COMPILACION DE TRABAJOS CIENTIFICOS

DEL

Dr. MIGUEL C. RUBINO

MINISTERIO DE GANADERIA Y AGRICULTURA
REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

COMPILACION

DE

TRABAJOS CIENTIFICOS

DEL

Dr. MIGUEL C. RUBINO

MINISTERIO DE GANADERIA Y AGRICULTUR

COMPILACION DE TRABAJOS CIENTIFICOS

DEL

Dr. MIGUEL C. RUBINO

★

RECOPILADOS POR LA COMISION HONORARIA
DESIGNADA POR EL PODER EJECUTIVO

integrada con los Dres. HÉCTOR R. HEGUITO, Decano de la Facultad de Veterinaria; ANGEL TORTORELLA, Sub-Jefe del Laboratorio de Biología Animal "Dr. Miguel C. Rubino"; PEDRO ANASTASÍA, Asesor Técnico del Ministerio de Ganadería y Agricultura; CARLOS FREIRE MUÑOZ, Sub-Jefe del Laboratorio de Biología Animal "Dr. Miguel C. Rubino"; Sr. CARLOS BORCHE, Jefe-Redactor Int. del Servicio de Inf. y Prensa del Ministerio.

MONTEVIDEO
"IMPRESORA URUGUAYA" S. A.
1946

Copyright By: MINISTERIO DE GANADERIA Y AGRICULTURA
DE LA REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

"Impresora Uruguaya" S. A. Cerrito, 699 - Montevideo

La Iniciativa de esta Publicación

En sesión de la Cámara de Senadores de la República, el 7 de Mayo de 1945, aquel alto cuerpo legislativo rindió homenaje a la personalidad científica del Profesor Miguel C. Rubino.

Hicieron uso de la palabra para poner de relieve el dolor que la muerte del doctor Rubino causaba a toda la Nación, los Senadores Bordaberry, Forteza, Bado, Gallinal, Zavala Muniz, Regules, Echegoyen y Moreno Zeballos.

La iniciativa de compilar la obra científica del Profesor Rubino surgió entonces, según da cuenta la versión taquigráfica de la citada sesión del Senado:

"SEÑOR GALLINAL. — En nombre del sector político a que pertenezco, adhiero conmovido a las mociones que se han formulado de homenaje a la memoria del doctor Miguel C. Rubino.

"El doctor Rubino, en largos años de labor modesta y silenciosa en el apartamiento propicio al trabajo de investigación científica, difundió su nombre no solamente en nuestro país, sino fuera de las patrias fronteras, consolidando una justa fama basada en un esfuerzo de estudio y de creación original, que es raro en nuestro medio. Además, siempre que se recurrió a su saber para servir los intereses colectivos, dió plenamente sus actividades al servicio de la Nación, con el desinterés propio de un verdadero hombre de ciencia.

"Como ciudadano, tuvo amor intenso a la cosa pública, y vibró con todos los grandes sacudimientos del alma nacional, manteniendo una limpia ejecutoria democrática.

"Creo, señor Presidente, que a hombres como el doctor Miguel C. Rubino, cuyo pedestal está formado por sus propias obras, el mejor homenaje que se le puede rendir, consiste en arbitrar la manera para lograr la perduración de



DR. MIGUEL C. RUBINO

PRÓLOGO

Miguel C. Rubino perfiló desde niño sus facetas de triunfador. La exaltación de su personalidad se condensa en las sencillas palabras puestas al pie de una fotografía suya que alumnos de su misma escuela primaria, colocaron en la página inicial de un álbum científico de recordación y homenaje: "Preclaro, sabio, ex-alumno de esta Escuela". Y el sabio, sensible a la emoción que le provoca el recuerdo de su infancia, mantenido como un ejemplo al través de sucesivas generaciones de escolares, reintegra el trabajo a sus dueños, con una fotografía de su Laboratorio de Investigaciones y esta dedicatoria: "A la escuela que tanto bien hizo a mi vida".

El ambiente familiar de Rubino intensamente afectivo, es de estrechez económica, consistiendo la única fuente de recursos, una pequeña chacra que cultiva con los suyos. — Las cosechas, que él contribuye a vender por las callejuelas del solar nativo, forjan en su espíritu la directriz estética de su vida, que es la belleza de la obra lograda en las disciplinas del trabajo, a cuyo amparo la conciencia se siente feliz por la transformación de su fuerza en bienestar.

Una etapa difícil en la vida de Rubino son sus años de adolescente. Las posibilidades escolares de la ciudad de Durazno aparecían inciertas por la carencia de Liceo de enseñanza media; su situación económica no le permitía, en el momento, trasladarse a Montevideo, para completar el ciclo secundario de la instrucción. Pero la voluntad, y clarividencia —agregamos— de un selecto núcleo de intelectuales, coterráneos o radicados en el departamento, consiguen orillar esa dificultad; se levanta un Instituto docente sin ningún sostén oficial, recogiéndose para su funcionamiento el aporte generoso de profesionales locales que sirven para instalar modestos laboratorios, gabinetes y museos. El profesorado enseña desintere-

final de este período, ya maduro su intelecto, comienza a profundizar, con vistas puestas en los grandes problemas biológicos, y así logra sus primeras grandes satisfacciones, preparando en Durazno, como primero en el país, el compuesto de bismuto que en la época constituía el máximo adelanto de los sabios franceses en la terapéutica de la sífilis, y también en la época empieza a destacarse en el estudio de las técnicas de serodiagnóstico y especialmente de equilibrio de los sistemas hemolíticos.

Su importante descubrimiento sobre la reacción precoz de la lepra, corresponde a este período de su vida.

Dentro de la gran cantidad de reacciones de Wassermann, que realiza, observa algunas en que los sistemas hemolíticos se comportan en forma al parecer irregular; ahonda el punto. Comprueba que las sangres examinadas procedían de leprosos y su espíritu inquieto lo lleva a investigar en enfermos de otros ambientes, y aún en ambientes extranjeros —en el norte argentino, en el Brasil— la nueva reacción. Comprueba su especificidad y lo propone a los grandes sabios europeos. El gran especialista francés, profesor Marchoux, certifica la exactitud de su descubrimiento y lo consagra, proponiendo a la Academia de Medicina de París, que acepta, la sugestión de designar con el nombre del profesor Rubino, la nueva reacción.

En mérito a este descubrimiento el Gobierno de la República facilita a Rubino una estada de dos años en los grandes centros científicos europeos. Trabaja en Berlín, en el Instituto Biológico "Kaiser Guillermo" y, en Francia, en el Instituto "Pasteur" de París.

El descubrimiento de la reacción serológica de la lepra es de tal trascendencia que justificaría una vida. Piénsese que permite el diagnóstico precoz de la lepra, el único trascendente para su tratamiento eficaz y también porque descubre los errores del diagnóstico clínico que lamentablemente se producían a veces, llevando al aislamiento y a la exclusión de la sociedad, a personas que solo aparentemente estaban aquejadas del terrible mal de Hansen.

Entre tanto, el acervo científico se ha enriquecido con la frecuentación de los Institutos, sabios y laboratorios de mayor fama mundial y su mente totalmente plasmada, está en condiciones de plena y fecunda producción.

El Ministerio de Ganadería y Agricultura rinde pleito homenaje a su capacidad y labor, reuniendo bajo su dirección laboratorios y funciones de investigación, en un Instituto que actualmente lleva el nombre de "Laboratorio de Biología Animal Dr. Miguel C. Rubino".

La obra comenzada y desgraciadamente inconclusa en algunas de sus partes por la inesperada muerte del Dr. Rubino, comprendió —principalmente— trabajos e investigaciones sobre premunición contra la piroplasmosis, que continúa los iniciados en el período 1920-22, en Durazno; diagnóstico de la Enfermedad de Bang, que fundamenta el plan de lucha contra el aborto epizoótico, una esencial mejora sanitaria de las cabañas y principalmente de la industria lechera; diagnóstico y vacuna contra la Peste Porcina; diagnóstico de la Pullorosis y Tifosis Aviarias, que tanto daña a la industria avícola y sobre todo son de destacar sus fundamentales trabajos sobre Fiebre Aftosa. Ellos comienzan en el año 1927 con el estudio de la contagiosidad de la carne de animales enfermos, lo siguen experiencias sobre modificación de los virus y su uso para hemoaftización preventiva. El uso de la sangre de ovino como soporte del virus modificado para su uso en el bovino. Estudios de la epizootia de fiebre aftosa en 1943, así como la identificación del tipo de virus de la epizootia de aftosa maligna de 1943-44.

Ya en las postrimerías de su vida, pleno de voluntad, y aferrado a sus ideales de perfeccionamiento se abstrae en la consideración y estudio metodizado de un tema que es máximo por su importancia global; por la dificultad para resolverlo; y que es consagratorio para el sabio ante la forma brillante con que nos lo ofrece, no obstante su estado físico: es el planeo del Instituto contra la Fiebre Aftosa, que llega a su realización ya desaparecido el sabio que lo fundamentara y lo plasmara.

Tales son algunos de sus principales trabajos y publicaciones.

Esta inmensa obra, que arranca desde los más humildes comienzos debiendo luchar, para culminar, con las mayores dificultades, dibuja con nítidos perfiles su recia personalidad.

Rubino fué todo un hombre y fué un hombre en el sentido más enaltecedor; con una aguda concepción de sus deberes, con una extraordinaria voluntad para hacer el bien, con un férreo espíritu de trabajo. Todo lo dió, incluso su propia vida, en pro de sus ideales vocacionales. Si Rubino hubiera descuidado su plasmado Instituto

Aktive sera bei der komplementbindungsreaktion. Faktoren der sensibilität und unspezifischer ergebnisse ..... Pág. 183
Über die antihämolytischen eigenschaften des menschenserums " 199
Untersuchungen zur verwendung formolfixierter hammelblutkörperchen in der serodiagnostik ..... " 207
Séro-diagnostic de la lèpre par l'agglutino-sédimentation des globules de mouton formolés ..... " 215
Les antigènes lipoïdiques d'organes dans le séro-diagnostic. Nouvel antigène de séro-floculation dans la lèpre ..... " 237
Las reacciones serológicas en la lepra. Su estado actual ..... " 241
El problema de la contagiosidad de las carnes procedentes de animales con aftosa ..... " 257
La fiebre aftosa ..... " 283
"La fiebre aftosa". Estado actual de los conocimientos sobre su profilaxis biológica ..... " 297
Lucha biológica contra la fiebre aftosa ..... " 317
Sobre la actual epizootia de fiebre aftosa (1943) ..... " 355
Identificación del tipo de virus responsable de la epizootia de aftosa maligna de 1943-44 ..... " 367
La difteria en el Uruguay ..... " 371
El enterococcus ..... " 387
Contribución al estudio de la osteomalacia en los bovinos .... " 393
Influencia de la composición del suelo y de los pastos sobre el desarrollo de la osteomalacia de los bovinos (Hipofosforosis) ..... " 411
Capacité d'absorption du sérum sanguin pour la bilirubine pure " 439
Sur la nature de la bilirubine indirecte éthéro-extractible des sérums ictériques ..... " 443
Sobre una técnica para la investigación y dosificación de la bilirrubina en la orina ..... " 449
Contribución al estudio de la Helmintosis gastro-intestinal de los ovinos del Uruguay ..... " 453
Vacuna y vacunaciones contra la Tifosis y Cólera oviarios .. " 481
El Aborto Epizoótico o enfermedad de Bang del ganado .... " 491
Suero-aglutinación en el diagnóstico de las Brucelosis animales " 507
Epizootología de la Brucelosis en el Uruguay ..... " 533
El "Ectima Contagioso" ..... " 547
El Ectima Contagioso de los ovinos ..... " 557

Coccidiosis de los terneros ..... Pág. 563
Informe sobre la preparación de una vacuna contra la peste porcina ..... " 575
Vacuna al Cristal Violeta contra la peste porcina ..... " 583
Medidas de sanidad e higiene en los tambos ..... " 593
La piojera de los animales ..... " 607
Sobre una dermatitis pustulosa contagiosa en las mamas de las vacas lecheras, a Corynebacterium.—Mamitis experimental " 621
Concepto de inmunidad ..... " 631
Sobre Ixodes ricinus ..... " 645
Sobre valores normales de la composición química de la sangre de los bovinos (Bos Taurus) y sus variaciones en los animales atacados de tristeza bovina (Piroplasmosis y Anaplasmosis) ..... " 655
Consecuencias que resultan del uso inadecuado de las tortas de lino y girasol en la alimentación de los cerdos ..... " 697
Sobre el colesterol en los ovinos ..... " 707
Ensayos sobre nuevos tratamientos de la sarna demodéctica en los caninos ..... " 711
La parasitosis intestinal en el Uruguay ..... " 723

presumiblemente más peligrosos para el contagio que los demás animales del país, que viven constantemente sueltos y no sometidos a una explotación debilitante. Por otra parte, las estadísticas prueban que en todo el mundo, y nuestro país no hace excepción, son los animales lecheros los que ofrecen el más alto porcentaje de tuberculosis.

B) Porque la leche es un alimento principalísimo de la especie humana y está probado que ella puede ser el origen del contagio de la tuberculosis humana, especialmente en los niños.

PROFILAXIA OBLIGATORIA Y PROFILAXIA LIBRE

Descontada la vacunación o provocación de la inmunidad, en la lucha contra la tuberculosis, precioso medio que da excelentes resultados en otras epizootias, queda como único recurso la destrucción del foco tuberculoso, es decir, la eliminación de los animales atacados y la desinfección de los establos, comederos, bebederos, etc.

Para la eliminación del animal tuberculoso es necesario antes reconocerlo y a este respecto el uso de la "tuberculina" o "tuberculinización" se impone como una de las más grandes conquistas en materia de reacciones reveladoras.

En cuanto a la desinfección de establos, comederos, bebederos, etc., no insistimos en este lugar, porque en este país y en sus explotaciones rurales sólo tiene el valor de medida complementaria que estudiamos en otro sitio de este informe.

La lucha antituberculosa animal debe tener, pues, como base, la tuberculinización de los animales y la eliminación de los reaccionantes. ¿Pero esa profilaxia debe ser obligatoria o libre?

Se han hecho públicas opiniones a favor de uno y otro sistema; pero se desprende de todos los antecedentes que hemos tenido en cuenta que existen por lo menos dos posibles errores de interpretación en las opiniones que se dan en favor de la profilaxia libre: 1.° Que se toman opiniones vertidas respecto a profilaxia general de los ganados y no especialmente a ganados de tambos y lecherías, y 2.° Que al referirse a profilaxia libre, algunos hombres de ciencia, no entienden por eso dejar librado al propietario el derecho de hacer o no el saneamiento de sus ganados de la tuberculosis, sino simplemente que no se reduzcan a medidas impositivas con monopolio del Estado; en cuanto a la acción efectiva con ese fin, exigen la intervención de cooperativas y sindicatos rurales, ya instalados o fomentados en su información por el Estado, los que se deberán regir por una reglamentación especial, en lo que establece la obligación por el productor que desee formar parte, de tuberculinizar todos sus animales; la profilaxia deja pues de ser libre, convirtiéndose en obligatoria.

Esto en algunos países europeos tiene su explicación, la lucha antituberculosa plantea a los propietarios una grave cuestión pecuniaria agudizada en alto grado por el fuerte porcentaje de animales tuberculosos; frente al interés personal del lechero que tendería a salvar sus animales, burlando la ley, debe existir el interés general de la colectividad que tiene que velar por el porvenir y de estos dos intereses el superior debe regir al inferior. La llamada profilaxia libre antituberculosa de Europa, no es otra cosa que una profilaxia obligatoria sin monoplio del Estado.

Ahora bien: ¿Es posible implantar en nuestro país una análoga profilaxia? No, no es posible. En el Uruguay no hay ninguna sociedad que se haya dedicado a estos altos fines de profilaxia antituberculosa animal, que haya hecho propaganda por el saneamiento y mejoras higiénicas de la leche, que haya establecido seguros mutuos entre sus asociados, en fin, que ofrezca a la Higiene y Economía Nacional, bastantes garantías para que sean consideradas por sí solas como suficientes. En tales condiciones es forzoso que el Estado la tome a su cargo y haga, bajo su responsabilidad, esos servicios que afectan intereses tan generales y vitales sin perjuicio de que estimule la cooperación del productor o de las sociedades que lo representen.

No es posible que en un asunto de tal magnitud se proceda con criterio unilateral, confiando precisamente a parte interesada, la tutela de esos asuntos; aún suponiendo que la mayoría de los lecheros, tuviera la patriótica inspiración de hacerlo, sacrificando sus intereses personales bastaría que una pequeña minoría, que un solo productor, fuese refractario, para que todo el sistema fracasase, creando y manteniendo focos de infección, que destruirían la obra de los otros.

Además, la cuestión tuberculosis animal interesa a todos los productores de ganado del país. Según nuestro régimen de pastoreos, no es posible separar netamente las diversas explotaciones, el ganado de lechería pasta en los mismos potreros que el ganado de carne; el último destino del animal lechero es el matadero, previo engorde junto con el resto del ganado; cualquier tolerancia en la tuberculosis lechera, crearía peligrosas fuentes de contagio para todo el ganado del país y nosotros creemos que, aún dejando aparte otras cuestiones, el interés de los menos, el de los lecheros, no debe primar hasta el punto de convertirse en peligroso, sobre el de los más, que son los ganaderos.

Sería totalmente inútil que nos preocupáramos de tuberculinizar y aún sacrificar animales finos, reproductores de gran valor, para protegernos de la importación de esta enfermedad, si abandonáramos a la buena voluntad de unas pocas personas el derecho de combatir o acrecentar la tuberculosis ya existente en el País.

4.º — Que siendo la tuberculinización el único método práctico para la revelación de los animales tuberculosos, dando base por lo tanto para su eliminación, cualquier otro sistema que se desee implantar deberá considerarse, especialmente en lo que respecta a la profilaxia en las especies animales, como complementario o accesorio.

5.º — Teniendo en cuenta la importancia que para la Higiene y la Economía Nacional tiene la eliminación de los animales de lechería atacados de tuberculosis, la *Tuberculinización de los Animales Lecheros debe ser Obligatoria*, entendiéndose como tal obligatoriedad que la prueba de la tuberculina debe realizarse, sin que ello implique que deba ser hecha oficialmente; pero sí, siempre por Médico Veterinario.

6.º — La Policía Sanitaria Animal deberá reservarse el derecho de contralorear las tuberculinizaciones y de reglamentarlas.

7.º — La Policía Sanitaria Animal, al reglamentar los servicios de tuberculinización, especialmente en lo que respecta a método, época, etc., deberá contemplar los intereses económicos de la industria lechera.

8.º — Sería de desear que los técnicos, cuando practiquen tuberculinizaciones, trataran de reconocer cualquier otra enfermedad contagiosa de los animales, sobre todo cuando hubiere razón de sospechar, e informarán a la Policía Sanitaria Animal acerca del estado sanitario del ganado.

9.º — Que los propietarios cooperen a la producción higiénica de la leche, tomando las medidas de aislamiento, desinfección, etc., y denunciarán a la Policía Sanitaria Animal o pidieran la intervención de un técnico cuando notaran la presencia de algún animal enfermo de enfermedad contagiosa o sospechoso de estarlo.

10. — Que en las lecherías urbanas desde este momento y en las rurales apenas sea posible, se exigiera el examen médico de las personas que intervinieren en el ordeñe y expendio de la leche.

11. — Teniendo en cuenta que para obtener el máximum de resultados en la profilaxia de la tuberculosis y en la producción higiénica de la leche es necesaria la cooperación de los productores, sería conveniente que los Poderes Públicos no solo trataran que las medidas a aplicarse fuesen lo menos onerosas posibles, sin desnaturalizarlas sin embargo, sino que por medios directos e indirectos interesaran y estimularan la intervención de los propietarios, a estos fines indicamos estos deseos:

A — Que se estudie una forma de indemnización en materia de decomiso, que contemple el justo valor del animal de lechería.

B — Que el Banco de la República u otras Instituciones de Crédito, concedan créditos especiales a los propietarios de lecherías para que puedan reponer sus animales de producción, mejorar las condiciones de explotación, etc.

C — Que se creará el título de *Lechería Higiénica* para todo establecimiento de industria lechera que se sujetará a una reglamentación sanitaria especial. En este caso los establecimientos de Asistencia Pública Nacional e Instituciones Oficiales, deberían comprometerse a no utilizar sino leches provenientes de lecherías que posean aquel título.

D — Sería conveniente que el Banco de Seguros del Estado, estudiara la posibilidad de establecer un seguro de animales de lechería, contemplando especialmente en cuanto a las primas, indemnizaciones, etc., el fomento de la producción de leche higiénica.

E — Que se organizará en la Inspección de Policía Sanitaria Animal, una sección especial, con el personal ya afectado al servicio de Tambos y Lecherías, el Inspector Nacional y delegados de los productores.

Esta Sección tendría a su cargo la dirección y organización del servicio de control de la profilaxia anti-tuberculosa en los animales lecheros y de la producción higiénica de la leche; debiendo informar anualmente de los resultados obtenidos, modificaciones a introducirse, etc.

consiguió tuberculizar terneros con material de procedencia humana. Estaban pues así, establecidas las bases para asentar la teoría unicista, o sea, de la identidad etiológica de las Tuberculosis del hombre y de los animales.

A esta primera estapa experimental, siguió una segunda etapa, que se inició con los descubrimiento de Robert Koch. Este eminente sabio, por trabajos realizados en los años 1882-1884, demuestra en lesiones ya de Tuberculosis humanas, ya de algunas Tuberculosis animales, la presencia constante de un bacilo, siempre con los mismos caracteres, cultivable y cuya inoculación a los animales de laboratorio producía las mismas lesiones tuberculosas, cualquiera fuera el origen del bacilo, humano o animal. Este descubrimiento de R. Koch parecía así consolidar definitivamente el concepto de la unidad etiológica de las Tuberculosis, nacido como consecuencia de las experiencias de Villemin y Chauveau.

Este estado de las opiniones, persiste hasta la célebre comunicación de Robert Koch, al Congreso de Londres en 1901; en que hace una revisión de los estudios experimentales sobre la Tuberculosis y establece el distinto comportamiento, en cuanto a virulencia experimental, de los bacilos de los distintos orígenes, humano o animal. Demostrando que no obstante la semejanza de los bacilos humanos y bovinos, los primeros eran muy poco virulentos para los bovinos, contrariamente a los bacilos del mismo origen, (bovino).

