiología.
- 2º—Pasqualini R.—Endocrinología.—1951.
- 3º—Pasqualini R.—Stress.—1952.
- 4º—Tanca Marengo J.—Extractos y comentarios de trabajos publicados acerca del ACTH y Cortisona.— 1950.
- 5º—Kenneth F. Martínez Díaz J.—Modernas actuaciones clínico-terapéuticas en Medicina Interna (suplemento).—1953.
- 6º—Sánchez J. Miño R.—Exploración funcional de las suprarrenales con ACTH y la aplicación de esta hormona en los procesos reumáticos.—(Tesis doctoral).
- 7º—National Tuberculosis Association.— Transactions of the forty seventh annual meeting.—Cincinnati, Ohio.— Mayo 1951.

8º—Lemoistre Ch. Tompseth R.— The evolution of tuberculous lesions in the guinea pig during administration of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) of cotisone.—Am. Rev. Tuberc.—1951, Sep. Vol. 64.

9º—Birkaug K.—The effect of cortisone on B.C.G. infection in the guinea pig.—Am. Rev. Tuberc. 1954, 69, 505.

10.—Wallner L. Thompson R. T. Lichtenstein M. R.—Clinical and histopathologic study of the effect of cortisone and corticotropin on tuberculosis.—Am. Rev. Tuberc.—1952, 66, 161.

11.—Cummings M. M. Hudgiens P. C. Whorton M. C. and Sheldon W. H.—The influence of cortisone and sterptomycin on experimental tuberculosis in the albino rat.—Am. Rev. Tuberc. 1952, 65, 596.

### (Hialuronidasa)

1º—Velázquez L.—Terapéutica con sus fundamentos de Farmacología experimental.— I Tomo.—1953.

2º—Aviles J.—Anestesia pudenda, usando como difusor la hialuronidasa en obstetriacia.—(Tesis doctoral).

3º—Hialuronidasa, colagenosis y vitamina E.—Rev. Rocha. 1953. Vol. X.

4º—Actualidades "Wyeth". Rev. 1950 Nº 1.

5º—Birkhaug K.—Suynergistic effects of B.C.G. vaccine and hialuronidasa in guinea pics.—Am. Rev. Tuberc.—1953, 68.

6º—Bergqvist S. and Packalen Th.—The effect of bacterial Spreading factore and generaliced experimental tuberculous infection.—Acta tuberc. Scandinav., 1949, 23, 250.

### (Tuberculina)

1º—Barzizza C., Manso Soto A.—Microbiología.

2º—Rich A.—The Pathogenesis of tuberculosis.—1951.

3º—Higgins J.—Vacunación antituberculose con B.C.G.—1951.

4º—Goldberg B.—Tuberculosis Clínica.—1942.

5º—Tapia M.—Formas anatomo clínicas, diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis pulmonar.—1945.

6º—Arcos L.—Tratamiento de la tuberculosis con tuberculina.—Rev. Centro de estudios sobre tuberculosis.—1939, 23.

### (B.C.G.)

1º—Bazizza C., Manso Soto A.—Microbiología.

2º—Higgins J.—Vacunación antituberculosa con B.C.G.—1951.

3º—Dávalos R.—Vacuna antituberculosa con B.C.G.—Rev. Centro de estudios sobre tuberculosis.—1939, 33.

4º—Portilla J.—Control anatomo e histopatológico de co-

bayos vacunados con B.C.G.—Rev. Centro de estudios sobre tuberculosis.—1939, 43.

5º—De la Torre A.—Vacunación B.C.G. en la ciudad de Quito.—1947.

6º—Ustvedt H. J.—The local reaction in B.C.G. vaccination. The Conference an European B.C.G. Programmes, Stbre. 1949, 223.

NOTA.—Los cuadros adjuntos de cortisona corresponden al numeral 4º y 2º de la Bibliografía.

Los esquemas de las lesiones anatómo-patológicas han sido tomados del numeral 8º de la Bibliografía de Cortisona.