Actualmente, con los grandes progresos de las técnicas bacteriológicas, se han podido precisar mejor las características de los distintos bacilos tuberculosos, habiéndose llegado a las siguientes nociones:

1.º — Un tipo humano, *Mycobacterium tuberculosis hominis*, responsable principal de la Tuberculosis humana; pero que puede infectar a otras especies.
2.º — Un tipo bovino *Mycobacterium tuberculosis bovis*, responsable de la Tuberculosis de los bovinos, pero que puede infectar a otras especies animales y al hombre.
3.º — Un tipo aviario, *Mycobacterium tuberculosis avium*, responsable de la Tuberculosis de las aves; pero que puede infectar a otras especies animales y al hombre.
4.º — Un grupo de bacilos ácido-resistentes encontrados en lesiones de los animales a sangre fría, entre los cuales se encuentra el Bacilo de Friedmann, con un rol patógeno, la mayoría de las veces muy discutible.

Yo no voy a tratar las bases experimentales y biológicas de esa clasificación, porque el Prof. Hormaeche lo ha hecho en su disertación, y lo ha hecho con toda la autoridad que le da su competencia notoria en el tema.

CLASIFICACION DE LAS TUBERCULOSIS ANIMALES

Para exponer más claramente la cuestión, haremos una clasificación según las diversas especies animales, con prescindencia en cierto modo, del tipo de bacilo causal.

Comprenderemos así los siguientes grupos:

a) — Tuberculosis de los bovinos y otros rumiantes domésticos (oveja y cabra).
b) — Tuberculosis de los porcinos.
c) — Tuberculosis de los equinos.
d) — Tuberculosis de los carnívoros domésticos, especialmente: perro y gato.
e) — Tuberculosis de los mamíferos salvajes en cautividad.
f) — Tuberculosis de las aves domésticas y de las salvajes en cautividad.
g) — Tuberculosis de los animales a sangre fría.

A) — TUBERCULOSIS DE LOS BOVINOS Y RUMIANTES DOMESTICOS

De las Tuberculosis animales es probablemente la mejor conocida y su estudio interesa doblemente; por una parte, su repercusión en la salud del hombre y por otra, su repercusión económica, dado que la especie bovina representa en la mayoría de los países, un factor económico de importancia y en algunos, tales como el nuestro, uno de los principales.

El agente etiológico casi exclusivo es el *Mycobacterium tuberculosis bovis,* muy próximo al tipo humano, pero que se distingue del mismo, por caracteres de cultivos y virulencia frente a las distintas especies animales.

La Tuberculosis en los bovinos se presenta generalmente como una infección crónica, a evolución lenta. Muy frecuentemente, salvo en las localizaciones superficiales, la infección pasa desapercibida; sin síntomas aparentes. El silencio de la infección llega a tal punto, que a veces en los concursos de animales gordos, los premios han correspondido a animales con un cierto grado de generalización de la infección tuberculosa. Los animales jóvenes sufren más, como consecuencia de las exigencias energéticas del crecimiento. Igualmente los animales de trabajo y especialmente las vacas en producción lechera. Sin embargo, como es presumible, cuando la infección toca con intensidad órganos vitales, los síntomas se hacen aparentes. Por otra parte, un grado avanzado de la evolución, hace febriles a los animales y los lleva a un estado de caquexia. Respecto a la temperatura, debo hacer notar que, en la especie bovina, ligeras variaciones no tienen ningún significado, pues si bien se admite como

miscuidad de sanos con enfermos; la proximidad para el contagio; la falta del ejercicio saludable; la falta de la acción esterilizante de la luz solar, etc. Las vacas lecheras son las que pagan el mayor tributo, porque a las circustancias apuntadas, se agrega la pérdida energética, el desgaste fisiológico a que están sometidas continuamente, por la producción de leche.

Los cuadros Nos. 1 y 2, ilustran a este respecto; el primero, corresponde a una información dada por la Sección Leche de la Dirección de Ganadería y el segundo, de la Sección Industria animal de la misma Institución.

CUADRO N.º 1

TAMBOS

TUBERCULINIZACIONES TOTALES DE 1934 A PRIMER TRIMESTRE DE 1940

	N.º de animales	Positivos	Porcentaje
Lazaretos	36.729	3.470	9.4 %
Insp. Vet. Regionales	30.885	3.360	10 %
Médicos Vet. Particulares Oficiales	5.158	393	7.6 %
TOTALES	72.772	7.223	10 %

CUADRO N.º 2

ANIMALES VACUNOS SACRIFICADOS EN LOS FRIGORIFICOS Y DECOMISADOS POR LA TUBERCULOSIS

AÑO 1937 - 1939

Años	Animales faenados	Tuberculosis Total	Tuberculosis Parcial	Total de Tuberculosis	Porcentaje de los totales
1937	932.276	2.418	3.880	6.298	0.67
1938	963.827	2.215	3.111	5.326	0.55
1939	961.097	2.555	3.600	6.155	0.64

Se ve claramente por el cuadro N.º 1, que el porcentaje de Tuberculosis en el ganado lechero es muy elevado, —oscilando de un 7,5 % a un 10 %—; en cambio en los animales de campo, es apenas superior a 0.5 %.

Los porcentajes elevados en los animales lecheros, se deben sin duda alguna, a que en estos últimos años, por razones circunstanciales, fueran modificadas las disposiciones de profilaxis de la Tuberculosis bovina, exigiéndose solamente, la eliminación y sacri-

ficio de los animales clínicamente tuberculosos y ya hemos dicho, lo difícil que es hacer un tal diagnóstico en los grandes bovinos, con Tuberculosis, la mayoría de las veces, disimulada dentro de la enorme masa de las vísceras de esos animales.

No obstante, para los tambos de Montevideo, la Dirección de Ganadería ha observado un mayor rigor, rechazando desde los Lazaretos, los animales reaccionantes, lo que permite asegurar para los animales de esos tambos, una sanidad completa o casi completa del punto de vista de la Tuberculosis.

En los otros rumiantes, ovinos y caprinos, la Tuberculosis es muy rara, en un grado tal, que se les ha considerado, especialmente a los ovinos, como refractarios a esa enfermedad.

Las estadísticas a mi alcance, dan para los caprinos, un porcentaje de 0.17 en Francia; datos que no pueden ser tomados como definitivos, porque dependen del grado de extensión y de minuciosidad en la búsqueda de lesiones.

En la oveja, en dos casos, S. A. Griffith, aisló un bacilo con los caracteres del bacilo aviario.

B) — TUBERCULOSIS DE LOS PORCINOS

La Tuberculosis de los porcinos, sigue a continuación de la de los bovinos en cuanto a importancia, tanto sanitaria, como económicamente; siendo muchas veces más frecuente que en los bovinos no obstante la vida económica del cerdo, mucho más breve que la de los animales de aquella especie.

Es que la frecuencia y la severidad de la infección tuberculosa, en animales igualmente sensibles, está estrechamente vinculada a las condiciones de vida de los mismos, a la clase de alimentación, etc., y la vida del cerdo, en las explotaciones comunes, de mediana escala, en la mayoría de los países y en nuestro país, favorece de un modo muy sensible la infección tuberculosa. En efecto, la cría del cerdo integra mucha veces, el ciclo de otras explotaciones industriales, de granja, etc., como medio de un mejor aprovechamiento de residuos, de origen animal o humanos, frecuentemente contaminados por el B. de Koch. Así la cría del cerdo, figura al lado de mataderos insalubres, de saladeros para el aprovechamiento de las vísceras y deshechos; de las lecherías, cremerías y queserías, para el aprovechamiento de la leche descremada, del suero de leche, seguramente contaminadas con el B. de Koch, de origen bovino; en los ejidos y chacras de los pueblos y ciudades, para el aprovechamiento de los residuos alimenticios del hombre, ya del hogar privado, ya de los hoteles y restaurants, etc., y, como broche de todo eso, está la vida en promiscuidad con otras especies; con las vacas lecheras, que dentro de los bovinos, pagan el mayor tributo a la infección Tuber-

Datos de la Comisión Real Inglesa:

Sobre 59 casos, 50 del Tipo bovino, 5 del aviario, 3 del humano y 1 asociación del bovino y aviario.

Datos de Eastwood y Griffith, Inglaterra, sobre 78 casos, 47 del tipo bovino, 26 aviario, 2 mixtos y 2 atípicos.

En Dinamarca, sobre 114 casos, 28 al bacilo bovino y 86 al tipo aviario.

De Kersten y Ungermann, 80 tipo bovino, 6 aviario, 3 humano y 1 mixto.

En Estados Unidos de N. América, sobre 209 casos, 185 aviario, 11 de mamíferos y 13 mixtos.

Y en el Uruguay, según los análisis practicados en el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería y en el Instituto de Higiene Experimental, solamente se ha encontrado el tipo bovino, no obstante las alarmas provocadas, por el uso de residuos alimenticios de los hospitales.

De los datos que hemos mencionado, se deduce la extraordinaria frecuencia, sobre todo para algunos países, de la participación del bacilo aviario en la Tuberculosis del cerdo, hecho que no se comprueba para ninguna otra especie animal y probablemente depende, además de factores de orden orgánico, de la forma en que se cría el cerdo, en promiscuidad con las aves.

C) — TUBERCULOSIS DEL CABALLO Y DEL ASNO

Estas dos especies han disfrutado del concepto de que son refractarias a la Tuberculosis, pero esto no es verdad. Lo que es verdad, es que esas dos especies son muy poco infectadas por el bacilo tuberculoso y mucho menos el asno. Hay en la bibliografía mundial 2, 3, ó 4 casos de Tuberculosis experimental. La experimentación ha podido demostrar que el asno se infecta con relativa facilidad

En cuanto a los caballares, se observa que en Francia existe 1 caso sobre 10 a 15.000 animales, tomados en las carnicerías de equinos de Francia. En cambio en Alemania, existe para Prusia, un 1 % y para Sajonia 2.2 %.

Los datos son tan diferentes, que facilmente se es llevado a pensar si en realidad el mayor índice de infección en Alemania, no se debe a una inspección más minuciosa de los animales sacrificados.

La Tuberculosis en el caballo, es tórpida, tiene un tipo productivo, pasa muy a menudo disimulada. Es más frecuente la forma pulmonar y la forma intestinal. Lo curioso es que la forma intestinal, se debe al bacilo tipo aviario.

Se describen algunos síntomas, entre ellos una poliuria que representa 2 o 3 veces la cantidad normal de orina, siendo ésta de 4 a 5 litros diarios; también la aparición de ácido úrico en la orina, disminuyendo o desapareciendo el ácido hipúrico. Sucede como si el caballo se hiciera carnívoro a expensas de sus propias proteínas.

Los bacilos responsables son el bovino y el aviario. El tipo bovino se hallaría en las formas pulmonares, mientras que el aviario se encontraría en las formas intestinales. A veces se ha encontrado el tipo humano.

D) — TUBERCULOSIS DEL PERRO Y DEL GATO

La Tuberculosis es frecuente en los perros y es la mejor estudiada desde el punto de vista clínico.

Clínicamente se presenta bajo diversas formas: pulmonares, granulia, nodular, neumonia caseosa, con o sin cavernas y en las serosas.

El perro se infecta más frecuentemente de Tuberculosis por su proximidad con el hombre. La vida del perro y la habitual proximidad al hombre, parece que son las circunstancias más frecuentes para la contaminación de ese animal.

Douville en una estadística de 100 perros tuberculosos, ha encontrado que 51 eran perros de café y restaurants, 23 eran perros que estaban en contacto con enfermos pulmonares. La infección del perro es producida principalmente por el tipo humano, en cambio el gato, paga tributo a la tuberculosis bovina y al tipo humano.

El diagnóstico del punto de vista clínico ofrece algunas ventajas, en relación con las otras especies, pero, cuando faltan los signos característicos, no es fácil hacer el diagnóstico pudiendo guiarse solamente, por el estado general, el examen del sistema ganglionar, etc. Se puede recurrir también al análisis de la expectoración, de lesiones, punciones de las cavidades serosas, pleurales peritoneales; pero generalmente se debe apelar en tales casos, a las pruebas de la tuberculina, por inyección subcutánea, a la reacción térmica. Los métodos de fijación del complemento, permiten hacer con bastante frecuencia el diagnóstico de Tuberculosis del perro.

En cuanto a la frecuencia de la Tuberculosis en el perro, voy a dar para el Uruguay, algunos datos suministrados por los Profesores Carballo Pou y O. Viera, y que pertenecen en su mayoría, al Instituto de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria.

En tales condiciones, en los monos de nuestro Jardín Zoológico no se produjeron más casos de Tuberculosis desde el año 1929.

Otras especies de mamíferos contraen también la tuberculosis. Entre ellas los grandes felinos, elefantes, camellos, llamas, osos, jirafa, tapir, etc. El tapir parece ser un animal muy sensible: el Dr. De Boni refiere tres casos en nuestro Jardín Zoológico y un caso en Pacá que compartía el mismo albergue con un tapir Tuberculoso.

En cuanto a los bacilos responsables en estas especies, se tienen datos interesantes en los monos. L. Rabinowitch, estudió 45 casos en el Jardín Zoológico de Berlín, entre ellos 19 casos correspondieron al tipo humano y 3 al bovino. Lindemann, sobre 5 casos, en 2 comprobó el tipo humano y en 3 el bovino. En otras especies animales se han encontrado los tipos humanos, bovino y más rara vez el aviario.

f) — TUBERCULOSIS EN LAS AVES

Todas las especies de aves, cuando están en cautividad pueden contraer la Tuberculosis: gallinas, pavos, patos, palomas, faisanes, etc. Según el Dr. De Boni, en el Jardín Zoológico se habrían mostrado más sensibles los faisanes, garzas y teru-terus.

Está demás decir, que el bacilo responsable, es casi exclusimente el aviario, con excepción de los psitácidos, loros, papagayos, en que se ha comprobado el bacilo tipo humano. Este hecho muy particular, se debe sin duda alguna, a la circunstancia de que esas aves viven a veces en casi continua proximidad del hombre y demuestra, como ya lo había comprobado Nocard, la posibilidad de la adaptación de un tipo de bacilo a un medio que habitualmente no le es propicio. El Dr. De Boni cita un caso (dato trasmitido directamente) de un loro con lesión tuberculosa cutánea, loro que vivía en el apartamento de un tuberculoso crónico.

En cuanto a las localizaciones, aunque el proceso tuberculoso puede tener asiento en todos los órganos, presentan algunas particularidades, siendo muy frecuentes las localizaciones en el hígado, médula ósea y bazo, según resulta del siguiente cuadro:

En hígado	95 %
En médula ósea	90 %
En bazo	80 %
En digestivo	75 %
En pulmón	40 %

En los psitácidos se observan frecuentemente lesiones cutáneas, en forma de ulceraciones, nódulos y a veces en la piel de la cabeza, en las comisuras y en la lengua, una muy característica, de aspecto enteramente córneo, como si fuera un verdadero cuerno.

g) — TUBERCULOSIS DE LOS ANIMALES A SANGRE FRIA

Aunque esta cuestión interesa poco o nada del punto de vista de la infección tuberculosa del hombre, voy a decir algunas palabras al respecto.

En los peces, reptiles y batracios han sido encontrados por algunos investigadores lesiones con caracteres semejantes a las lesiones de las Tuberculosis verdaderas, de las cuales han sido aislados bacilos ácidos-resistentes a los que se les ha atribuido un rol patógeno. Asi ha sido descripto por Dubard, Bataillon y Terre, un bacilo patógeno para los peces; y para los batracios y reptiles se han descripto varios bacilos ácidos-resistentes, entre ellos, uno por Aronson que sería patógeno para las serpientes, la tortuga, los lagartos y otro, el que ha tenido mayor repercusión, aislado por Friedmann del pulmón de una tortuga del acuario de Berlín.

También algunos investigadores, describieron experiencias, según las cuales bacilos ácido-resistentes aislados de animales a sangre fría, podrían ser vueltos virulentos para los mamíferos, por pasajes sucesivos. Sin embargo esto no parece comprobado, atribuyéndose los resultados aparentemente probatorios obtenidos en algunas experiencias, no a la transformación, sino a una selección de bacilos de mamíferos que coexistirían con bacilos ácidos-resistentes en lesiones de animales a sangre fría; dado que estos hallazgos tenían lugar a partir de animales de acuarios, expuestos a albergar pasivamente bacilos humanos.

Las investigaciones de estos últimos años, demuestran concluyentemente, que los bacilos aislados de los animales de sangre fría nada tienen que ver con los verdaderos bacilos tuberculosos responsables de las lesiones del hombre, de los mamíferos y de las aves.

PARTICIPACION DE LA TUBERCULOSIS DE LOS ANIMALES EN LA TUBERCULOSIS DEL HOMBRE

Quizás sea considerado por algunos que este punto no estaría comprendido dentro del tema que estoy tratando, puesto que la discusión tiene en primer término un punto de partida de hallazgos en la infección humana. Pero dado que la verificación experimental hace entrar en consideración la infección en los animales y dada la importancia y la responsabilidad que resulta para el médico Veterinario del punto de vista de la profilaxis de la infección tuberculosa del hombre, se hace difícil no decir por lo menos algunas palabras, cuando se trata comparativamente de la Tuberculosis en las diversas especies.

FRECUENCIA DEL TIPO BOVINO EN LAS DIVERSAS FORMAS DE TUBERCULOSIS HUMANA

FORMAS DE TUBERCULOSIS	INGLATERRA Y ESCOCIA Totales	INGLATERRA Y ESCOCIA bovinos	DINAMARCA Totales	DINAMARCA bovinos	ALEMANIA Totales	ALEMANIA bovinos	Porcentaje bovino		
Adenitis cervicales	260	158	251	63	94	21	60,7	25	22,3
Huesos y Articulaciones	716	183			87	4	25,6	6,9	4,6
Génito Urin.	54	6	567	95	24	0	13,3		0,0
Lupus	188	93			288	70	49,5		24,3
Pulmones	1.040	25	1.874	188	347	4	2,24	9,97	1,2
Autopsias	464	125	—	—	181	17	26,9		9,4
Diversos	31	9	—	—	7	4	29,1		57,0

NOTAS. — Donde dice totales se refiere al número total de casos de Tuberculosis; donde dice Bovinos, los casos imputables al B. Bovino. — Los porcentajes, al final del cuadro, la columna de la izquierda corresponde a Inglaterra y Escocia, la del medio a Dinamarca y la de la derecha a Alemania.

PROPORCIONES DE INFECCIONES BOVINAS EN LAS DIFERENTES FORMAS DE TUBERCULOSIS HUMANA POR CATEGORIA DE EDAD

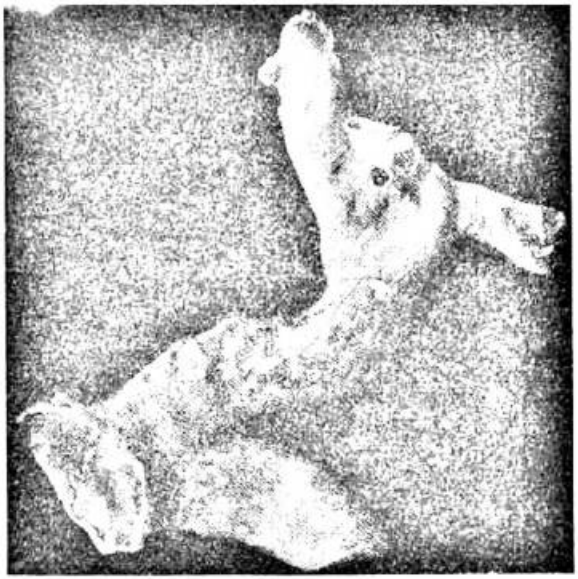
FORMAS DE TUBERCULOSIS	INGLATERRA	ESCOCIA	DINAMARCA	ALEMANIA	ESTADOS UNIDOS
Adenitis cervicales	(1) 85,7	(1) 84,9	(3) 82,5	(1) 40,0	(1) 75,8
			(4) 30,9	(2) 9,9	(2) 40,8
Huesos y articulaciones	(1) 23,3	(1) 60,5	(3) 24,4		(1) 50,0
Génito-urin.	(4) 33,3	(2) 40,0			
Lupus	(1) 37,3	(1) 100,0		(2) 27,0	
Pulmones	(4) 0,8	(4) 3,8	(3) 6,8	(1) 4,3	(1-2) 0
Autopsias	(1) 29,7	(1) 33,3		(2) 17,8	
Diversos	(1) 33,3	(2) 75,0			

Explicaciones: (1) menos de 5 años; (2) de 5 a 15 años; (3) menos de 15 años y (4) más de 15 años.

SOBRE UN CASO DE VERDADERA OSIFICACION DE LA AORTA EN UN BOVINO

(Publicado en la Revista de Medicina Veterinaria, Año III, N.° 17, 1919).

Describimos el presente caso, aunque desprovisto de mayor interés práctico, por no haber podido obtener sino muy pocos datos, entendiendo que siempre el hecho constatado, aún aislado, tiene alguna importancia, ya porque puede ser el punto de partida de nuevas observaciones, ya sea porque varios de ellos pueden motivar



interpretaciones de algún alcance, orientando investigaciones. Por otra parte, la alteración que describimos, sino por su naturaleza, por lo menos en su extensión creemos no ha sido constatada en Medicina Veterinaria (1).

(1) No hemos podido encontrar ningún caso descripto de osificación de las arterias en los animales. Kitt. Edición 1906, ni siquiera anota la lesión.

motivo de los ensayos, preparaciones de músculos de ratas triquinosas, recientemente muertas con ese fin; los resultados demostraron la insuficiencia de los procedimientos. Por la calefacción suave de las preparaciones no se obtuvo movimiento visible de las larvas, tanto en las preparaciones de jamón triquinoso como en las de músculos de ratas; sin embargo, las larvas de estos últimos estaban vivas, como debía suponerse y así resultó de los ensayos realizados.

En cuanto a la acción del picro-carmín, los resultados fueron del mismo orden. Pequeñas fracciones de carne con triquinas de ambos orígenes, fueron colocadas previa dislaceración, en una solución de picro-carmín; las fibras musculares tomaron los colores, dificultando la visibilidad de las larvas, pero éstas nunca se coloraron y sin embargo, según resultó de investigaciones posteriores, las de las preparaciones de jamón estaban muertas.

En vista de tales resultados me decidí a hacer algunas experiencias, propendiendo a establecer condiciones más precisas como base de un diagnóstico exacto.

Fué mi primera orientación obtener la liberación de las larvas enquistadas, para hacerlas más accesibles a la observación y a la acción de los excitantes físicos y químicos. Para ello ensayé la digestión artificial de los músculos triquinosos por el jugo gástrico.

Para la digestión utilicé, primeramente, jugo gástrico preparado según la fórmula que da Ransom en su trabajo citado, que es la siguiente:

Pepsina	gramos 2.50
Acido clorhídrico	c. c. 10.00
Cloruro de sodio	gramos 5.00
Agua hasta formar	c. c. 1000

En la digestión del jamón triquinoso prescindí del cloruro de sodio, en la preparación del jugo gástrico, por encontrarse ya esa substancia abundantemente en el jamón.

Primera experiencia

Tres a cinco gramos de jamón bien desmenuzado, eran colocados en 150 a 200 c. c. de jugo gástrico (según la fórmula indicada) en un matraz Erlenmeyer y luego puesto en estufa a 37°-38° c. por espacio de 18 a 20 horas. Al cabo de ese tiempo, aunque el aspecto era de que la digestión no estaba terminada, hice el examen microscópico, echando una parte del contenido del matraz, previamente bien agitado, en una cápsula de Petri. Para ese examen utilicé el mismo aumento que para el examen triquinoscópico común (obj. 16 m. m. y ocular 2).

Observé varias larvas libres, todas afectando la forma de cifra 6 (fig. 1) y algunos quistes en vía de digestión.

Coloqué nuevamente el matraz en la estufa para que continuara la digestión; al cabo de otras 24 horas hice nuevamente el examen: todos los quistes estaban disueltos y las larvas libres, afectando todas ellas la forma de cifra 6. Las larvas no reaccionaban por calefacción, que al principio la hice suavemente y luego más fuerte.

El aspecto uniforme de todas las larvas (en cifra 6) y la no reacción al calor, hacía suponer que estuvieran muertas.

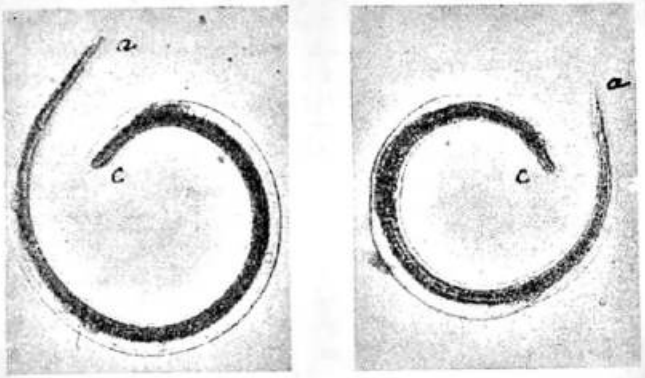


Fig. N.º 1. — Larvas muertas de Triquinella Spiralis. Muestran la forma en cifra 6

Segunda experiencia

Deseando aclarar bien los hechos y dar justa interpretación a las observaciones anteriores, puse en digestión artificial en las mismas condiciones que la experiencia primera, músculos de ratas triquinosas, recientemente muertas a ese fin, y comprobada la existencia de larvas de triquina con la observación microscópica. Observé entonces, que todas las larvas libres afectaban la forma de una espiral completamente cerrada y que por calefacción suave se movían, desenvolviéndose (Fig. 2).

Tercera experiencia

Pensando en el posible error de que las triquinas del jamón, aún estando vivas, pero con vitalidad muy disminuida por la salazón y tiempo de conservación, podían resultar muertas al final de la

digestión artificial, por la acción del ácido clorhídrico en fuerte concentración (10 $^{0}/_{00}$) del jugo gástrico, y teniendo en cuenta que el jugo gástrico natural actúa enérgicamente a una concentración ácida sólo del 2 $^{0}/_{00}$ y que la fuerte proporción indicada por Ransom debe obedecer a evitar por ese medio la putrefacción, factor que en este caso muy poca importancia tiene por la brevedad de la experiencia (1), hice un nuevo ensayo de digestión artificial con jugo gástrico de acidez 5 $^{0}/_{00}$ solamente, y aumenté la cantidad de pepsina para hacer más activa la digestión. El jugo gástrico empleado quedó formado según la siguiente fórmula:

Pepsina	gramos	5.00
Acido clorhídrico.	c. c.	5.00
Agua destilada hasta.	c. c.	1000

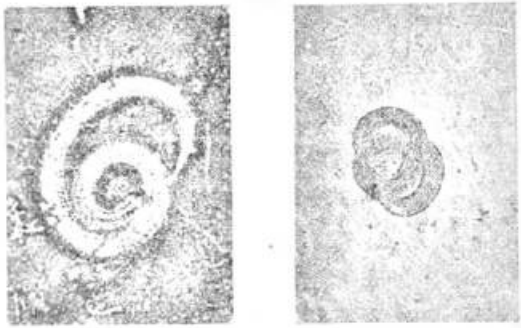


Fig. N.° 2. — Larvas vivas del mismo parásito, en espiral un tanto desenvuelta por la acción del calor

Cuando en lugar de digerir jamón digería músculos de rata, agregaba cinco gramos de cloruro de sodio. Puesto a digerir en las mismas condiciones de temperatura, resultaban al cabo de las 18-20 horas, libres todas las larvas y comprobé que aún en esas condiciones las larvas afectaban la misma forma.

(1) El día 4 del mes de Abril próximo pasado, a pedido del señor doctor Kurt Wolffhügel, puse a digerir en jugo gástrico con ácido clorhídrico en concentración del 5 ‰ una rata triquinosa entera (menos la piel), para numerar las larvas que tenía en el sistema muscular. El líquido de digestión entró en putrefacción a las 48 horas, posiblemente porque el ácido clorhídrico fué neutralizalo por la cal de los huesos, pues al final de ese tiempo (48 horas) tenía reacción alcalina; sin embargo las larvas estaban aún vivas el 2 de Mayo, lo que prueba que resisten mucho a la putrefacción.

ACCION DE LOS COLORANTES

En el deseo de comprobar si el uso de algunos colorantes podrían ser utilizados como elementos de prueba para establecer el estado de vida o muerte de las larvas de triquina, hice algunas experiencias.

Comencé por utilizar el Picro-carmín recomendado por Rennes (l. c.).

Primera experiencia

Puse a digerir, en las condiciones indicadas anteriormente, por una parte pequeñas porciones del jamón triquinoso, y por otra de músculos de rata triquinosa, en matraces de Erlenmeyer. En cada matraz, que contenía aproximadamente 50 c. c. agregué 8 a 10 c. de Picro-carmín; colocados en la estufa a 37°-38° c. los retiré a las 18-20 horas; hecho el examen microscópico, observé que las triquinas procedentes del jamón, además de afectar la forma de cifra 6, el protoplasma estaba colorado intensamente en amarillo (razón por la cual aparece en negro en la Fig. 1); las triquinas procedentes de los músculos de rata estaban en espiral cerrada y completamente incoloras.

Constituía un dato más en favor del estado de muertas de las triquinas procedentes del jamón. Sin embargo, me llamó la atención que el protoplasma apareciera solamente colorado en amarillo, dando la impresión de que sólo hubiera actuado el ácido pícrico y no el carmín. Para aclarar ese punto, hice la siguiente experiencia:

Segunda experiencia

Coloqué a digerir en dos Erlenmeyer, por separado, jamón, más jugo gástrico, más carmín, y jamón, más jugo gástrico, más ácido pícrico. Al final del tiempo de digestión (18 a 20 horas), comprobé que las triquinas que sufrieron la acción del carmín permanecían completamente incoloras, mientras que las que habían estado en contacto con el ácido pícrico se habían colorado intensamente en amarillo. Quedaba, pues, perfectamente aclarado que la coloración que tomaban las triquinas muertas por la acción del Picro-carmín, se debía exclusivamente a la acción del ácido pícrico, con prescindencia del carmín.

Tercera experiencia

Pensé que la diferencia de acción de los dos colorantes podría tener como causa, que la cutícula quitinosa de la triquina ofrecía resistencia (a pesar de su estado de muerta) al pasaje de las substancias de moléculas complejas, poco difusibles y bastante próximas sus soluciones a las soluciones coloidales, como el carmín y gran

número de las substancias colorantes. A este respecto hice algunas experiencias, colocando larvas muertas de triquinas en presencia de soluciones de carmín, eosina, rojo neutro, ácido pícrico, ácido crómico, y obtuve el siguiente resultado: las larvas colocadas en soluciones de ácido pícrico y ácido crómico (substancias perfectamente cristaloides y solubles) se coloraron en pocas horas (4 a 10 horas); las colocadas en Eosina y Rojo neutro (substancias de moléculas complejas y de solubilidad incompleta en el agua), presentaron un principio de coloración a los 5 o 6 días; las colocadas en Carmín no se habían colorado aún en ese plazo. Hay que agregar, que no es difícil que la coloración observada en las larvas colocadas en las soluciones de Eosina y Rojo neutro, se deba aún en parte a la alteración sufrida por la cutícula de las larvas, debido al tono molecular bajo del líquido en que estaban sumergidas, haciéndolas quizás más permeables.

Experiencias complementarias

Para obtener mayor seguridad, si realmente la forma en cifra 6 de las larvas de triquinas y la coloración por el ácido pícrico, constituían suficiente garantía del estado de muertas, hice los siguientes ensayos y observaciones:

1.º Un matraz conteniendo larvas vivas de triquinas procedentes de la digestión de músculos de rata, fué calentado, suavemente al principio e intensamente después; observadas luego al microscopio, comprobé que las larvas habían afectado la forma de cifra 6 y se coloraban por el ácido pícrico.

2.º Un matraz conteniendo larvas vivas de triquinas, del mismo origen que el anterior, en el jugo gástrico que había servido para digerirlas, sirvió para ensayos periódicos, habiendo comprobado que después de una permanencia de 30 a 40 días en esas condiciones, la forma de espiral cerrada que afectaban en plena vitalidad, se iba haciendo más abierta y las larvas reaccionando menos a la acción del calor, y al cabo de un tiempo todas ellas habían perdido la sensibilidad al calor y presentaban la forma en cifra 6.

Si a estas observaciones agregamos lo que dice Ransom en su trabajo citado, de que las larvas muertas por el frío afectan también la forma en cifra 6, nos vemos inclinados a suponer que esa forma sea característica de las larvas de triquinas muertas, (salvo el caso posible de una muerte rápida, con coagulación instantánea del protoplasma o alteración de la cutícula) y ello se explicaría por la forma especial de la cutícula adquirida en su desarrollo espiral dentro de la cápsula quística.

Debo consignar que esa forma que damos como característica, sólo se observará quizá cuando las larvas están colocadas en un me-

dio líquido de tono molecular bajo o hipotónico, con pequeñas cantidades de sales en disolución, como las utilizadas en mis experiencias; si se emplearan soluciones salinas o moleculares de otro orden, concentradas, (hipertónicas), el parásito perdería líquido y la cápsula aparecería fláccida y sin forma propia; por eso es conveniente no agregar cloruro de sodio al jugo gástrico cuando se va a digerir carnes preparadas a base de sal (1).

En lo que respecta a la observación del jamón triquinoso empleado en estas experiencias, debo consignar que el estado de muertas, de las larvas, quedó comprobado también por experiencias de ingestión, hechas en el Instituto de Anatomía Patológica por el doctor Kurt Wolffhügel. A varias ratas blancas se les hizo comer fracciones triquinosas del jamón; unas fueron muertas en horas sucesivas de la ingestión y no se comprobó en ningún caso larvas vivas en el contenido gastro-intestinal; otras quedaron para observar si se producía invasión larval en el sistema muscular, obteniendo también resultado negativo; hizo igualmente, una experiencia administrando jamón a un gato, con el mismo resultado negativo.

CONCLUSIONES

De las experiencias relatadas resulta:

1.º Que la digestión artificial permite poner en libertad las larvas enquistadas de Trichinella spiralis, sin perjudicarlas sensiblemente, en el término de 18 a 20 horas, necesario para que la digestión tenga lugar (2).

2.º Que las larvas muertas, una vez en libertad, adoptan la forma en cifra 6, característica (con la salvedad hecha en otro lugar, de que eso no es probable en una muerte con coagulación instantánea del protoplasma o alteración profunda del saco cuticular); las larvas vivas afectan una forma de espiral y reaccionan fácilmente al calor.

3.º Que el ácido pícrico colora fácilmente el cuerpo protoplasmático de las larvas muertas y deja incoloro el de las larvas vivas, y que los colorantes de constitución molecular compleja, como los colores derivados de la anilina, y el carmín y otros, no coloran o coloran dificilmente el cuerpo protoplasmático de ese parásito, supuesta se entiende, la integridad de la membrana cuticular.

---

(1) Hice la siguiente experiencia: En una caja Petri conteniendo triquinas muertas, agregué glicerina hasta una concentración al 1/3. Al cabo de 1 a 2 horas, las larvas habían perdido la forma que damos como característica.

(2) Confirma las observaciones de Ransom y anteriores de otros autores.

El método de examen

De acuerdo con nuestras experiencias, aconsejamos el siguiente método, para establecer el estado de vida o muerte de las larvas de triquinas enquistadas.

Se prepara jugo gástrico artificial, según la fórmula:

Pepsina	grs.	5
Acido clorhídrico concentrado	c.c.	5
Cloruro de sodio	grs.	5
Agua hasta formar	c.c.	1000

Se puede también preparar jugo gástrico artificial, a partir de la mucosa de estómago de perro o gato, en la siguiente forma:

Mucosa fresca de estómago de perro o gato	grs.	50
Ac. clorhídrico concentrado	c.c.	5
Agua hasta	c.c.	500

Se pone en maceración en la estufa 38°-40°, por 12-24 horas y luego se filtra por algodón; al usarlo se diluye en el doble de agua y resulta una solución muy activa. Esta fórmula la usé en mis experiencias con resultados superiores a la anterior.

Se toma luego el material triquinoso, se divide en pequeñas porciones, como las que se utilizan para el examen triquinoscópico por el compresor, y en un matraz o vaso de vidrio se agrega jugo gástrico a razón de 10-15 c. c. por cada gramo de materia muscular, y se coloca en estufa a 38°-40°; se puede emplear temperatura más baja, pero la digestión se hace entonces más lentamente; en cambio, no conviene pasar de 40° porque se debilita la pepsina y además se puede perjudicar la vida de las triquinas, lo que tendría gran importancia, dado el caso que tuvieran poca vitalidad. A las 18 o 20 horas de permanencia en la estufa, se retira el vaso o matraz; puede dar la impresión de que la digestión no ha sido completa, observándose aún tejido muscular, pero en el examen microscópico se encontrarán las larvas ya libres, pues el tejido conjuntivo interfibrilar y el quístico se digieren con suma facilidad; si esto no sucediera se deberá a que el jugo gástrico empleado tiene muy poco poder digestivo y convendrá entonces, dejar 12 o 24 horas más en la estufa o renovar el jugo gástrico.

Para el examen microscópico se agita bien el contenido del matraz e inmediatamente (no dando lugar al depósito de las larvas) se echa una parte en una caja de Petri y se procede al examen utilizando el aumento de examen triquinoscópico corriente (objetivo 16

milímetros, ocular 2). — Si las triquinas estuvieran vivas, se les verá en espiral más o menos cerrada y por la calefacción suave se observarán movimientos. La Fig. 2 muestra las triquinas vivas excitadas por la calefacción. Si estuvieran muertas se observarán en forma de cifra 6 y no reaccionarán por el calor; si se le agrega ácido pícrico, el cuerpo protoplasmático se colorará en amarillo intenso al cabo de 4 a 5 horas (Fig. 1).

Para mayor seguridad y abreviar el diagnóstico, se pueden preparar dos digestiones simultáneas: una según queda indicada y otra con el agregado de 3 c. c. de solución concentrada de ácido pícrico por cada 100 c.c. de jugo gástrico utilizado. Al hacer esto se observará la formación de un precipitado (albuminoideos precipitados por el ácido pícrico); el jugo gástrico pierde sin duda alguna, por esa circunstancia, una parte de su poder digestivo, (los precipitados albuminoideos producidos en las soluciones de diastasas arrastran consigo parte de éstas), pero, si ha sido preparado con pepsina activa o con mucosa estomacal, (en las condiciones que hemos indicado), la digestión tendrá lugar suficientemente para poner en libertad las larvas de triquinas, según lo he comprobado en todas mis experiencias.

Puestos en la estufa los dos matraces, se retiran al cabo de las 18 a 20 horas y se procede al examen microscópico. — Del que no contiene ácido pícrico se hará según queda descripto; del que contiene ácido pícrico se vierte parte del contenido, previamente bien agitado, en una cápsula de Petri y se le agrega, por gotas, solución de soda o potasa hasta que desaparezca el precipitado que se había formado por la adición del ácido pícrico; se procede entonces al examen microscópico. Las larvas vivas aparecerán en espiral más o menos cerradas, traslúcidas, incoloras; las larvas muertas en forma de cifra 6, con el cuerpo protoplasmático en amarillo intenso y retraído, muy separado de la cubierta cuticular, salvo en dos o tres partes (Fig. 1), que en forma de abultamientos quedan próximos a la cutícula; la separación del cuerpo protoplasmático de la cutícula, se debe probablemente al ingreso de líquido a través de la misma y que hace turgescente al parásito; los abultamientos corresponden a partes que conservan adherencias con la cutícula, o a órganos de contextura rígida, no cediendo así a la presión del líquido.

El cuerpo de las larvas en forma de cifra 6 no ocupa un mismo plano; si imaginamos una de esas larvas con la extremidad afilada, (bucal) hacia arriba, observándola por la parte convexa (del brazo largo) notaremos que el brazo corto está desviado hacia la derecha, colocado sobre un plano que incide en ángulo agudo al plano del brazo largo, correspondiendo al punto de mayor abertura a la extremidad gruesa (caudal) (c.). Este hecho y demás apuntados, ponen de relieve que la forma en cifra 6 descripta, es una espiral muy

abierta, forma normal de la cutícula, adquirida por el desarrollo espiraliforme dentro del quiste conjuntivo —que la toma cuando han desaparecido—, por la muerte o inhibición, la contractividad.

Ransom, en el trabajo citado, describió algunas alteraciones de la parte protoplasmática de las triquinas muertas por la acción del frío: color más pálido del cuerpo celular, aspecto granuloso especial del protoplasma, núcleos muchas veces no aparentes; el aspecto granular de las células sería difícil de describir. Yo no he acordado mayor importancia a estas alteraciones, porque en su mayor parte constituyen diferencias de grado difíciles de apreciar y que están por otra parte ligadas a los factores que provocaron la muerte de las triquinas; no es difícil que algunas de esas alteraciones correspondan a fenómenos de plasmolisis ocasionados por la muerte por el frío.

He deseado, con el presente trabajo, dejar establecido un procedimiento con condiciones bien precisas para comprobar en un breve plazo (18-20 horas) el estado de vida o muerte de las larvas de Trichinella spiralis (Owen), cuestión que tiene mucha importancia, sobre todo, para casos análogos como el que motivó mis experiencias, en que varias personas habían comido jamón triquinoso, y que para instituir un tratamiento en ellas se hubiera tenido que esperar los resultados de experiencias largas como son las pruebas de ingestión en animales de laboratorio.

INFORME SOBRE LA PESTE BOVINA, QUE REINA EN EL ESTADO DE SAN PABLO (BRASIL)

(Publicado en el Boletín de la Policía Sanitaria de los Animales, N.º 50-51, Año 1921)

ORIGEN DE LA EPIZOOTIA

Es general la afirmación entre los técnicos que el origen se debe a la introducción de ganado zebú, entrado por el puerto de Santos, pero nada tendrían que ver los zebúes llegados por el "Gasconier", procedentes de Bélgica, que desembarcaron en Río de Janeiro,— se trata de un lote que desembarcó posteriormente en el puerto de Santos. El estado sanitario de esos animales era bueno, aparentemente, y no se enfermaron después, pero fueron sin duda alguna portadores del virus, como acontece muy habitualmente con otras epizootias, como la fiebre aftosa, en que Looffler afirmaba que los animales que hubieran estado enfermos eran portadores del virus hasta por 7 meses.

APARICION DE LA ENFERMEDAD

Los primeros casos de enfermedad aparecieron a fines del mes de Diciembre en los corrales de Osasco, en bueyes de trabajo; empezó a extenderse paulatinamente entre los mismos bueyes y la repetición de los casos de muertes llamó la atención. Llamaron veterinarios, los primeros diagnósticos fueron dudosos, quedando unos por Carbunclo Bacteridiano, otros por Fiebre Aftosa y otros por Septicemia Hemorrágica, etc., la eliminación de todas estas enfermedades por análisis bacteriológicos y lesiones que se precisaron mejor por exámenes minuciosos, los llevó después a formular el diagnóstico de peste que se hizo aproximadamente a mediados de Marzo.

EXTENSION

La zona de Osasco es el centro de grandes actividades ganaderas por encontrarse allí un frigorífico, de manera pues que con el movimiento de ganados fué fácil la diseminación del virus.

Los primeros bueyes muertos pertenecían a carretas que hacían el servicio de Osasco a Cotia, causa de la extensión de la enfer-

medad a este Municipio. Por otra parte, muchos ganados que venían a Osasco no fueron comprados por temor a la misma enfermedad unos, y por razones diversas otros y volvían hacia atrás después de haber estado en el foco mientras la enfermedad no fué diagnosticada, y esos animales transportaron así el virus diseminándolo por el camino utilizado para el arreo, que une a Osasco, San Roque e Itú, este Municipio es el más lejos y dista 127 kilómetros de esta Capital — la enfermedad se extendió en seguida al Municipio de la Capital atacando los animales de los tambos sobre todo en el valle Santo Amaro, que es donde está ubicado el Matadero Municipal y es el centro por lo tanto de aglomeración de ganado; en el día de hoy apareció algo más lejos, pero siempre en la zona de influencia del Matadero.

La zona de estos municipios no es ganadera, las estancias se encuentran bastante lejos, sólo comprende animales de trabajo en su gran mayoría, con excepción del municipio de la capital que tiene muchos tambos y es donde se sostiene con más intensidad la enfermedad.

Los animales de estas zonas son en su casi totalidad de raza caracú, los de los tambos Holandeses.

MEDIDAS ADOPTADAS

La primera medida fué constatar bien los focos y establecer una zona delimitada que los comprendiera, la que se declaró infectada prohibiendo con energía el tránsito de ganados para dentro y fuera de la misma, así como de los productos derivados y forrajes que pudieran ser vehículo de contagio. Esta zona comprende aproximadamente una extensión de 130 kilómetros de largo por 40 kilómetros de ancho, alrededor de ella se estableció una segunda zona (zona sospechosa), por una línea que dista 10 kilómetros de la primera. La vigilancia se hace muy severa con la cooperación policial. Todos los carreteros y yuntas de pasajes están vigilados, los vehículos de paseo y carga que proceden de zona infectada son desinfectados al pasar a otras zonas, por destacamentos sanitarios.

Las medidas están aseguradas además por la colaboración del personal técnico y de servicios, estaduales y federales, en cada puesto de observaciones a intervención de las calidades de funcionarios.

Interiormente, la enfermedad se combate por el sacrificio de los animales enfermos y sospechosos, considerándose como tales los que están o han estado estabulados o en contacto con los primeros, después son enterrados en fosas de unos dos metros y medio de profundidad, y polvoreados con cal viva y cloruro de cal en solución, se hace también la desinfección de los establos con los mismos pro-

ductos, previa limpieza con raspaje del piso; hay en este servicio aproximadamente trescientos hombres.

Los focos son denunciados por inspecciones frecuentes, además se pagan premios por la denuncia y hoy se facilita ésta con la disposición muy plausible del gobierno, de pagar los animales sacrificados, llegando a abonarse hasta la suma de $ 40.00 por cada animal. Se puede decir que hay una verdadera colaboración del pueblo con el gobierno, y ello contribuirá en gran parte a conjurar la enfermedad.

El Gobierno Federal ha tomado también medidas, además del personal técnico enviado, ha prohibido la salida de animales y productos del Estado de San Pablo.

MARCHA DE LA EPIZOOTIA

Es difícil sin duda alguna pronunciarse sobre el estado de una Epizootia como la peste bovina, de gran contagiosidad, y sobre todo habiendo mediado unos dos meses entre la aparición de los primeros casos y el diagnóstico que trajo como consecuencia las medidas adoptadas.

Sin embargo, a juzgar por el estado actual nos inclinamos a pensar: primero, que ella está bloqueada, puesto que fuera de la zona demarcada como infectada no ha aparecido ningún foco; segundo, que tiende a desaparecer, porque hace ya varios días que en los municipios de Itú, San Roque y Cotia, no aparecen casos. Sólo queda el municipio de la Capital donde hay gran cantidad de tambos con animales refinados, que pastorean y se estabulan muy próximos unos de otros, lo que asegura, a pesar de las enérgicas medidas, muchas probabilidades para el contagio.

EL PERSONAL TECNICO. — INTERVENCION DE LOS INSTITUTOS BUTANTAN Y VETERINARIO

La dirección de los trabajos de extinción de la peste bovina están a cargo del Director de Industria Pastoril, doctor Mario Maldonado, secundado por el doctor Oscar Dutra e Silva, asistente del Instituto Manginhos y ahora Director del Instituto de Veterinaria del Estado. Colabora también el doctor Picollo; es notable la actividad y energía que despliegan estos técnicos con el loable propósito de libertar al país de tamaña plaga; como premio ellos tienen todo el apoyo del Gobierno y de los propios damnificados, que los acompañan, facilitando así la tarea. Es un factor más que contribuirá al éxito.

Los trabajos Experimentales están a cargo de los Institutos Butantan y Veterinario, en el primero bajo la dirección del doctor

Amoral y en el segundo del doctor Dutra e Silva. Se han iniciado los trabajos para la preparación del suero y las vacunaciones con bilis extraída de enfermos sacrificados en el período álgido según el método clásico.

Yo acompaño esos trabajos.

CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD

Síntomas. — La enfermedad se inicia bruscamente con fiebre alta, pasando en muchas veces de 41º5, los animales se ponen tristes, el pelo levantado, orejas caídas, no comen, arrojan mucosidades por las narices, baba por la boca, raras veces ligero lo primero, mucosas visibles congestionadas, diarrea, con la evolución los síntomas se acentúan más, tienen dificultad para levantarse, prefiriendo el decúbito, caminan tambaleando; en la mucosa bucal, del lado interno de los labios, mejillas, cara inferior de la lengua y mucosa vulvar, se observan pequeñas manchas blancas, hasta del tamaño de una lenteja, a veces se fusionan formando manchas grandes, formadas por el epitelio mortificado que por frotamiento deja en descubierto una llaga de bordes irregulares, —no hay formación de vesículas—, antes de la muerte la temperatura desciende por debajo de lo normal, 36º5, 37º; el hocico se presenta helado, las guampas lo mismo hasta su nacimiento, la respiración se hace irregular, entrecortada.

Lesiones. — Se caracterizan en primer término por las placas indicadas en los labios, lengua, mejilla, faringe y vulva, que se diferencian de las de la fiebre aftosa, porque en esta enfermedad es de vesículas muy características.

El aparato gastro intestinal es el asiento de las mayores lesiones correspondiendo a una intensa gastro enteritis, sobre todo del cuajo e intestino, que aparecen coloreados en rojo intenso en casi toda su extensión, con algunas pequeñas placas blanquecinas de mortificación de la mucosa.

Vesícula biliar repleto de bilis, muy flúida, color verde intenso, límpida.

Hígado con puntos hemorrágicos.

Bazo a veces ligeramente aumentado de volumen. Riñones con degeneración.

Pulmones muy frecuentemente con enfisema sub-pleural, contrastando con el parénquima casi normal.

Estos son los síntomas y lesiones más visibles que dejo ligeramente expuestos y que serán ampliados una vez que termine el estudio.

San Pablo, Abril 13 de 1921.

Firmado: *M. C. Rubino.*

NUEVO INFORME DEL DOCTOR RUBINO SOBRE LA PESTE BOVINA EN EL BRASIL

He aquí el nuevo e interesante informe enviado por el doctor Miguel Rubino, a quien el Ministerio de Industrias encomendó la tarea de seguir detenidamente el desarrollo de la epizootia en el Brasil:

La peste bovina es una enfermedad infecto-contagiosa que ataca especialmente al ganado vacuno y puede contagiarse a las ovejas y a las cabras.

Ella reina en forma más o menos permanente en Asia y Africa, donde los estragos no son muy grandes, porque la mayoría de los animales la han tenido y las razas allí existentes son muy resistentes. La importación de ganado de esos continentes ha sido siempre el punto de partida de las diversas epizootias estalladas en los países europeos y esta vez en los americanos. Generalmente en Europa las epizootias se han iniciado por Rusia, donde frecuentemente reina la peste bovina, por su mayor relación con el Continente Asiático. Las grandes guerras han tenido también en el continente europeo una gran influencia, porque ellas han aparejado la trasposición de la frontera de los ganados de diversos países y la aglomeración que son causas de gran valor en la conservación y propalación de las epidemias y epizootias.

Aquí en San Pablo, la epidemia tiene, probablemente, como origen la introducción de reproductores procedentes de la India. Es proverbial, que en la mayoría de los Estados del Brasil, sobre todo en los del Norte, los "fazendeiros" prefieren el rústico y primitivo zebú, para mejorar el ganado criollo, (caracú), a los reproductores de razas perfeccionadas. En algunos Estados se llega hasta el extremo de pagar premios por cada reproductor zebú que se introduce. El crédito de que goza el zebú en algunas regiones, a pesar de ser tipo zootécnicamente inferior, con gran armazón ósea y cornamenta, con carne de inferior calidad, se debe a la virtud que se le atribuye de resistir un gran número de enfermedades y especialmente la tristeza o piroplasmosis bovina. Sobre esto no hay duda alguna, pero también es necesario pensar que sobre la base del zebú, no es posible esperar la formación de una ganadería en condiciones para alimentar frigoríficos y compartir en el mercado mundial de carnes. Sin embargo, el reinado del zebú, ha recibido en estos últimos meses un golpe casi mortal. Hace algunos meses, fueron desembarcados en Bélgica (Amberes) de tránsito para el Brasil, un lote de zebúes. Coincidiendo con este desembarque, comenzó a desarrollarse en Bélgica una epizootia que fué identificada con la peste bovina, pero el diagnóstico no fué lo suficientemente pronto como para evitar la

extensión de la enfermedad y diezmar la ganadería de Bélgica; la epizootia se extendió también al Norte de Francia.

Estos zebúes fueron después transportados al Brasil, en el vapor "Gasconier" entrando por el puerto de Río de Janeiro. Pensando en estos hechos se atribuyó entonces el origen de la actual epizootia al desembarco de ese lote de zebúes; pero muy probablemente no es ese el origen, pues para llegar esos zebúes al Estado de San Pablo, habrían tenido que atravesar una gran extensión y los focos hubieran aparecido en otras localidades y no en Osasco, que está cerca de esta Capital y que es mercado de ganado del frigorífico Armour, allí instalado. El origen más probable es la introducción posterior de varios lotes de zebúes, que entraron por el puerto de Santos, fueron transportados por ferrocarril, al que han infectado, y éste a su vez, ha infectado el ganado transportado por Osasco. Sin embargo, no hay una seguridad absoluta de que ese sea su verdadero origen.

EXTENSION DE LA EPIZOOTIA

Los primeros casos de peste bovina se produjeron en los corrales del mercado de Osasco, en bueyes de carreta, aproximadamente a fines de diciembre próximo pasado. Al principio, la muerte de algunos animales se atribuyó a distintas enfermedades: carbunclo bacteridiano, fiebre aftosa, septicemia hemorrágica, etc. Fué el doctor Roberts, veterinario americano, profesor del Instituto de Veterinaria, quien contribuyó eficientemente a hacer el diagnóstico, recabando la colaboración del Instituto Bacteriológico. Con la eliminación de varias enfermedades, unas por el análisis microbiológico y otras por las lesiones, se llegó a la convicción de que se trataba de peste bovina.

Los primeros bueyes atacados, pertenecían a carretas que hacían el acarreo de abono de Osasco al municipio de Cotiá. Estos animales fueron enfermándose y muriendo en varios puntos del trayecto y cada punto constituía así nuevos focos de extensión de la enfermedad. Así se infectó también el municipio de San Roque y a su vez el municipio de Itú, por una tropa que regresó después de no haber sido vendida en Osasco.

Entre el tiempo de aparición de los primeros casos y el diagnóstico de la enfermedad, medió aproximadamente dos meses y esto constituyó un factor favorable para su propalación. Resultaron así infectados los siguientes Municipios: Municipio de San Pablo (que comprende a Osasco que fué el primer foco), Municipio de Cotía, San Roque e Itú, en el Municipio de San Pablo (de la capital) y que fué el más intensamente atacado. De este último municipio comprende gran número de establecimientos de lecherías, muy pró-

ximos unos de otros y de malas condiciones higiénicas. La mayoria de las vacas son de raza holandesa, compradas a los puestos zootécnicos del Estado, después de haber sido inmunizadas contra la tristeza. El foco mayor está en el mismo Municipio, cerca del Matadero Municipal, barrio Santo Amaro y donde más porfía la epizootia. Allí fué también el punto de partida de la infección del municipio de San Miguel.

Todos estos municipios, están comprendidos en una zona de unos 150 kilómetros, 84 de largo por 40 kilómetros de ancho.

Ha favorecido mucho la no mayor extensión de la epizootia, la circunstancia de que todos esos municipios no son de cría de ganados, sino de pequeños establos. Fuera del municipio de la capital, son en la gran mayoria bueyes de trabajo, por lo que el movimiento de ganado, se hace del interior hacia la zona, sobre todo a Osasco, donde existe el frigorífico.

Se considera la más grande suerte del Brasil y también del Sud América, el haber estallado la epizootia en el municipio de San Pablo, por las razones apuntadas y por el servicio sanitario organizado que ha permitido el diagnóstico y el bloqueo rápido del foco. Este no hubiera sido posible establecerlo si hubiera comenzado en el interior del Estado o en otro punto.

MEDIDAS ADOPTADAS

Para suerte de esos estados y nuestra también, las autoridades sanitarias del Brasil están ya adaptadas a las luchas contra las enfermedades de la especie humana y también de los animles. La multitud de epidemias y epizootias que reinan en un país tan extenso y que posee una gran zona tropical, los ha habituado en defensa propia a ejercitar esa acción. Pero es sobre todo el ejemplo de un gran hombre, de un talento, el benemérito y malogrado Oswaldo Cruz que ha influenciado notablemente el espíritu brasileño. El luchó tesoneramente contra las más grandes epidemias que hacia insalubres extensas zonas; tuvo éxito, fundó institutos experimentales e hizo escuelas con la virtud y el ejemplo. El pueblo brasileño está así habituado a accionar y acompaña con confianza a las autoridades sanitarias.

La primera medida fué la supresión de tránsito de vacunos y el aislamiento de todos los focos; un aislamiento efectivo, hecho con el auxilio de la fuerza pública; todos los caminos fueron tomados e instalados servicios de vigilancia. Ningún animal vacuno, ovino y caprino entra o sale de un foco infectado; las ruedas de los vehículos y los pies de las personas son desinfectados al salir de una zona infectada o al entrar a una indemne; nadie escapa a esta medida, sea carro o auto de lujo, sea hombre, señora o señorita,

sea un simple ciudadano o un encumbrado personaje. Esto lo comprobamos en nuestras visitas de inspección; para evitar una invitación a descender del automóvil, nos bajamos voluntariamente.

El sacrificio de los animales enfermos o sospechosos es la medida heroica de todo establo o hacienda. Donde se constata un caso de enfermedad, son sacrificados todos los animales enfermos y los que han tenido contacto con ellos clasificados por esa razón de sospechosos. Después son enterrados en zanjas de unos dos a dos y medio metros de profundidad, echándole cal viva. El ideal sería quemarlos, pero entonces se retardaría más la operación. Al sacrificio de los animales sigue el raspaje del suelo y la desinfección del establo, con cal viva, cloruro de cal o creolina. En los focos de Cotia y Osasco la epizootia se ha producido con más intensidad; los ganados del límite y fuera del límite a unos dos o tres kilómetros fueron llevados al foco y sacrificados como sospechosos. En esta forma se limitó enseguida el contagio en los focos del valle Santo Amaro. Dentro del municipio de la capital se ha obrado intensamente con medidas más conservadoras, debido a tratarse de establos poblados con vacas holandesas, se ha esperado generalmente la aparición de enfermos para iniciar el sacrificio; a veces, tratándose de establos muy próximos.

Esta es la causa porque la enfermedad se sostiene más en esa forma.

Como medida complementaria se ha iniciado el sacrificio de perros y urubús (cuervos) pensándose que estos animales son carnívoros, que aunque no tomen la infección pueden sin embargo transportarla.

El total de animales entre muertos por la enfermedad y sacrificados, pasa de mil, siendo que sólo en el municipio de Cotia de donde me fué dada la estadística completa, resulta lo siguiente: vacunos muertos 414; sacrificados, 169; cabras, 22; lanares, 35. Total: 640.

En los municipios infectados, los inspectores y guardias sanitarios recorren diariamente las haciendas y establos, tomando en éstos las temperaturas de los animales.

En todos los trabajos colaboran las autoridades estadoales (San Pablo) y las federales. Habiéndose distribuido los servicios, la intervención de estas dos categorías de funcionarios es una garantía más para la limitación y extinción de la enfermedad, por el mayor celo que se pone y el contralor que resulta.

Fuera de las medidas de focos, están las estadoales e interestadoales, decretadas por el gobierno federal. La zona que comprende los municipios infectados en una extensión de 130 kilómetros por cuarenta kilómetros está aislada del resto del Estado; alrededor de esa zona hay delimitada otra a diez kilómetros de la

primera, clasificada: zona de vigilancia. El Estado de San Pablo está aislado por disposición general, de los estados circunvecinos y además cada Estado ha tomado disposiciones por su cuenta. Es lógico suponer que esto suceda, porque los primeros interesados en que no se extienda la enfermedad son los que están más directamente en contacto. Todo esto redunda en beneficio para el Uruguay.

MARCHA DE LA EPIZOOTIA

Según los informes obtenidos y las inspecciones practicadas por mí, dan la impresión de que el mal está localizado a la zona declarada infectada y que dentro de ella un gran número de focos están apagados. En Cotia, San Roque, Itú y Osasco, hace varios días que no se producen casos nuevos; quedan solo algunos focos dentro del municipio de la Capital, en el valle Santo Amaro, donde las medidas sanitarias fueron más conservadoras, en virtud de tratarse de establos poblados de vacas holandesas. Este foco de Santo Amaro, que tuvo su irradiación en el Matadero Municipal ha sido, probablemente, el punto de partida de un foco aparecido en el Municipio de San Miguel, donde se obra ahora con gran energía.

Una cosa cierta hay, y es que la epizootia está yugulada en su intensidad y hay probabilidades que desaparezca en breve plazo.

UN PUNTO OBSCURO

Dentro de todas las probabilidades de éxito que resulta de la marcha de la epizootia en la zona hoy infectada, hay un punto obscuro que es el que provoca cierta inquietud; me refiero al origen de la epizootia. En efecto, no hay duda alguna que la enfermedad se inició en bueyes de trabajo, en los corrales de Osasco, donde tiene asiento el frigorífico Armour. De allí se irradió después al municipio de la Capital y a los municipios de Cotía, San Roque y San Miguel ¿Pero cuál es el verdadero origen? La infección ha sido llevada a Osasco por alguna tropa destinada a la faena, que ha llevado la enfermedad en incubación ha infectado los corrales y a este respecto caben dos consideraciones; una de que la tropa haya traído la infección al interior del Estado y otra de que se haya infectado al ser transportada en vagones, que hubieran transportado los zebúes, desembarcados en el puerto de Santos. Si fuera lo primero, supondría la existencia de un foco ignorado de peste bovina en el interior. Si fuera lo segundo, lo que muy probablemente sería lo verídico, tiene también importancia porque así como los zebúes, infectaron los vagones, siendo portadores de virus aun no sufriendo la enfermedad, podrían ser el punto de partida de

nuevos focos en el interior del país. He ahí, para mí el punto capital que debe preocupar en la actual epizootia. Las mismas consideraciones podemos formular respecto a los otros desembarques de zebúes, aun mismo de los que vinieron en el "Gasconier" desembarcados en Río y que fueron el punto de partida de la peste bovina en Bélgica. El zebú no muere o es muy resistente a la peste, pero es portador del virus.

LA ACTUAL EPIZOOTIA Y EL URUGUAY

Si consideramos la marcha de la epizootia dentro de la zona infectada, el peligro para el Uruguay es relativamente remoto, pues toda impresión es que ella tiende a extinguirse. Por otra parte, hay dos elementos importantes en nuestro favor: primero, el Estado de San Pablo se defiende de la epizootia y los demás estados por sí y por disposiciones federales, están defendidos en San Pablo. Resultan así varias barreras interpuestas entre los focos y el Uruguay.

Segundo: El movimiento de ganados y productos está interrumpido y cuando se hace normalmente en la extensión de un gran radio, tiene lugar hacia el Norte buscando el puerto de Santos y el frigorífico de Osasco. El movimiento hacia el sur comienza en una zona muy distante de San Pablo.

Fuera del punto obscuro del origen de la epizootia, el Uruguay tendría, pues por el momento, poco peligro de contaminarse. Sin embargo, aun teniendo confianza en la organización del servicio sanitario de San Pablo y Federal, que ejercen vigilancia activa en el interior del Estado y del país, no debemos descuidar las medidas necesarias de defensa, para garantirnos de una contaminación por la posible aparición de un foco fuera de la zona interdicta del Estado de San Pablo, pero deberían estudiarse las suficientes para esa garantía, no perjudicando al comercio en la parte que quede descartado como elemento de contaminación.

Firmado: *M. C. Rubino.*

NOTA. — Indemnización: El Gobierno del Estado indemniza con 200.000 reis cada animal que se sacrifica, con motivo de la profilaxia contra la peste bovina.

EXPERIENCIA SOBRE LA GARRAPATA DE BOVINOS (BOOPHILUS MICROPLUS)

ENSAYOS DE INFESTACIONES DE VARIAS ESPECIES ANIMALES. — (EQUINOS, ASINOS, CAPRINOS, OVINOS, CANINOS Y CONEJOS)

Estación Experimental de Epizootias en Durazno
Memoria — Febrero 1921 - 1922
(CON LA COLABORACION DEL Dr. ANGEL TORTORELLA)

Con el fin de establecer la posibilidad de la infestación por la garrapata de bovinos (Boophilus microplus), a otras especies de animales, establecer las condiciones de las mismas y juzgar del valor que pudieran tener prácticamente en la extinsión de la garrapata, se hicieron algunas experiencias cuyos resultados pasamos a relatar.

EXPERIENCIAS SOBRE EQUINOS Y ASINOS

Primera experiencia

El día 14 de Noviembre de 1921 se inicia la infestación de un caballo y un burrito; se les colocaron abundante cantidad de larvas de garrapatas, nacidas en el laboratorio el día 6 de Noviembre, procedentes de hembras caídas de un bovino de experiencia.

Las larvas tenían por lo tanto 8 días de nacidas y estaban con la cutícula quitinizada.

Observaciones en el caballo. — Examinado diariamente se pudo constatar un reducido número de larvas prendidas, que no llegaron siquiera a dar ninfas.

El animal presentó señales de intenso prurito y tuvo una erupción generalizada de pápulas coincidiendo algunas con larvas prendidas.

Observaciones en el burrito. — Examinado diariamente se pudo constatar gran cantidad de larvas prendidas distribuidas por todo el cuerpo; — el animal presentó signos de un prurito intenso. A los 3 días de infectado se constató en la parte media de las regiones costal derecha e izquierda una zona depilada, irregularmente circular de un diámetro de 10 a 15 cent. mostrando la superficie húmeda por serosidad amarilla, el pelo se desprendía en la zona circunvecina con facilidad por simple tracción digital; en la zona depilada se veía gran cantidad de larvas prendidas y en desarro-

llo. La zona depilada ha sido ocasionada probablemente por el frotamiento contra los costados del brete, debido al prurito intenso.

A los 10 días solo se contrataron 2 ninfas, que tampoco llegaron a desarrollo completo.

Segunda experiencia

Habiendo resultado negativa la primera experiencia para infestar equinos, se inició una 2.ª.

Se infestó un caballo con larvas de garrapatas de bovinos, pero procedentes de hembras caídas de ovinos y caprinos, nacidas en el laboratorio del 9 al 19 de Diciembre de 1921.

El 17 de Enero de 1922 comenzó la infestación con abundantes larvas, al día siguiente nueva infestación y se continuaron día por medio hasta los 11 días de iniciada la experiencia.

Los exámenes diarios comprobaron el desarrollo de gran número de larvas con preferencia en las regiones: lados del cuello, pecho y axilas.

Las larvas continuaron su evolución aparentemente normal, los períodos de muda y evolución no se pudieron comprobar bien por las varias infestaciones sucesivas, — sin embargo a juzgar por el período total de evolución parece que el desarrollo se viera influenciado por la especie, — en efecto a pesar de la enorme cantidad de larvas colocadas, solo se obtuvieron hembras caídas, el día 16 de Febrero, es decir 30 días después de la primera infestación y en número reducido, solamente 2; los días sucesivos se obtuvieron nuevas hembras, pero siempre en escaso número, entre 5 y 11.

Además se notó la siguiente anomalía: gran cantidad de garrapatas presentaban un color más claro que lo normal en los bovinos, algunas un tinte ligeramente amarillento, otras completamente claras, como si no se alimentaran de sangre; el conjunto daba la impresión que el desarrollo estaba perturbado, —sobre una enorme cantidad de garrapatas con ese aspecto se destacaban raros parásitos próximos a la madurez.

Estado del caballo. — El animal presentó las mismas manifestaciones de prurito que los de la experiencia anterior, aparición de pápulas en las regiones más invadidas por las garrapatas: lados del cuello, pecho y axilas; a estas lesiones siguió la aparición de un edema abdominal, ocupando la línea media y a ambos lados, extendiéndose desde la región pectoral hasta el forro.

El estado del animal se hizo tan miserable, que hubo que retirarlo de la experiencia el día 23 de Febrero aplicándosele una balneación garrapaticida.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Resulta pues que los equinos pueden ser huéspedes de la garrapata de bovinos, pero que su infestación está condicionada a algunas circunstancias, desde que la primera experiencia fué negativa; no se podría aducir para la primera experiencia el hecho de que las larvas tenían solo 8 días de nacidas, porque estaban quitinizadas y esas mismas larvas sirvieron para infestar solamente dos días después ovinos y caprinos con desarrollo posterior abundante.

Es más probable que en el resultado positivo de la 2.ª experiencia hayan contribuído las infestaciones sucesivas, esto estaría de acuerdo, con lo que se observa en las condiciones naturales, que en los equinos solo se encuentran garrapatas cuando la infestación del campo es muy grande.

Queda por averiguar con nuevas experiencias la influencia que también puede haber correspondido al origen de las garrapatas (de ovinos y caprinos, 2.ª experiencia) en el resultado positivo y el alcance práctico de ese factor.

EXPERIENCIAS SOBRE OVINOS

Primera experiencia

El día 1.º de Noviembre de 1921 se infesta un ovino, mestizo merino, lana corta, recientemente esquilado, con abundantes larvas procedentes de hembras caídas de un bovino y nacidas en el laboratorio el día 5 de Octubre de 1921.

Examinado diariamente se constatan gran número de larvas en evolución — pero un hecho raro, en las regiones inguinal y abdominal inferior, en las zonas desprovistas de lana, — se observan gran número de larvas (día 3 de Noviembre), — muertas adheridas a la piel, solo por la secresión grasosa.

Evolución. — La evolución continuó normalmente, constatándose las 1.ª y 2.ª muda con regularidad.

El día 22 de Noviembre, es decir 21 días después de la infestación cayeron las primeras hembras, correspondiendo por lo tanto al mismo período sobre los bovinos.

La caída se efectuó en las siguientes proporciones:

1.er	día	2	Hembras
2.º	"	30	"
3.er	"	203	"
4.º	"	127	"
5.º	"	108	"
6.º	"	85	"

7.º	día	56	Hembras
8.º	"	27	"
9.º	"	28	"
10.º	"	17	"
11.º	"	10	"
12.º	"	3	"
13.º	"	6	"
14.º	"	4	"
17.º	"	4	"
18.º	"	1	"
19.º	"	2	"

Para la evolución completa, el período mínimo fué de 21 días el máximo de 40 días, para la mayoría de 23 a los 25 días.

Ubicación de los parásitos. — Contrariamente a lo que suponíamos, no fueron las partes desprovistas de lana las más preferidas, por el contrario, en ellas encontramos solo larvas muertas sin siquiera haber comenzado el desarrollo.

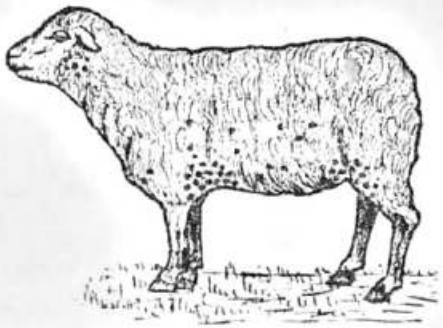


Fig. N.º 1. — Muestra la ubicación de preferencia de la garrapata de bovino (Boophilus microplus)

El mayor número de parásitos fué encontrado en los límites de las regiones de lana, bordeando como quien dice las zonas desnudas, — después en menor cantidad en todas las regiones del animal, aún en pleno vellón, — esto prueba acabadamente que hay una causa que se opone, probablemente la abundancia de secresión grasosa. La Fig. N.º 1 muestra las ubicaciones: los puntos oscuros corresponden a los parásitos.

Segunda experiencia

Con el fin de establecer bien los distintos períodos de evolución de la garrapata sobre los ovinos y además si era posible la evolución aún en las regiones de lana larga se inicia una segunda experiencia.

Condiciones

Se eligen dos ovinos mestizos Lincoln adelantados, de lana muy larga (más de 18 meses de lana), — uno se esquila completamente, al otro parcial dejando a ambos lados del cuerpo zonas circulares de lana larga.

El día 16 de Noviembre de 1921, los dos reciben abundante cantidad de larvas a lo largo de la línea dorso-lumbar, procedentes

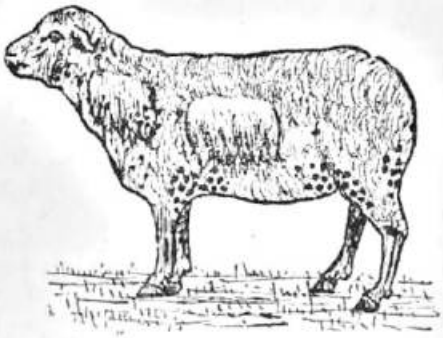


Fig. N.º 2. — Ovino parcialmente esquilado. — Muestra la ubicación de preferencia de la garrapata de bovino (Boophilus microprus)

de hembras de bovinos, nacidas en el laboratorio el día 6 de Noviembre, por lo tanto de 10 días (del mismo lote utilizado dos días antes para la experiencia de equinos).

Examinados los animales diariamente se constata:

Ovino N.º 3. — Esquilado parcialmente, con medallones de lana larga a ambos lados del cuerpo. Fig. N.º 2.

Día 17. — Hay muchas larvas prendidas.

Día 21. — Muchas larvas sueltas y muertas en los lugares donde fueron colocadas (línea dorso-lumbar). Larvas vivas y prendidas en las regiones de lana corta y poco pobladas; en los medallones de lana larga se encuentran solo algunas sueltas y muertas.

Día 22. — Muchas larvas prendidas y en buen desarrollo en las regiones esquiladas, gran número de larvas muertas en las regiones desprovistas de lana, adheridas simplemente por la secresión grasosa.

En un medallón cervical de lana larga se observa próximo a su periferia un grupo de larvas prendidas y en buen desarrollo.

Día 23. — Presencia de las primeras ninfas. (7 días de infestación).

Día 24. — Aumenta la cantidad de ninfas en las regiones de ubicación ya indicadas, fuera del medallón cervical, en ningún otro se constata garrapatas en evolución.

Día 25. — Se constata puramente ninfas, predominando en las líneas límites de la región lanígera: axilar, pliegue de la babilla, parte posterior de los muslos; luego en la cabeza, nacimiento de las orejas, medallón cervical de lana larga; — ninguna en las partes desprovistas de lana.

Día 29. — Muchas ninfas en desarrollo avanzado en las regiones indicadas anteriormente.

Día 30. — Iniciación de la 2.ª muda; — 14 días de la infestación.

Diciembre 3. — La casi totalidad ha hecho su segunda muda, — cuticulas de mudas libres, probablemente ha comenzado la emigración de machos.

Diciembre 5. — Muchas garrapatas siguen su evolución en las regiones indicadas, — en el medallón cervical de lana larga, a una profundidad de 4 centímetros del límite existe un grupo de garrapatas, hembras y machos en cópula.

Muchos machos libres vagabundos, algunos muertos entre las mechas de lana.

Diciembre 6. — 20 días de la infestación; se recogen 2 garrapatas caídas, de los ovinos 3 y 4.

Observaciones del ovino N.º 4, recientemente esquilado en su totalidad. — Los resultados de las observaciones concuerdan con los del ovino N.º 3; las larvas se desarrollan en todo el cuerpo, pero con gran preferencia en los límites de las regiones lanígeras con las desprovistas de lana, en éstas se encuentran larvas muertas adheridas por la secresión grasosa.

El día 25 de Noviembre, 7 días de la infestación, se constatan las primeras mudas.

El día 30 de Noviembre, 14 días de la infestación se comprueba la 2.ª muda.

En este ovino prosperan solamente las garrapatas ubicadas en los límites de las zonas lanígeras y en la cabeza, en ésta en la cara y nacimiento de las orejas.

En cuanto a la caida de primeras hembras, los datos quedan incluidos con los del ovino N.º 3. — Ambos estaban ubicados en el mismo brete.

HEMBRAS CAIDAS (OVINOS Nos. 3 y 4)

Día	6	de	Diciembre	2	Hembras
"	7	"	"	14	"
"	8	"	"	107	"
"	9	"	"	49	"
"	10	"	"	11	"
"	11	"	"	12	"
"	12	"	"	11	"
"	13	"	"	7	"

DISCUSION DE LOS RESULTADOS — CONCLUSIONES

1.º) *Desarrollo.* — Por las experiencias expuestas se deduce que la garrapata de bovino (Boophilus Microplus), se desarrolla perfectamente en los ovinos; hemos comprobado con sorpresa, que el crecimiento es tan exhuberante en algunos casos (1.ª experiencia) que el peso medio de las hembras caidas de ovino fué superior al de las de bovinos. Véase:

Peso medio de las garrapatas de bovino (bovino N.º 125):

Promedio de 9 cultivos, comprendiendo 1059 hembras adultas Grs. 0.244.

Peso medio de las garrapatas de ovino (ovino N.º 1):

Promedio de 16 cultivos, comprendiendo 710 hembras adultas Grs. 0.264.

2.º) *Ubicación.* — Como [illegible] manifestamos al considerar las experiencias por separado, las garrapatas en los ovinos tienen como lugares de preferencia los límites de las regiones lanígeras, donde la lana es más corta y menos poblada, sigue después la cabeza, especialmente la cara y nacimiento de las orejas, después las regiones de pleno vellón, aún con lana larga; pero nunca en las regiones desprovistas de lana, (axilar, abdominal inferior, inguinal, cara interna de los muslos), alrededor de las cuales se detienen como formando una barrera. Es probable que esto se deba a la abundante secresión grasosa que cubre esas regiones.

3.º) *Periodos de evolución.* — Los periodos de muda en las dos experiencias fueron de 7 días para la 1.ª muda y 14 días para

la 2.ª. La evolución completa de las hembras fué de 21 días para la 1.ª experiencia y 20 días para la 2.ª experiencia; sin embargo debemos hacer notar que el ovino N.º 1 fué infestado el día 1.º de Noviembre a las 17.30 y los ovinos Nos. 3 y 4 el día 16 de Noviembre a las 11 horas; de manera que más bien debe comprenderse la evolución entre los 20 y 21 días, el mayor número de hembras caídas correspondió a los 23 días para la primera y 22 días para la 2.ª o sea al 3.er día de haberse iniciado.

EXPERIENCIAS EN CAPRINOS

El día 1.º de Noviembre, conjuntamente con la 1.ª experiencia sobre ovinos se inicia otra sobre caprinos, con larvas procedentes de hembras caídas de bovinos, nacidas en el laboratorio el 5 de Octubre de 1921.

Se eligen para esto dos cabritos mestizos de Angora, de lana larga.

En la fecha indicada fueron colocadas gran cantidad de larvas a cada uno de ellos, y alojados en el mismo box.

RESULTADO DE LAS OBSERVACIONES

Noviembre 2. — Se constatan gran cantidad de larvas vivas libres, algunas prendidas.

Noviembre 3. — La mayoría de las larvas prendidas, distribuídas en la región inguinal, nacimiento de la bolsa testicular, región abdominal y costado del tórax; aun se observan larvas vivas libres.

Noviembre 5. — La mayoría de las larvas se encuentran en la zona inguinal, y bolsas.

Noviembre 9. — Todas las garrapatas en desarrollo en el estado ninfal.

Noviembre 12. — Se observan garrapatas en desarrollo en diversas regiones, en mayor cantidad en la zona testicular; regular número en la base de las dos orejas cara antero-superior.

En la región inguinal se observan muchas erosiones libres de garrapata, probablemente ninfas que han caído desprendidas por defensa del animal o han emigrado a otras regiones próximas.

Noviembre 13. — Ninfas grandes, con forma de próximas a mudar de estado, las ubicadas en la base de las dos orejas contrastan por el tamaño con las de las otras regiones; parece que se desarrollan muy lentamente.

Noviembre 14. — Continúa el desarrollo ninfal, las ubicadas en la base de las orejas permanecen chicas.

Noviembre 15. — Se observan algunas ninfas haciendo la 2.ª muda (2 en el cabrito N.º 1). Las ubicadas en las orejas continúan retardadas en el desarrollo.

Noviembre 17 — La mayoría de las ninfas han mudado, otras están haciendo la 2.ª muda. Las ubicadas en la base de las orejas continúan chicas, color pizarra claro.

Noviembre 18. — Las garrapatas de las orejas continúan ninfas, en las otras regiones la mayoría ha hecho la 2.ª muda, — comienza la emigración de los machos; algunas hembras y machos en cópula, — en las regiones de gran abundancia de garrapatas (región inguinal, abdominal inferior) la piel se ha puesto edematosa y caliente.

Noviembre 19. — Algunos machos libres, hembras y machos en cópula; varias ninfas ubicadas en las orejas comenzaron la 2.ª muda.

Noviembre 20. — Aún se constatan algunas ninfas; las ubicadas en la base de las orejas continúan chicas.

Machos libres, vivos, caminando sobre la lana; muchas hembras y machos en cópula; se observan algunos machos debajo de ninfas.

Los puntos de la piel, de ubicación de las garrapatas, rodeados de una zona roja y edematosa.

Abundantes deyecciones oscuras, formadas al parecer casi exclusivamente por sangre.

Noviembre 21. — Se observan hembras muy próximas a la madurez, una de ellas cae durante el examen; las ubicadas en la base de las orejas algunas han hecho la 2.ª muda, pero continúan chicas, otras permanecen ninfas.

Noviembre 22. — 21 días de la infestación. — Se recogen las primeras hembras caídas espontáneamente.

Noviembre 23 y siguientes hasta Diciembre 6. — Se sigue la observación y se constata que las garrapatas ubicadas en las orejas se desarrollan muy difícilmente, el día 6 de Diciembre se encontró aún una ninfa, las otras habían hecho la 2.ª muda pero no llegaron a desarrollo completo.

Hembras caídas:

22	de	Noviembre	21	Hembras
23	"	"	110	"
24	"	"	103	"
25	"	"	24	"
26	"	"	23	"
27	"	"	10	"
28	"	"	9	"
29	"	"	3	"
1.º	"	Diciembre	2	"

DISCUSION DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES

1.º) Desarrollo. — La garrapata de bovinos (Boophilus microplus) se desarrolla en los caprinos, — el peso medio es algo inferior al de las de bovinos; pero desovan bien y dan larvas abundantes.

2.º) Ubicación. — Contrariamente a lo que pasa en los ovinos, el Boophilus se ubica en los caprinos de preferencia en las zonas descubiertas, desprovistas de lana, aunque puede ubicarse en las demás regiones del cuerpo, sin embargo, parece que hay algunas regiones (cabeza, base de las orejas) donde se ubican, pero que se desarrollan mal y hasta no llegan a la madurez completa.

3.º) Período de evolución. — Aunque no se hicieron las observaciones debidas para constatar con precisión los períodos de mudas (la experiencia tuvo al principio otro objeto), — resulta sin embargo que la 2.ª muda se cumple a los 14 días y la evolución total en el mínimo de 21 días, siendo por lo tanto del todo semejante a la de los ovinos, — el mayor número de hembras la cumplieron entre los 22 y 23 días.

4º) Lesiones producidas, etc. — Resulta también, que como en los equinos, el Boophilus produce en los caprinos lesiones acentuadas de la piel, fácilmente visibles por la ubicación del parásito en las partes desnudas; esas lesiones consisten en erosiones que se hacen muy intensas, aumentando la congestión y haciéndose la piel edematosa, en los días que siguen a la 2.ª muda, cuando los machos se ubican debajo de las hembras.

Otro hecho interesante es el excremento, en esa época color oscuro (sangre seca), — como si el aparato digestivo no estuviera inmediatamente después de la 2.ª muda, aún adaptado a la digestión completa.

EXPERIENCIA EN CANINOS

El día 14 de Noviembre de 1921 se inicia la experiencia con un canino, joven, raza Fox-terrier, se infesta abundantemente con larvas procedentes de hembras caídas de bovinos; nacidas en el laboratorio el día 6 del mismo mes.

Este canino recibe el N.º 2, y es ubicado conjuntamente con otros dos hermanos en una misma jaula; en las observaciones sucesivas se constatan larvas en los dos compañeros y son incorporados a la experiencia.

RESULTADO DE LAS OBSERVACIONES

Noviembre 15. — Se constatan pocas larvas prendidas, algunas muertas; se encuentran larvas prendidas en otro de los perritos.

Noviembre 17. — Se encuentran muchas larvas prendidas en las regiones: pectoral, periné y detrás de las orejas.

Noviembre 18. — Se encuentran larvas prendidas en las regiones indicadas y en uno de ellos en la vulva; al parecer se desarrollan bien.

Noviembre 19. — Continúa el desarrollo de las larvas, se constatan algunas en el pliegue de la babilla.

Noviembre 21. — Se constatan algunas ninfas, parece que estas no tienen la misma ubicación larval, se encuentran en punto próximo al que se efectuó la muda.

Noviembre 23. — Se encuentran bastantes ninfas, prendidas a poca distancia de la muda larval.

Noviembre 24. — El número de garrapatas disminuído; una ninfa suelta viva.

Noviembre 26. — Algunas ninfas muertas, pocas vivas.

Noviembre 30. — Muy raras ninfas vivas.

Diciembre 6. — Fin de la experiencia. Solo se encuentra un macho prendido en el canino N.º 2; en los otros dos caninos no se encuentra ninguna garrapata.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS — CONCLUSIONES

Las garrapatas de los bovinos (Boophilus Microplus), pueden desarrollarse en los caninos, pero la especie no le es muy propicia, no se pudieron conseguir hembras adultas, es probable que con infestaciones sucesivas se hubiera llegado a ese resultado; queda sin embargo por determinar la influencia que puede haber correspondido a la edad de las larvas (solo 8 días de nacidas) y la raza.

En cuanto a la ubicación de los parásitos no ha habido marcada diferencia.

Es interesante el hecho de que las ninfas generalmente no se encuentran en el punto de ubicación de las larvas que les daban origen, allí solo quedaba la cutícula larval aún enclavada.

Es probable que por la especie muy adversa, haya un cambio de ubicación aunque puede tener influencia la defensa del animal al sentir el hundimiento del chupador ninfal.

EXPERIENCIAS EN CONEJOS

El día 14 de Noviembre de 1921 se inició una experiencia, colocando gran cantidad de larvas, procedentes de hembras caídas de un bovino, nacidas en el laboratorio, el 6 del mismo mes; sobre un conejo blanco, raza común.

Resultados de las observaciones. — En los días sucesivos solo se constató un número reducido de larvas prendidas en uno de los párpados inferiores, —ninguna llegó siquiera al período ninfal,— parece pues que esta especie es muy poco propicia al desarrollo del Boophilus Microplus.

Esta observación está de acuerdo con experiencias anteriores hechas por nosotros.

EXPERIENCIA DE TRASMISION DE LA PIROPLASMOSIS BOVINA A OVINOS

LOS OVINOS PUEDEN SER RECEPTIVOS Y DE ELLOS SE TRASMITE LA ENFERMEDAD A LOS BOVINOS POR INOCULACION DE SANGRE

Estación Experimental de Epizootias en Durazno
Memoria Febrero 1921 - 1922

(CON LA COLABORACION DEL DR. ANGEL TORTORELLA)

Con el fin de establecer el grado de receptividad de los ovinos a los virus de la Tristeza bovina se iniciaron algunas experiencias; de ellas pasamos a relatar una que prueba acadamente que esta especie puede ser receptiva para la forma de Piroplasmosis.

Tenemos entendido que es la primera comprobación que se hace de este hecho. En efecto el Prof. José Lignières publicó algunos trabajos de inoculación de virus de las diversas formas de Tristeza bovina, a otras especies, comprendiendo entre ellas a los ovinos; — de sus resultados llega a la conclusión que los ovinos no son receptivos a las Piroplasmosis (a Piroplasma bigeminum y Argentinum) en cambio lo son a la Anaplasmosis; — véase Revista Zootécnica Núms. 76 y 78 — del 15 de Enero y el 15 de Marzo de 1920.

El día 15 de Noviembre de 1921, un ovino, mestizo merino con criollo, recibe por vía intramuscular 10 c.c. de sangre desfibrinada procedente del bovino N.º 161, reproductor Hereford que ingresó para ser inmunizado contra la Tristeza, — el ovino está indicado con el N.º 2.

En los primeros días que siguen a la inoculación no se nota nada de anormal; el día 2 de Diciembre, es decir 17 días después de inoculado, se encuentra algo triste, por la tarde hace 40º9 de temperatura. Se extrae sangre para frotis y en estos se constatan parásitos (Piroplasmas), — formas redondas, distinguiéndose en algunas de ellas puntos cromáticos, — las láminas fueron coloreadas al Giemsa unas, al Manson otras.

Día 3 de Diciembre hace 40º6 de tarde y 41º de noche, — en los días sucesivos desciende para hacerse normal.

El día 14 de Diciembre, a los 29 días de inoculado, nueva elevación brusca de la temperatura, 41º1, — en los días sucesivos se hace normal, — los exámenes de sangre por el método de Giemsa comprueban la presencia de puntos cromáticos marginales, teñidos

macivamente en rojo, completamente análogos a los que caracterizan la Anaplasmosis bovina.

El cuadro N.º 1, traduce las variaciones de la temperatura del ovino N.º 2.

INOCULACION DE SANGRE DEL OVINO N.º 2 A UN BOVINO (N.º 179)

El día 8 de Diciembre de 1921, se inocula a un toro Hereford, dientes de leche, indicado con el N.º 179, 3 c.c. de sangre desfibrinada, por vía subcutánea, extraída el mismo día del ovino N.º 2.

El animal continúa sin novedad hasta el día 19; el día 20, 40º de mañana, de tarde 38º5; día 21; 41º2 de mañana. Enseguida recibe 2 gr. 50 de Tripamblau por tratarse de un animal de mérito.

Por el examen de la sangre se comprueban formas redondas de parásitos.

En los días sucesivos la temperatura se hace normal; el día 19 de Enero de 1922, 41 días después de la inoculación, nueva elevación brusca de la temperatura.

El día 31 de Enero se le extrae sangre y se inoculan de ella, el mismo día, 3 c.c. por vía subcutánea al bovino N.º 193, — novillo mestizo Durham, diente de leche.

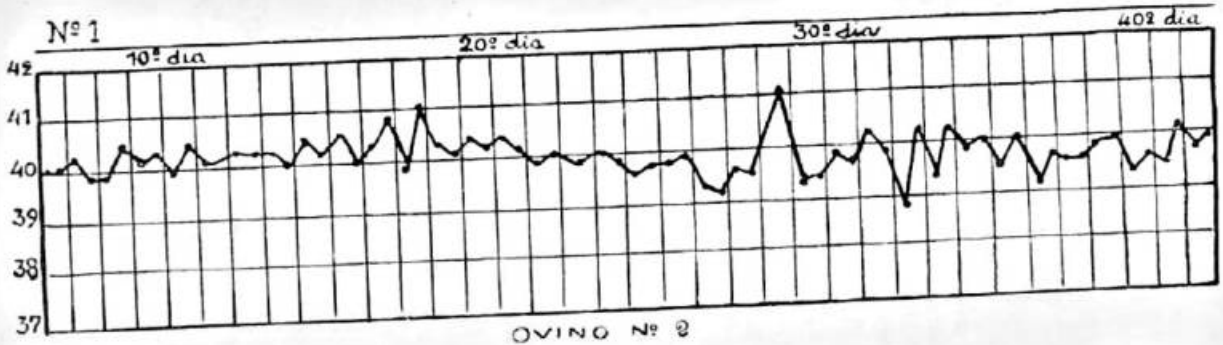
TEMPERATURAS DEL BOVINO 193

	mañana	tarde
1.º de Febrero	39º	39º1
2 " "	38º4	39º
3 " "	39º	39º2
4 " "	39º2	39º5
5 " "	38º7	—
6 " "	39º1	39º4
7 " "	39º	39º2
8 " "	39º9	38º7
9 " "	41º1	40º3
10 " "	40º8	40º6
11 " "	39º8	39º6

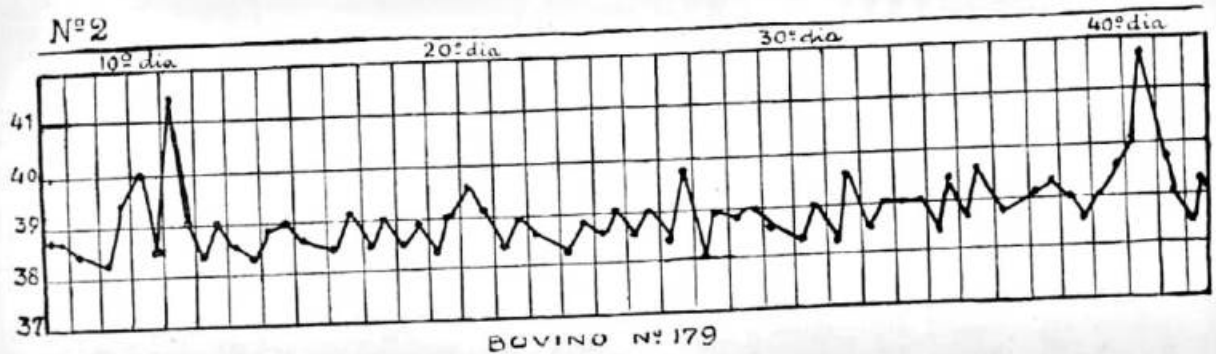
En los días sucesivos la temperatura continúa, con ligeras alternativas, descendiendo hasta hacerse normal.

INOCULACION DEL BOVINO 179 CON SANGRE VIRULENTA

El día 31 de Enero recibe por vía subcutánea 2 c.c. de sangre procedente del bovino 118, muy virulenta; hasta el día 13 de Marzo, fecha en que se da por terminada la experiencia, no se constata ninguna elevación térmica apreciable, salvo el día 15 de Febrero (15 días de la reinoculación), en que por la tarde tiene 39º8.



OVINO Nº 2



BOVINO Nº 179

RESUMEN DE LAS OBSERVACIONES

1.º — El ovino número 2 presenta reacciones térmicas marcadas a los 17 días y a los 29 días de inoculado.

2.º — Esta reacción es superponible a la que presentan los bovinos inoculados.

3.º — En los exámenes de sangre, presenta para la primera reacción formas nítidas de piroplasma; en la segunda reacción, lesiones globulares, granulaciones cromáticas marginales, análogas a las que caracterizan la anaplasmosis.

4.º — La inoculación de sangre del ovino N.º 2 a un bovino (N.º 179) es positiva y la inoculación de sangre de éste a otro bovino (N.º 193) es también positiva.

5.º — El bovino N.º 179, resiste con leve reacción la inoculación de 3 c.c. de sangre probada virulenta.

CONCLUSION

De donde resulta que los ovinos por lo menos en determinadas condiciones pueden ser receptivos, no solamente a la forma de Anaplasmosis bovina (Lignières) sino también a la Piroplasmosis.

Por la reacciones y análisis de sangre, la forma de Piroplasmosis trasmitida, parece corresponder al Piroplasma Argentinum.

TRASMISION DE LA PIROPLASMOSIS BOVINA A LOS OVINOS. — NUEVAS EXPERIENCIAS CONFIRMATORIAS

(Publicado en el Boletín de Policía Sanitaria de los Animales. Año IX, N.° 4, 1924)

En Agosto de 1922, publicamos un trabajo en colaboración con el entonces ayudante técnico de la Estación Experimental, Dr. Angel Tortorella, relatando algunas experiencias, según las cuales, la Piroplasmosis bovina, seria trasmisible a los bovinos por inoculación de sangre virulenta, contrariamente a lo afirmado por el Prof. Lignières en publicaciones anteriores, quien atribuía esa cualidad solamente a la Anaplasmosis.

Posteriormente, en Julio 15 de 1923, el Prof. Lignières publica nuevas experiencias contestando a nuestro trabajo, mostrando que no habia obtenido éxito en la trasmisión de la Piroplasmosis bovina a los ovinos y se reafirma en su tesis contraria a la nuestra, comentando la posibilidad de error en nuestros resultados: por todo lo cual, por mi parte quedo muy agradecido, reconociendo la autoridad indiscutible del Prof. Lignières en esta materia. No obstante, no podía aceptar esa tesis, estando absolutamente seguro de que ninguna causa de error podía existir, o por lo menos era muy remota por la escrupulosidad observada en todas las partes del trabajo, atribuyendo lógicamente la diversidad de los resultados a las distintas condiciones experimentales.

Por otra parte, la obtención de un hecho positivo, cuando es bien observado, no puede ser negado por experiencias negativas, y cuando esta divergencia en los resultados ocurre, es lo más probable que la experiencia no esté aún bien condicionada, más aún admito la posibilidad de que yo mismo podría haber obtenido resultados negativos al tratar de reproducir nuevamente la experiencia, sin que esto negara valor a la primera, a lo más nos llevaría a una justificable duda, incitándonos a nuevos trabajos a fin de encontrar el determinismo experimental del hecho.

En nuestro trabajo anterior ya decíamos que de las experiencias realizadas tendientes a establecer la receptividad de los ovinos a la Piroplasmosis bovina, relatábamos una en que habíamos obtenido resultados positivos y en la conclusión final manifestamos que en "determinadas condiciones", precisamente haciéndonos cargo de nuestros propios resultados negativos en algunos casos, — lo que no hacía inverosímil el resultado positivo ya obtenido.

El Prof. Lignières llama, además, la atención sobre que nosotros hayamos comprobado granulaciones anaplásmicas en el ovino N.º 2, siendo que él no ha encontrado jamás en la Anaplasmosis de los ovinos y además que ese ovino con granulaciones anaplásmicas no haya trasmitido la anaplasmosis a los bovinos N.º 179 y 193 inoculados sucesivamente; debemos manifestar, que nosotros hacemos referencia a granulaciones cromatínicas análogas a las que caracterizan a la anaplasmosis y no decimos anaplasmas porque a pesar de haber sido los primeros en el Uruguay en publicar experiencias estableciendo la presencia de las otras formas de Tristeza bovina, no hemos aceptado que la granulaciones cromatínicas, tanto marginales como centrales, sean anaplasmas, parásitos, sino lesiones globulares, sobre todo de anemias hemolíticas, proceso este muy intenso en la anaplasmosis, enfermedad en que aquellas granulaciones se encuentran en mayor número y las hacen características, por la intensidad del fenómeno; en este punto estamos, pues, con aquellos que sostienen la tesis que esas granulaciones no son parásitos, sino lesiones globulares, ya se les dé la interpretación de avance nucleares (cuerpo de Joly) u otra sin que esto toque para nada la existencia autónoma de las tres formas de Tristeza bovina, los trabajos publicados a ese respecto y sobre todo el de Beaurepaire Aragao y E. Díaz, son convincentes, respetando la opinión del Prof. Lignières; además, nuestras observaciones en los lanares nos afirman más en ese modo de ver, puesto que hemos observado esas granulaciones cromatínicas en evolución de Piroplasmosis, al lado de las demás lesiones globulares de las anemias hemolíticas, como lo expondremos más adelante.

Paso ahora a los nuevos hechos.

1.º ORIGEN DEL VIRUS. — CONDICIONES DE LAS EXPERIENCIAS

Como para nuestra primera serie hemos utilizado de un modo exclusivo como virus de inoculación, sangre extraída de animales en evolución aguda de Piroplasmosis, en el actual trabajo de los bovinos, uno el N.º 238, inoculado experimentalmente con sangre del bovino N.º 6 (surtidor de virus); otro una vaca que adquirió naturalmente la enfermedad por infestación garrapática en los alrededores de la Estación Experimental, figura también una experiencia de pasaje de un bovino a otro, y una de ovino a un caprino.

2.º OVINOS UTILIZADOS

El ovino N.º 2, de nuestra primera experiencia, está protocolizado con una edad de 3 meses; la influencia de la edad la conceptuamos de gran alcance, en efecto, en la especie ovina, así como

en la canina, los animales jóvenes son más receptivos a las enfermedades piroplásmicas naturales que los adultos, contrariamente a lo que pasa en la especie bovina, lógico es, pues, pensar que nos dirigiéramos para aumentar la receptividad experimental a los corderos, máxime contando con una experiencia positiva en esas condiciones.

3.º Las inyecciones han sido siempre intramusculares, con virus extraídos dentro de las 24 horas anteriores, solo en un caso hemos inyectado sangre de 4 días con resultado positivo.

La experiencia

Ovino N.º 10. — Ovino mestizo merino de 4 a 5 meses de edad.

El 16 de Marzo de 1924 recibe 10 c.c. de sangre desfibrinada, extraída el día 12 del mismo mes, de una vaca en plena evolución aguda de Piroplasmosis. La temperatura hasta ese día había sido siempre inferior a 40º, término medio 39º.2, 39º.3, no pasando de 39º.5. El día 17, hace 40º por la mañana y 39º.9 por la tarde; el día 18, 40º.4 por la mañana y 40º.2, por la tarde; el día 19, 40º.3 y 41º.1; el día 20, 41º.3 y 41º.7, y así sigue oscilando con temperaturas altas hasta el día 30 en que la temperatura vuelve a hacerse normal; para volver a hacer una nueva ascensión a los 33 días de inoculados.

El día 18, es decir a los dos días después de inoculado, por la mañana se nota la orina rojiza; más tarde color rojo obscuro; se hace el examen y se comprueba albúmina, hemoglobina y la ausencia de glóbulos rojos; es por lo tanto, hemoglubinúrica; el día 19 es intensamente hemoglubinúrica; el día 20 es menos hemoglubinúrica; el 21, ya no se nota hemoglubinúrica por el simple examen.

Exámenes de sangre. — Frotis del día 18 de Marzo. Coloración Giemsa-Anisocitosis basófilas.

20 de Marzo. — Sangre clara, numeración globular 3.000.000 por mm^3.

21 de Marzo. — Frotis. Anisocitosis muy pronunciada, gran cantidad de glóbulos policromatófilos, megalocitos basófilos; gran cantidad de glóbulos con granulaciones basófilas nítidas, hasta 30 y más de esos glóbulos por campo. Muchos glóbulos rojos con granulaciones cromatínicas, algo más grandes que las llamadas anaplásmicas, la mayoría aisladas, de forma esférica nítida, rara vez ligeramente oval (una), ubicadas casi exclusivamente en los megalocitos basófilos, rara vez en los otros glóbulos rojos, el teñido es en algunos masivo, en otros deja entrever una estructura irre-

gular en malla algo granulosa, pareciéndose así a las formas redondas de piroplasmas.

En un glóbulo, forma piriforme begeminada, representando exactamente un piroplasma.

25 de Marzo. — Anisocitosis disminuída; policromacia disminuída; pero aún existen varios glóbulos basófilos por campo; granulaciones basófilas más nítidas, sobre un fondo globular menos basófilo. Granulaciones cromáticas muy nítidas completamente análogas a las anaplásmicas, algo marginales, aún en diplococus.

29 de Marzo. — Anisocitosis muy disminuída. Policromacia desaparecida, algunos glóbulos (1 a 2 por campo) con granulaciones basófilas nítidas sobre un protoplasma no basófilo; glóbulos rojos con granulaciones cromatínicas aisladas, más pequeñas que las observadas anteriormente; en un glóbulo una forma redonda de estructura piroplásmica.

2.ª Experiencia. Ovino N.º 2. — Borrega de cinco meses de edad, mestiza merino. El 21 de Marzo recibe por vía intramuscular 10 c.c. de sangre desfibrinada procedente de sangría del día anterior del ovino N.º 10, que suponemos en plena reacción Piroplásmica. El día 22 hace un ligero ascenso febril y en los días sucesivos desciende para volver a ascender el día 28 y sobre todo el 29; el día 2 de Abril es sacrificado con fines de estudio.

El día 29 se nota una orina hemoglubinúrica; día 30 hemoglobinúrica, al parecer más clara.

Día 31 hemoglobinúrica intensa en la mañana y en la tarde.

Exámenes de sangre: Marzo 29. — Frotis. Coloración Giemsa; ligera anisocitosis, glóbulos rojos con granulaciones basófilas sobre protoplasma normal, uno cada varios campos; glóbulos rojos con granulaciones cromatínicas tipo anaplasma, 1 cada varios campos.

Marzo 30. — Frotis-Coloración Giemsa; no se nota diferencia apreciable con la preparación anterior.

Marzo 31. — Frotis-Coloración Giemsa. Anisocitosis pronunciada, predominando los mégalos y microcitos, policromacia globular acentuada, glóbulos rojos con protoplasma y granulaciones basófilas, 2-3 y más por campo, glóbulos rojos con granulaciones cromáticas en mayor cantidad que días anteriores.

Autopsia del ovino N.º 12. — No ponemos el protocolo completo porque no ofrece mayor interés, siendo de hacer constar las siguientes lesiones: Pulmones en espiración completa, algunos focos pequeños de condensación, pero que flotan en el agua. Riñones, congestionados, al corte color rojo oscuro. Bazo, sin aumento aparente de volumen, al corte pulpa más oscura y más blanda que lo normal. En cambio ofrece mayor interés el examen de frotis de algunos órganos, especialmente el pulmón.

Frotis del pulmón. — Coloración Giemsa. Fué observada una forma típica de esporozoario en evolución, formado por un corpúsculo circular (en proyección) algo alargada de 6 por 6 ½ micros de diámetros; comprendiendo ocho pequeños córpulos, de forma alargada con una extremidad afilada y la otra redondeada, de un micro de ancho en su parte más ancha, por 1 y ½ a 1 m. 8 de largo, comprendiendo c/u. un corpúsculo cromático alargado en sentido transversal, el corpúsculo cromático de un nítido color rojo violáceo resalta muy bien sobre el fondo de azul celeste del resto del elemento; como se vé, se trata sin ninguna duda de un parásito en evolución correspondiendo a un exquisante comprendiendo ocho merozoitos.

¿Gránulos plasmáticos? — Hemos observado además unos córpulos, algo más pequeños que los glóbulos rojos, coloreados por Giemsa en azul-celeste, con una estructura en malla algunas veces, otras granulosas, a grandes gránulos alargados; análogos como se ve a los descriptos por Koch en los órganos de los animales atacados de Theileria parva y que Gauder las interpreta como formas de evolución del parásito.

Otras experiencias. — Ovino N.º 11 Borrego, macho entero, de 6 meses de edad. El 19 de Enero recibe 10 c.c. de sangre de otro ovino N.º 9 que ha hecho algunas temperaturas elevadas por inoculación de sangre del bovino N.º 237, este no hizo tampoco una evolución típica de Piroplasmosis, sino una forma "trainante", con irregularidad de temperatura, sino cuadro clínico característico por lo menos de forma aguda.

El 20 de Enero hace (ovino N.º 11), 39º.8 por la tarde; el 21, 40º y 40º.5; el 22, 41º.8 y 42º.3; el 23, 41º.3 y 40º.3, continúa algunos días más con temperaturas elevadas y después desciende para continuar luego con oscilaciones.

Ovino N.º 13. — Borrega mestiza Shorshire, de 5 meses de edad. El día 30 de Enero recibe 10 c.c. de sangre desfibrinada procedente del bovino N.º 238, que tampoco ha hecho una forma franca de Piroplasmosis; sino temperaturas irregulares, aprovechando algunas altas para la extracción de sangre con fines de inoculación.

El 30 de Enero, día de la inoculación (ovino N.º 13), 39º.7 de mañana y 39º.4 de tarde; día 31 de Enero, 41º.5; Febrero 1.º, 40º.7 y 41º.7; continúa varios días con temperaturas altas, para descender y volver a hacer nuevas temperaturas altas a los 38 días de inoculada, para descender nuevamente.

Caprino N.º 5. — Mestizo de Angora. 5 a 6 meses de edad. El 1.º de Abril recibe por vía intramuscular 10 c.c. de sangre desfibrinada procedente de sangría del 31 de Marzo del ovino N.º 12. Continúa con temperaturas por debajo de 40º hasta el 4 de Abril;

Abril 5, 40°.3 y 39°.6; Abril 6, 40°.8 y 39°; Abril 7, 39°, 41° y 41°.5; hace algunas temperaturas más y desciende, para volver a ascender nuevamente de un modo brusco el 22 de Mayo, es decir 51 días después de inoculado, nuevo descenso definitivo a partir del 25 de Mayo.

Tanto en lo que respecta a los análisis de sangre, como a los datos y frotis de órganos de autopsias, hacemos figurar solo los exámenes que ofrecen interés, para no hacer demasiado extensa la exposición, a pesar de haber hecho los exámenes diarios de sangre y el examen de frotis de todos los órganos más importantes. Nos falta el estudio microscópico de los cortes de órganos, de mucho mayor alcance para la evolución del parásito, cosa que no lo habíamos hecho por carecer hasta hace poco de Micrótamo apropiado.

INOCULACIONES A BOVINOS

En nuestra primera experiencia habíamos utilizado un toro Hereford, puro por cruza de unos 18 meses de edad, de un lote destinado a inmunización contra la Tristeza y completamente sensibles.

Ultimamente hemos utilizado animales alrededor del año, de escasa mestización y sobre los cuales no había seguridad de si estaban libres de Piroplasmosis, algunos de ellos inoculados con sangre de bovinos, hicieron una reacción "trainante", es decir con irregularidades ligeras y sostenidas de temperaturas.

El bovino N.° 243, acusa sin embargo una reacción significativa.

Bovino N.° 243. — Torito mestizo Normando, de unos 15 meses de edad. El 1.° de Abril recibe por vía subcutánea 10 c.c. de sangre desfibrinada procedente del ovino N.° 12. Del día 7 al 11 hace temperaturas elevadas, con máxima de 40°.6 el día 9, después desciende haciendo irregularmente algunas temperaturas.

Los exámenes de sangre no revelaron formas parasitarias características, pero esto no tiene nada de raro, porque los que nos dedicamos a esta clase de investigaciones sabemos las dificultades que hay en comprobar formas nítidas de Piroplasmas en la evolución de Tristeza a Piroplasma Argentinum, recuerdo hacer hecho infinidad de preparaciones aún en animales que murieron a consecuencia de la enfermedad, sin haber podido comprobar formas suficientemente características de piroplasmas; no es, pues, de extrañar que en casos de reacciones moderadas como el presente no hayan sido observadas.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Creo que las experiencias relatadas constituyen a nuestro juicio suficiente prueba de la receptividad de los ovinos a la Piroplasmosis bovina, no obstante he deseado hacer el análisis de algunos hechos a fin de explicar el alcance que en mi concepto tienen.

Paralelismo de la hemoglobinúrica, reacción febril y lesiones globulares. — La aparición de la hemoglobinuria en el ovino N.º 10, a los dos días de inoculado induce a dudar sobre el origen de esa hemoglobinuria, haciendo pensar que podía ser debida a la introducción de hemolisinas con la inoculación de 10 c.c. de sangre de la vaca en plena evolución Piroplásmica natural y también con hemoglobinuria, pero indudablemente esta conjetura, aún no tomando en cuenta la comprobación de parásitos intraglobulares, pierde todo su valor frente a los siguientes hechos: La hemoglobinuria sigue una curva paralela a la elevación de la temperatura, asciende y desciende con ella, en el ovino N.º 10, el día 21 se inicia una caída casi a pico de la temperatura y con ella desaparece la hemoglobinuria, coincidiendo igualmente con la crisis hemopoiética de la aparición de gran número de elementos globulares nuevos.

El caso del ovino N.º 12 es más interesante: la hemoglobinuria aparece recién el día 29 con una elevación brusca de la temperatura, es decir 8 días después de la inoculación, se hace más clara el día 30, coincidiendo también con un descenso de la temperatura y reaparece intensa el día 31 con una nueva elevación brusca de la temperatura; hay después en este caso una incubación de 8 días, con reacción térmica pronunciada y paralela; es una prueba de que hay en juego una causa animada y no un principio soluble introducido con la inoculación, la aparición de las lesiones globulares al máximo caracterizando la crisis homopoiética han seguido igualmente un curso paralelo, culminando el día 31, con la hemoglobinuria y la temperatura.

El período de incubación. — El relativamente breve período de incubación en los ovinos N.º 10, 11 y 13, puede ser debido a la cantidad de virus utilizado, a la vía de introducción, a la naturaleza virulenta de la sangre (animales en evolución aguda) inyectada; cuya influencia está experimentalmente probada en la reproducción experimental de la Piroplasmosis ovina; además el ovino presenta la característica de una incubación más breve para sus Piroplasmosis específicas, pudiendo ser de 48 horas cuando se usa la vía intravenosa y de 2 a 3 días las otras vías, pero pudiendo presentar parásitos en la sangre a las 24 horas de inoculados. Véase Volu, Les Piroplasmes et les Piroplasmosis, pág. 221. Es muy probable también, que la introducción de una inyección voluminosa

(10 c.c.) por vía intramuscular se haga en parte intravenosa por rupturas de pequeños vasos, incidente muy frecuente en todas las inyecciones intramusculares.

La comprobación de parásitos. — Nosotros acordamos excepcional importancia a la comprobación hecha en frotis de pulmón del ovino N.º 12 de formas parasitarias, aún no habiendo comprobado parásitos intraglobulares en la sangre circulante de ese ovino. Todos los que han hecho trabajos de inoculaciones de Piroplasmosis han de estar de acuerdo que hay formas de Tristeza, las más graves, las catalogadas a Piroplasma Argentinum (Lignières), en que es difícil poner de relieve formas características de parásitos en la sangre circulante, a pesar de haber examinado centenares de preparaciones microscópicas son relativamente pocas las veces en que hemos comprobado el elemento piriforme bigeminado típico, mucho más chico que el bigeminum y a ángulo más abierto, contrastando con la facilidad de poner de relieve el Piroplasma bigeminum que se nos ha mostrado absolutamente constante en las Piroplasmosis por él producido. En cambio la mayoría de los experimentadores está de acuerdo en la mayor cantidad de aquellos elementos en los órganos internos; fué esta la razón que nos llevó a sacrificar el ovino N.º 12.

Por otra parte el ciclo evolutivo de los Piroplasmas era poco conocido hasta la fecha; los trabajos de Kinoshita y de Gonder pusieron de relieve la esquizogonia en estos esporozoarios, el primero en el Piroplasma cani y el segundo en la Theileria parva; los esquizontes agamogenos de Kinoshita son completamente idénticos al descripto por mí en este trabajo, formados c/u. por 8 merozoitos de 1 micra y ½ a 2 micras; no sería improbable, pues, que la forma que he descripto fuera un esquizonte agamogeno del Piroplasma Argentinum y que esa esquizogenia tuviera asiento en los órganos internos y probablemente en las células epiteliales, pues nosotros hemos comprobado inclusiones en esas células, sujectivas, que hacen pensar en formas iniciales de esquizontes.

Estos hechos, aproximarían más aún los Piroplasmas de las coccidias al lado de los cuales están comprendidos en los esporozoarios.

Constataciones análogas han sido hechas para otros esporozoarios. Gonder ubica la esquizogonia de la Theileria parva en los órganos internos, sobre todo en el Bazo; la escuela de Manguinhos ha comprobado la esquizogonia del Halteridium de las palomas, en los pulmones; Beaurepaire de Aragao estableció la esquizogenia de las Hemogregarinas en las células epiteliales del intestino, del hígado y del pulmón; nuestra constatación no es pues aislada; nuevos estudios en mejores condiciones le fijarán el alcance que

tienen en la evolución de los Piroplasmas, sólo un error es posible, la presencia concomitante de otro protozoario ignorado en el ovino N.º 12.

La influencia de la edad. — Nosotros prestamos también mucha importancia a la edad de los ovinos inoculados, basados en primer término en los hechos comprobados por nosotros y después en la circunstancia, como lo hemos dicho más arriba, de que en los lanares la influencia de la edad para la Piroplasmosis es inversa a la de los bovinos. La prueba más concluyente es que la Thoileriosis ovina solo se trasmite, experimentalmente a los lanares jóvenes (corderos). Se explica, pues, fácilmente que las inoculaciones de Piroplasmosis bovina a ovinas tengan poco éxito cuando se utilizan ovinos adultos o que las reacciones sean poco características consistiendo en simples irregularidades térmicas.

Pienso, además, que esta diversidad de resultados en las inoculaciones a los ovinos según la edad, abren una vía para la revisión de las relaciones de la anaplasmosis con las Piroplasmosis sin abrir opinión por el momento.

Dr. M. C. Rubino

LA ANAPLASMOSIS EN LOS BOVINOS DEL URUGUAY

ALGUNOS CASOS INTERESANTES

(CON LA COLABORACION DEL DR. ANGEL TORTORELLA)

Publicado en el Boletín N.º 4, año 1937, de la Dirección de Ganadería

Nuestros trabajos realizados en la Estación Experimental de Epizootias (Durazno, año 1921) nos permitieron comprobar acabadamente que en el Uruguay existen por lo menos tres formas de "Tristeza" (1).

Esta comprobación fué hecha en oportunidad de trabajos de premunición, en un crecido número de animales y, demostrada, además, de por los exámenes de sangre, por las pruebas de premunición cruzada; hecho que tenía mucha importancia en aquel entonces, porque, sobre todo en los países del Plata, algunos investigadores sostenían la unidad del agente etiológico de la *Tristeza*, no obstante los trabajos publicados en el extranjero y principalmente los del Prof. Lignières en la República Argentina, que demostraban de un modo concluyente la existencia autónoma de tres parásitos distintos: Piroplasma bigeminum (Smith y Kilborne 1895), Piroplasma argentinum, ahora Babesiella argentinum (Lignières 1898) y Anaplasma marginale (Theiler 1909).

La existencia de esas tres formas de Tristeza quedó igualmente demostrada por el distinto comportamiento al *Tripanblau;* pues, mientras la forma a Piroplasma bigeminum obedece de un modo casi absoluto a aquel medicamento, cuando es administrado en dosis y momento adecuados, la babesiella ofrece un comportamiento irregular, una manifiesta mayor resistencia y el Anaplasma, no obedece en forma alguna, más bien es favorecido en su desarrollo por sustancias anemiantes y que tocan el retículo del endotelio, tales que el tripanblau.

En cuanto a la frecuencia de las distintas especies de hematozoarios en nuestro país, podríamos decir que actualmente en la mayoría de los casos se encuentran mezclados, en forma de infección mixta, como se comprueba frecuentemente por la inoculación de sangre procedente de animales garrapateados, de diversas zonas, a animales vírgenes, en que frecuentemente se comprueba en la san-

(1) Entendemos por "Tristeza", genéricamente, las enfermedades a hemotozoarios eritroglobulares, trasmitidas habitualmente por la garrapata.

gre del animal inoculado la aparición de tres especies: Piroplasma bigeminum, Babesiella argentinum y Anaplasma marginal.

Pero, es interesante remarcar, que como enfermedad natural, son las piroplasmosis a P. bigeminum y argentinum que más frecuentemente se observan, y a las que debemos atribuir la mayor parte de las mortandades por Tristeza en nuestro país.

Análogas constataciones ha hecho el Prof. Rosenbuch para la República Argentina, por lo menos en las partes alejadas de la zona tropical.

La anaplasmosis se comprueba o es fácilmente denunciable por las inoculaciones experimentales de sangre a animales sensibles y es frecuente no tener éxito experimental a partir de garrapatas procedentes de animales seguramente infectados, en los cuales se ha comprobado la existencia de anaplasmas por inoculaciones de sangre a otros animales.

Las experiencias del Prof. Rosenbuch, parecen demostrar que para la trasmisión de la anaplasmosis, por la garrapata (Boophilus microplus) es necesario una temperatura ambiente en cierto modo elevada; sin lo cual la garrapata trasmitiría las piroplasmosis, pero no las anaplasmosis, sin que por ello el ixode pierda su infecciosidad para la última, infecciosidad que se podría hacer presente en una nueva generación si parasitara animales sensibles (en el sentido de receptivos, no premunidos) en condiciones-ambiente adecuadas.

Estas irregularidades muchas veces comprobadas en diversos países en cuanto a la trasmisión de la anaplasmosis por las garrapatas, hizo pensar en la posibilidad de que otros agentes vectores podrían intervenir en la trasmisión natural de la enfermedad.

Este modo de pensar estaría reforzado por el estallido de anaplasmosis en animales en las condiciones habituales de su vida en el campo, con absoluta exclusión de la garrapata, en condiciones poco conocidas o poco precisas unas veces y por operaciones que suponen una mínima contaminación sanguínea otras veces.

Pasamos a relatar dos casos de esas formas de anaplasmosis, que creemos de interés hacer conocer y que han motivado la presente comunicación.

Primer caso

El 27 de Octubre de 1934, el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería recibe un telegrama del Jefe de la Inspección Regional de Soriano, Dr. Marco Dutto, pidiendo la colaboración para estudiar una enfermedad aparentemente infecciosa, aparecida en los animales bovinos de un establecimiento ganadero de su jurisdicción.

El día 29 de Octubre nos trasladamos con el Dr. Ricardo Ge-

rona San Julián, del Establecimiento N. N., a 50 kilómetros de la ciudad de Mercedes.

La enfermedad se presenta en novillos Hereford, de buena calidad, de aproximadamente dos años de edad. Proceden de establecimiento de zona de garrapata adquiridos varios meses atras, pero actualmente completamente libres de ese parásito y además están en establecimientos libres de garrapata. Estos datos inducían, pues, *a priori* a descartar la Tristeza.

Los animales se notan tristes, apartados de los demás. La palidez del hocico, la mirada triste y esclerótica pálida, blanca, hacen pensar inmediatamente en un cuadro de anemia intensa. Se notan enfermos de 3 a 8 días, unos mueren y otros se reponen. Estos elementos nos hacen pensar en la posibilidad de la *Anaplasmosis.*

Autopsia: Mucosas de la boca y conjuntivas extremadamente pálidas, sangre muy clara (aspecto aguado), corazón con manchas de sufusiones sanguíneas sub-serosas; bazo muy aumentado de volumen, al corte la pulpa hace saliencia. En los intestinos se notan hemorragias puntiformes en la serosa. Médula ósea (huesos largos) amarilla, ligeramente verdosa, la orina no hemoglobinúrica. Estas lesiones se comprueban en los dos animales autopsiados. Al examen microscópico de las extensiones de sangre y órganos, se constatan granulaciones anaplásmicas típicas, en la sangre además, las lesiones globulares características: Anisocitosis, policromasia, glóbulos con puntillado basófilos y glóbulos rojos nucleados.

De un animal que se nota enfermo desde hace dos días, se hacen extensiones de sangre y se extrae sangre desfibrinada para inoculaciones. En las extensiones se comprueban exactamente las mismas lesiones: granulaciones anaplásmicas anisocitosis, policromasia, glóbulos con puntillados basófilos y nucleados.

Inoculaciones. Con la sangre desfibrinada de este último animal, en el Laboratorio de Investigaciones, se inocula el día 1.º de Noviembre 5 c. c. al bovino N.º 22. El día 10 de Diciembre hace 40º2, el día 11, 40º, constipación, el día 12, 38º2, el día 13, 37º2 y muere en la tarde del mismo día. En la autopsia practicada por el Doctor Varela Calzada se comprueban lesiones típicas de Tristeza (Anaplasmosis).

¿Cuál ha sido el origen de esta Anaplasmosis? Caben dos hipótesis: una, que los animales, procedentes de zona garrapateada, tuvieran todos ellos la infección latente y por circunstancias no precisadas hubieran repetido un empuje agudo, determinando la enfermedad y muerte de algunos animales. Uno de los factores que podría haber influido en ese sentido podría ser una onda de calor intenso que tuvo lugar en esos mismos días. La otra hipótesis, que entre los animales podrían haber algunos premunidos con la infec-

ción latente de anaplasmosis y otros no, y que un agente, mecánico o biológico, hubiera trasmitido la infección a los sujetos vírgenes.

Debemos agregar, que la mortalidad fué poco elevada y que a los pocos días de nuestra visita, el 18 de Noviembre todo estaba en orden.

Segundo caso

El 28 de Agosto de 1937, se presenta a este Laboratorio un prestigioso hacendado del Departamento de Cerro Largo, a consultar sobre una enfermedad que ha aparecido en sus animales, manifestando que: Hace aproximadamente un mes y medio, fueron descornados animales vacunos, de 4 años de edad, y ha observado desde hace unos dias animales tristes, enfermos, de los cuales a los 7 a 8 dias de enfermedad algunos mueren. Al abrirlos comprueban la sangre pálida, el bazo muy grande y la orina sin sangre.

La relación de los hechos plantean la posibilidad de una forma de Tristeza *(Anaplasmosis)* y, a mi solicitud, concreta los siguientes datos:

1.º Que actualmente no hay garrapata en el campo.

2.º Que los animales que pueblan su establecimiento, unos han sido garrapateados y otros no y que se encuentran distribuidos en varios potreros, habiéndose descornado en 7 potreros, con la siguiente distribución:

a) Un potrero de 134 novillos poblado exclusivamente por animales no garrapateados. No hubo muertos ni enfermos.
b) Un potrero poblado por 296 animales, no sabe seguramente si garrapateado o no, pero todos de un mismo origen. No hubo muertos ni enfermos.
c) Potrero espinillo, poblado, por 310 animales garrapateados y no garrapateados de 3 a 4 años de edad. Hubo enfermedad con dos muertos.
d) Potrero Cirilo, poblado con 517 animales de 4 a 5 años de edad. Animales garrapateados y no garrapateados. Hubo enfermedad y 3 muertos.
e) Potrero Sarandí, poblado con 84 animales de 3 a 4 años de edad, garrapateados y no garrapateados. Hubo enfermedad y 2 muertos.
f) Potrero Tapera, poblado con 380 animales de 4 a 5 años de edad, garrapateados y no garrapateados. Hubo enfermedad y 1 muerto.
g) Potrero Azul, poblado con 307 animales, de 4 a 5 años de edad, garrapateados y no garrapateados. Hubo enfermedad y ningún muerto.

En total enfermaron hasta el momento de la información, aproximadamente, 40 animales y hubo 8 muertos.

Estos hechos y circunstancias afirmaron más la sospecha de tratarse de anaplasmosis, contagiada por el descorne, el que fué hecho con aparato mecánico, con el cual se habría llevado sangre de animal infectado en contacto con los tejidos de animales vírgenes de la infección.

Restaba para una demostración más acabada, el comprobar por exámenes de sangre la presencia de las granulaciones anaplásmicas y lesiones globulares características.

Encontrándose en Montevideo el propietario del establecimiento, y debiendo trasladarse al mismo en término de uno a dos días, se le pidió informara telegráficamente si aún habían enfermos para ir un técnico a hacer autopsias y preparados para los exámenes microscópicos. Pasaron unos días sin informes, cuando se presenta el propietario nuevamente al Laboratorio, manifestando que no había dado aviso porque no se producían más casos de muerte y los enfermos sobrevivientes habían mejorado mucho.

En tales circunstancias optamos por obtener sangre de animales convalescientes, con la cual inoculamos, en el Laboratorio, un animal adulto (Vaca N.º 185), que recibe por vía subcutánea, el día 27 de Octubre 5 c. c. de una mezcla de dos sangres desfibrinadas, correspondientes a dos animales. El día 3 de Noviembre hace 41º, el día 4, 40º9, el día 5, 40º2, el día 6, 38º7; sin comprobarse formas parasitarias características, continúa con temperatura normal hasta el día 1.º de Diciembre que hace 40º5, el día 2, 41º1, el día 3, 41º8, continúa con alternativas de temperaturas altas hasta el 15 y muere el día 17 de Diciembre. Los exámenes de sangre hechos en el curso del proceso comprueban granulaciones anaplásmicas y lesiones globulares características, habiendo llegado el número de glóbulos rojos a sólo 1.300.000 por m^3.

La temperatura elevada, observada en los primeros días de la inoculación, con ausencia de parásitos, tratándose de un animal adulto, de los tambos de la ciudad de Montevideo, deberá ser interpretada como debida a un estado septicémico fugaz (la sangre fué extraída en el campo e inoculada después de su llegada al Laboratorio) o a una enfermedad intercurrente, hecho corroborado por la inoculación de sangre del bovino N.º 185, a otros dos bovinos, en los que sólo se comprobó anaplasmosis.

En resumen, una enfermedad que aparece en bovinos, aproximadamente al mes y medio de haber sufrido el descorne, que sólo se produce en animales de potreros, en que conviven animales garrapateados y no garrapateados, con evolución de 7 a 8 días, muerte de alguno de ellos con lesiones de intensa anemia, bazo grande, sin hemoglobinuria cuya sangre, inoculada a un animal libre de infec-

ción, le comunica un cuadro clínico y lesiones típicas de anaplasmosis pura, están sin duda alguna en el sentido de una *Anaplasmosis, trasmitida* por el transporte, con los instrumentos utilizados para el descorne, de sangre de animales infectados a animales hasta entonces libres de esa infección.

Debemos agregar que esta forma de trasmisión de la anaplasmosis ha sido ya comprobada en el extranjero (Circular N.º 154, Febrero de 1931, del Departamento de Agricultura de Wáshington) y se citan casos de contagio mecánico aún por lesiones más leves.

Concluyendo, hemos relatado dos casos de presentación de *Anaplasmosis* en los animales, en las condiciones habituales de su vida en el campo, sin intervención directa de la garrapata, quedando en el primer caso, no bien determinado si se trata de la reagudización de un estado de infección inaparente, bajo la influencia de la temperatura ambiente muy elevada, o del transporte mecánico o biológico por un vector no identificado y en el segundo, por el transporte de la infección por los instrumentos utilizados para el descorne.

(Trabajo del Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería)

EL PROBLEMA DE LA ERRADICACION DE LA GARRAPATA EN EL PAIS

DISCUSION DE SU UTILIDAD Y PROBABILIDADES DE EXITO

Conferencia pronunciada en el Congreso de la Federación Rural, en la ciudad de San José, el 26 de Marzo de 1939

(Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería, N.º 2, año 1939).

Hace ya muchos años que ha sido planteado el problema de la erradicación de la garrapata en nuestro país.

En diversas oportunidades, Congresos Veterinarios, Congresos y Asambleas rurales, han discutido el problema y aprobado conclusiones la mayoría de ellas concordantes en el sentido de la conveniencia de organizar una acción formal y sostenida contra la infestación garrapatosa. Pero en estos momentos ha recobrado gran actualidad con motivo de un nuevo planteamiento de lucha, formulado por la Comisión designada por el Ministerio de Ganadería y Agricultura y sobre la base de un minucioso proyecto de Ley, redactado por el Director de Ganadería, doctor Adolfo Baldomir.

Es muy probable que se deba a esa circunstancia, o por lo menos en gran parte, el que la Federación Rural me haya dispensado el honor de poder dirigir la palabra a esta prestigiosa Asamblea Anual de los rurales del país, a quienes me he sentido siempre vinculado en el común esfuerzo por propulsar el progreso de la noble industria que tantas veces ha apuntalado y salvado la economía nacional.

Trataré de ser muy breve, obedeciendo a la consigna de este Congreso.

Numerosas son las enfermedades del ganado contra las cuales se ha convenido en la necesidad de luchar, ya sea con el fin de extinguirlas o por lo menos de reducir al mínimo su frecuencia y que son la base, el fundamento, la razón de ser de los servicios y Legislación de Sanidad Animal que existen en todos los países civilizados. Pero los motivos por los cuales se les combate son diversos. A este respecto podríamos dividirlas de un modo general en dos grupos: Uno, aquellas que puedan ser trasmisibles al hombre, tales que el Carbunclo Bacteridiano, la Tuberculosis, la Enfermedad de Bang, etc.; otro, aquellas que solamente provocan pérdidas de ani-

males o del valor de los mismos en mayor o en menor grado sin ofrecer peligro alguno para la salud del hombre.

En cuanto a las primeras, las trasmisibles al hombre, sobre todo tratándose de enfermedades graves, se conviene de un modo general, por lo menos teóricamente, por razones de orden social, que es necesario luchar contra ellas, oponer una barrera a su extensión, porque se admite, por lo menos en principio, que la vida del hombre, la salud humana, debe primar sobre los demás intereses. Es tal la fuerza que se le acuerda a esos principios que aún mismo se ha pretendido instituir, y a veces se han instituido medidas antihumanas contra las personas que padecen de enfermedades infecciosas, tales que la lepra, para defenderse del contagio. Digo antihumanas, no porque no admita la necesidad de medidas profilácticas para evitar el contagio de tan grave enfermedad a las personas sanas, o para limitar y extinguir una enfermedad que tanto repugna y justamente, al hombre civilizado, sino que las medidas propuestas y a veces impuestas han llegado, al solo objeto de un máximo de seguridad personal, a extremos inhumanos, a secuestros crueles como si merecieran tal castigo por ser víctimas de una desgracia no imputables solamente a ellos.

No obstante esos principios, no obstante el instinto de conservación de la propia salud, han existido siempre y existen aún enormes discrepancias entre los hombres en la lucha contra esas enfermedades. Quien haya leído la historia de Pasteur, conoce bien la lucha tenaz, sostenida, que debió mantener el sabio de todos los sabios, para imponer el descubrimiento salvador de la vida humana.

Será, pues, fácilmente explicable las discrepancias que se suscitan en los problemas sanitarios, que solamente o en su mayor parte tienen un alcance económico. Pues entonces entran solamente en consideración, por un lado los perjuicios que ocasiona la enfermedad o beneficios que supone su extinción, y por otro las erogaciones que acarreará la lucha y los inconvenientes por la repercusión sobre el libre juego de las actividades, de los negocios, etc.

Es precisamente de este balance y, únicamente de este balance, que debería depender la suerte de la iniciativa. Pero, infelizmente, a pesar de tratarse de hechos muchas veces fácilmente apreciables, al alcance del juicio sereno de los hombres, ocurren frecuentemente las mayores discrepancias que dificultan la justa elección del camino y retardan el advenimiento bienhechor de la acción.

Yo debo significar, una vez por todas, para el curso de esta disertación, que planteo el problema en términos absolutamente impersonales, que está lejos de mí la idea de inferir agravio alguno a las personas de cualquiera de las tendencias actuales relacionadas con la lucha contra la garrapata, y que al referirme a las distintas posiciones en que están colocados los hombres frente al problema, no

hago un lugar especial para mí, no excluyo la posibilidad que otros puedan pensar que soy yo quién está en el error.

Para explicar las discrepancias no es necesario admitir que unos hombres somos buenos o bien inspirados y los otros malos o mal inspirados.

Naturalmente, los hombres todos, cuando se plantea una cuestión, somos llevados a pensar de acuerdo con nuestras tendencias actuales. Los conceptos del momento pesan a pesar de nosotros, para juzgar la nueva cuestión y pido disculpas si vuelvo a recordar el nombre del ilustre Pasteur, porque a la par de ser el más grande sabio de la época, ha sido, a su vez, el más popular. La lucha titánica que tuvo que sostener Pasteur con la mayoría de los sabios de su época ha sido bastante divulgada para que yo la repita. Ella tuvo lugar en las Academias, en las revistas, en los periódicos y, sin embargo, los sabios que lo combatieron encarnizadamente, nos legaron ellos mismos grandes descubrimientos, los cuales han beneficiado a la humanidad.

Esa posición del hombre es universal para todos los órdenes de la actividad humana. En el orden económico sucede lo mismo. Inmediatamente de planteada una cuestión, cada cual es llevado, a pesar de sí mismo, a hacer el balance de los perjuicios o beneficios que puedan derivarle. En tales circunstancias se hace necesario que el problema se estudie en todos sus aspectos, teniendo en cuenta, para la solución, los intereses mayores, los intereses de la comunidad, los de la nación que integra.

Entrando en la cuestión, la primera pregunta que se plantea es la siguiente:

¿CUALES SON LAS RAZONES POR LAS CUALES CREEMOS QUE SE DEBE LUCHAR CONTRA LA GARRAPATA?

Son numerosas:

1.º La garrapata, por los parásitos que inocula, produce la Tristeza, en sus distintas formas, que acarrea grandes mortandades de animales.

2.º Además, la propia garrapata con exclusión de su acción mortífera, por la constante succión de sangre anemiza los animales, y obliga al organismo a un intenso trabajo de reparación sanguínea, que repercute perniciosamente sobre el crecimiento, engorde, etc.

3.º Aún mismo en las zonas garrapateadas en que habría razones para esperar que los animales debían estar protegidos suficientemente contra la muerte por Tristeza, ocurren, frecuentemente, mortandades apreciables, especialmente en otoño.

En estos días han llegado varias informaciones a la Dirección de Ganadería, denunciando crecido número de muertes por Tristeza en establecimientos de infestación garrapatosa permanente. El Laboratorio de Investigaciones, a mi cargo, ha podido comprobar, a veces con gran sorpresa del hacendado, que en mortandades ocurridas en sus establecimientos estaba en causa la Tristeza.

Es que en los animales garrapateados no siempre existe un nivel permanentemente alto en la resistencia contra los parásitos responsables de la tristeza, sino que esa resistencia sufre grandes oscilaciones; animales antes resistentes se vuelven gradualmente más vulnerables. Además, y esto es muy importante, la virulencia de las inoculaciones garrapatosas, experimentan las mismas variaciones e inducen a error. Está perfectamente demostrado que, frecuentemente, garrapatas retiradas de los animales en Primavera, sus larvas no muestran virulencia apreciable, pero, que con el progreso de la estación, en el curso del verano las generaciones sucesivas van recobrando la virulencia cada vez en grado mayor, hasta llegar, en el Otoño, a un virulencia de alto grado.

En el curso de estos aumentos progresivos de virulencia, va provocando la enfermedad y la muerte cada vez en mayor número que llegan al máximo en el Otoño, sobre todo cuando esta estación es templada y con lluvias moderadas y frecuentes, manteniendo en las pasturas de los campos un ambiente templado y húmedo.

Además, estas modificaciones de virulencia no son uniformes en todas las zonas del país, tampoco en los distintos lugares de una misma zona y aún mismo en los distintos potreros de un mismo establecimiento, lo que determina que el cambio de animales pueda provocar la enfermedad y la muerte. Es, por lo tanto, aconsejable no hacer movimientos, en el sentido de cambio de lugar, de animales de unas zonas a otras en esas épocas.

Deberá ser, por lo tanto, descartada la presunción de una seguridad absoluta de que la circunstancia de ser garrapateado un establecimiento constituya, una garantia contra la muerte por Tristeza, pudiendo ocurrir, a veces, por las causas apuntadas, lo contrario.

4.º Los animales garrapateados, aún totalmente privados de la garrapata, pueden producir mortandades apreciables en los rodeos vírgenes.

A este respecto, debo señalar los hechos comprobados por el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, algunos de los cuales han sido publicados en el Boletín de la Institución.

1er. Caso. Un distinguido hacendado del Departamento de Cerro Largo, consulta al Laboratorio, sobre la muerte de animales vacunos ocurridas en varios potreros de su establecimiento. Las muertes habrían comenzado aproximadamente a los 40 a 45 días de haber practicado el descorne.

Los síntomas que refiere hacen sospechar en una forma de tristeza. A mi pedido me informa sobre la distribución de los animales en los distintos potreros, del punto de vista de los orígenes. Puede verificar que solamente se habían producido casos de enfermedad y muerte en los potreros en que había mezclados animales garrapateados y no garrapateados. Las investigaciones practicadas demostraron que los animales murieron a consecuencia de una forma de Tristeza, la Anaplasmosis.

2.º Caso. En un establecimiento del Departamento de Soriano fueron requeridos los servicios del Laboratorio para estudiar una enfermedad no bien identificada.

Al primer examen, en el campo, los animales enfermos se presentan tristes y las mucosas anemiadas, muy pálidas. La autopsia de uno de ellos revela lesiones típicas de Tristeza y el examen microscópico de la sangre la presencia de Anaplasmas. El establecimiento y el ganado de la referencia estaban libres de garrapata. El encargado manifestó que había animales de origen garrapateado, que habían sido introducidos en el campo unos seis meses antes.

3er. Caso. De una cabaña muy prestigiosa se me llama en consulta, por haberse producido la muerte de varios animales, aproximadamente de un año de edad.

Algunos de los animales procedían de un lote que había sido inyectado con sangre virulenta, con fines de premunición contra la Tristeza. Otros, —de un lote que no había sido inyectado, no obstante los síntomas, lesiones, exámenes microscópicos e inoculaciones experimentales—, demostraron que habían muerto a consecuencia de Tristeza, la Anaplasmosis. Los animales del segundo lote habían convivido con los del primero, en un mismo galpón, en días de fuertes calores y se comprobó la presencia numerosa de la llamada "Mosca brava". Es muy probable, pues, que haya habido un contagio de los animales inyectados con sangre virulenta a los no inyectados, por intermedio de la mosca.

Debo agregar, que las referencias hechas son nuevas en cuanto a su comprobación en el país, pero que casos de contagio en similares condiciones han sido comprobados en Estados Unidos de América del Norte y, en nuestro continente, tengo entendido, en Chile, y que basta, a veces, para trasmitir el contagio el uso de la picana.

Debo llamar la atención que todos los casos de los referidos contagios son de *Anaplasmosis*, probablemente porque es el tipo del parásito que conserva su virulencia más constante y que se trasmite con mínimas cantidades de sangre.

5.º La garrapata produce una merma extraordinaria de la riqueza privada y pública.

En Estados Unidos de América del Norte, fueron calculadas las siguientes pérdidas: sobre 15.000.000 de animales avaluados en dólares 270.000.000, se habían producido pérdidas anuales por dólares 34.000.000.

En los diversos Estados se habían calculado pérdidas, también anuales de un 9 a un 15 %. En el Uruguay han sido calculadas, por lo menos en algunos años, en 200.000 animales.

6.º La garrapata constituye una de las mayores barreras que se oponen al progreso de la mestización de la ganadería del país, al libre juego de los negocios y hace inestable el capital ganadero.

¿ES POSIBLE ERRADICAR LA GARRAPATA O, MEJOR, HAY SEGURIDADES PARA ESPERAR ESE RESULTADO EN CONDICIONES BENEFICIOSAS PARA EL PAIS?

La erradicación de la garrapata tiene como base los siguientes fundamentos:

A) Su ciclo de vida. La garrapata vive en el campo en forma larval, muy pequeña y tiene dos destinos naturales: O se prende al ganado o muere por hambre, por inanición, en un período de 6 meses a un máximo de un año.

Un campo infectado de garrapata, privado de animales vacunos, lanares y caballares, por un período medio de un año, es seguro que quedará libre del parásito. Pero, esto sería un procedimiento muy oneroso, porque supone el desaprovechamiento parcial del campo durante muchos meses.

El otro destino natural de la garrapata, es que se prenda al ganado, cumpla su desarrollo y vuelva a caer al campo en forma de hembra madura pronta para desovar y volver a dar larvas que reinfestarán al campo. Este período sobre el animal se cumple en un término de unos veintiún días, pudiendo ser de 19 días en veranos muy cálidos y ascender a 22-23 o más en otoño e invierno.

De estos hechos resulta, que si nosotros vamos matando las garrapatas que se van prendiendo a los animales, el campo no será reinfestado y al cabo de unos 8 meses, las larvas que están en el campo, que no se hubieran prendido habrían muerto por inanición y, como consecuencia, el campo y el ganado del mismo quedarán absolutamente libres de infestación garrapatosa.

Felizmente nosotros disponemos de medios eficaces para atacar las garrapatas sobre el ganado. Disponemos de los baños garrapaticidas, que dan, bien preparados y bien aplicados, una garantía casi absoluta, y también, felizmente, en la lucha contra la garrapata, contrariamente a la lucha contra la sarna, los baños son siempre más

seguramente eficaces y su contralor más sencillo, porque todos ellos tienen como base únicamente el arsénico en determinadas concentraciones bien precisas y fácilmente controlables.

Está perfectamente probado que la aplicación periódica de baños garrapaticidas al ganado, mata toda la garrapata y que ello es posible relizar sin perjuicio para la salud de los animales. Estando al frente de la Estación Experimental del Durazno, en 1922 y 1923, realizamos la siguiente experiencia:

"Un lote de terneros (dientes de leche) infectados de garrapata, fueron bañados, desde el 17 de Agosto de 1922 al 13 de Abril de 1923, cada 14 días. recibiendo así, 16 baños. Entre cada baño los animales eran infestados casi diariamente de garrapata. En tales condiciones nunca se observó en el suelo ni sobre los animales garrapata alguna, al estado adulto, en condiciones de desovar y tampoco alteración en la salud de los animales, no obstante que el período de baños de 8 meses comprendió la totalidad del verano.

Estamos, pues, en condiciones de poder afirmar, por experiencia propia y por la de los demás, que las balneaciones practicadas correctamente, durante 8 meses a un año, limpian el campo y el ganado de garrapata.

Hay, además, otros hechos interesantes que aumentan la seguridad en la eficacia de las balneaciones garrapaticidas. Estando a cargo del Servicio de Contralor de Garrapaticidas, habia tenido la oportunidad de observar, varias veces, que los terneros infestados con garrapata, que habían servido para un ensayo, no se prestaban o se prestaban poco para una nueva experiencia, porque, a pesar de lavárseles muy bien, con abundante agua y jabón para quitar el específico depositado sobre la piel, nunca llegamos a conseguir que se llenaran nuevamente de abundantes garrapatas, nos veíamos obligados, pues, a renovar los terneros para cada experiencia.

El doctor Heguito, que estuvo después a cargo de esos ensayos, comprobó los mismos hechos. Con el fin de estudiar debidamente este punto, hicimos también en la Estación Experimental de Durazno, la siguiente experiencia:

"Hemos podido comprobar, sistematizando las exeperiencias, que a medida que los animales se van bañando se crea una seria dificultad para el desarrollo de la garrapata. En efecto, hemos comprobado que las larvas colocadas después de dos meses de un primer baño se han desarrollado en un 43 % menos que sobre otro animal no bañado, con disminución también del desove de las mismas; después de un segudo baño, una disminución de un 74 %.

Las larvas fueron colocadas en un caso después de dos meses de bañado el animal y en el otro después de 8 días y previo baño abundante con agua para extraer el específico sobrepuesto".

Esta experiencia demuestra, pues, claramente, que la aplicación frecuente de baños crea una resistencia muy apreciable a las nuevas invasiones de las garrapatas, lo que es importante, porque puede cubrir algunas contingencias de las balneaciones en el campo.

Ahora deseo llamar la atención sobre algunos puntos relacionados con las balneaciones garrapaticidas. De un modo casi general, los garrapaticidas hechos para la venta, tienen una concentración en arsénico, que dan para los baños, preparados, una concentración de un dos por mil de arsénico (anhidrido arsenioso). Esta concentración es la óptima para los baños sanitarios, para los baños de los límites de Zona, para introducir ganado a un campo limpio o extraer de un campo infestado para otro limpio. Bastan dos baños con intervalos de 5 a 7 días para tener la seguridad que después del segundo baño no caerán más garrapatas fértiles, es decir, en condiciones de desovar e infestar el campo. Pero, hemos podido demostrar que para los baños periódicos, para los baños indicados para el saneamiento de una estancia, bastan concentraciones de 1,5 a 1,7 de arsénico en el baño preparado, lo que representa una economía y, además, un relativo alivio para la piel de los animales.

Otro punto importante que deberá considerarse: el tiempo de sumersión en el baño para obtener la eficacia deseada. A este respecto podemos manifestar, según nuestra experiencia, que un baño de 14 a 15 metros de largo, comprendido el plano inclinado de caída y la escalera de salida, es suficiente. Este baño, según las normas habituales de su construcción, representa unos 8 metros de nado y, en tiempo, unos 8 segundos. Además, durante el nado deberán dárseles dos o tres zambullidas a las cabezas.

Una pregunta que ha sido formulada frecuentemente, es la siguiente:

¿Cómo queda la eficacia de una balneación garrapaticida, cuando ha llovido sobre los animales a las pocas horas o días? Nuestras experiencias nos permiten contestar, que para lluvias de 15 a 30 m.m., toda lluvia caída antes de las 48 horas subsiguientes al baño, afecta la eficacia del mismo en forma tanto más intensa cuanto más próxima sea al momento del baño. Este hecho deberá ser tenido en cuenta especialmente para los baños sanitarios, de los cuales debemos esperar las máximas seguridades.

En cuanto a las especies animales que debemos bañar, entra en consideración, en primer término los vacunos; es la especie de elección para la garrapata de nuestros campos. Sin embargo, es sabido que la misma garrapata prende a los lanares y a los equinos, pero en mucho menor grado. Nuestras experiencias demuestran, no obstante, que la garrapata del vacuno se desarrolla mal en los equinos; toman, muchas de ellas, un aspecto claro, anémico y, frecuentemen-

te, no llegan al tamaño normal; sin embargo, a veces, se encuentran cubiertos de garrapatas.

En cambio, en los lanares se desarrolla muy bien, especialmente bordeando las regiones de lana. Pero, la observación general demuestra, que en estas dos últimas especies, sólo se encuentra garrapata en cantidad apreciable, en los campos y épocas de abundante cantidad de garrapatas.

Otra pregunta que se formula es, si las liebres pueden ser portadoras de las garrapatas de un campo a otro. No hay duda que cualquier animal u objeto puede transportar mecánicamente algunas larvas, pero, hemos comprobado que ni en los perros, ni en las liebres se desarrolla la garrapata del vacuno.

Debo advertir, que en esta exposición me he referido, exclusivamente, a la garrapata común del ganado, a la especie designada científicamente Boophilus microplus; pero, existen otras especies que pueden parasitar transitoriamente al ganado. Existe en el Este del país, felizmente una Zona muy limitada, una especie comprobada en estos últimos años, llamada Ixode ricinus, que es capaz de inocular la Tristeza a los bovinos. Si esta especie se extendiera, complicaría enormemente el problema, porque tiene un ciclo de vida más complejo.

La Dirección de Ganadería ha tomado con empeño la extinción de esos focos.

ARGUMENTOS QUE SE OPONEN A LA ERRADICACION DE LA GARRAPATA

He pensado conveniente dar cabida en esta disertación a los argumentos que frecuentemente se oponen al desarrollo de una lucha formal contra la garrapata.

Deseo advertir, nuevamente, que la discusión del problema es impersonal y que al combatir los argumentos está completamente lejos de mí el inferir agravio alguno. En un problema que tanto interesa al país todos tenemos el derecho y el deber de un aporte personal y tomar en consideración la opinión de los demás.

Una primera cuestión es la seguridad o inseguridad en el éxito; esto, creo, debería ser descontado después de la discusión que hemos hecho. Por otra parte, la seguridad del éxito está abonada por los brillantes resultados obtenidos en los Estados Unidos de América del Norte y por los mismos hacendados acá presentes, que han podido eliminar y mantener libres de garrapata a sus campos.

Trataré ahora otros argumentos:

1.º La lógica consecuencia de la aplicación de una ley o reglamentación que implican algunas trabas al libre movimiento de las haciendas y a los negocios.

2.º La posibilidad de la reinfestación de un campo o Zona saneada y sus posibles graves consecuencias.

3.º Las utilidades que derivan de la infestación garrapatosa para la venta de reproductores y ganado al Brasil.

En cuanto a lo primero, podemos manifestar que si bien es cierto que la implantación de una Ley o reglamentación implicará algunas limitaciones en el libre juego de los negocios, esas limitaciones serán solamente para algunas zonas del país y siempre graduadas, según las necesidades de los propósitos que se persiguen. *En cambio, la existencia de la infestación garrapatosa, implica trabas permanentes en todo el país, del Norte al Sur, del Sur al Norte, del Este al Oeste, en la libre concurrencia a exposiciones y ferias, en la mestización de los ganados, etc., no obstante, los hacendados pagan un pesado tributo con la pérdida de animales.*

La segunda cuestión, es decir, los perjuicios que pudieran derivar de una reinfestación, tiene su importancia particular, pero no ofrece la gravedad que hace suponer el examen superficial del asunto. En efecto, A) la erradicación de la garrapata está planteada en forma gradual, partiendo de las zonas menos infestadas, en que las posibilidades de reinfestación son mucho menos probables; B) la Ley prevee las garantías necesarias para mantener libre de garrapata la zona saneada; C) la pérdida de la inmunidad del ganado garrapateado, una vez saneado, es gradual, paulatina; D) la Ley prevee la premunición artificial, poniendo al alcance de los hacendados los elementos necesarios para realizar esa premunición, pudiendo ser iniciada a partir de los terneros mamones, lo que no presenta ninguna dificultad técnica.

La tercera cuestión, relacionada con la existencia de un cierto volumen de negocios que tienen como base la propia existencia de la infestación garrapatosa, se ha prestado frecuentemente como argumento de gran efecto para oponerse a un plan de erradicación de la garrapata. Me refiero a que algunos hacendados tienen mercados para alguna parte de sus reproductores en la existencia de zonas garrapatosas dentro y fuera del país. Además, la venta al extranjero de ganado garrapateado, para inverne o faena.

Esta cuestión deberá ser considerada desde varios puntos de vista. A) No está demostrado que el mercado para reproductores y ganado garrapateado deba ser permanente. Por lo pronto ya está descartada la República Argentina, cuyo mercado fué en un tiempo fuerte argumento para algunos hacendados del litoral de nuestro país. La contestación ha sido: *puertas cerradas* y la implantación

reciente de la Ley de extinción de la garrapata. En cuanto al Brasil, sabemos la situación actual, pero, no podemos asegurar que continúe para siempre; más bien debemos considerar la posibilidad que un cambio político o económico puedan determinar modificaciones apreciables; por lo menos en el sentido de limitar el volumen del comercio del ganado. B) La venta de reproductores garrapateados para esos mercados puede ser resuelta satisfactoriamente por la premunición artificial y el proyecto de Ley de nuestra Dirección de Ganadería contempla esos intereses previendo la creación de puestos de premunición. Cada vez más, la venta de reproductores garrapateados, está sufriendo la competencia de reproductores premunidos artificialmente, reproductores que son bien aceptados por los hacendados de Río Grande del Sur, (Brasil), cuando esa premunición tiene una garantía de origen.

Además, en el Brasil se están implantando puestos de premunición para adquirir con mayor independencia los reproductores que más les interesa. Debo hacer presente, que el Laboratorio de Investigaciones a mi cargo, por indicación del Director de Ganadería, doctor A. Baldomir, ha iniciado trabajos sobre la premunición artificial de reproductores, a fin de colocarse en condiciones de atender de inmediato las necesidades de los hacendados, si la ley de erradicación fuera sancionada. Actualmente está resuelta de un modo general la premunición de los terneros mamores, que los hacendados practican ellos mismos. Pero, la premunición de los animales de más edad, ha ofrecido siempre mayores dificultades. Nuestros ensayos nos permiten anunciar que es posible premunir animales, de dos y más años, con muy poco riesgo, y en condiciones que resisten perfectamente en los campos reputados de garrapata virulenta.

C) Aún prescindiendo de A) y de B), debe entrar en consideración, que el mantenimiento de un tal estado de cosas será a costa de todo el país. El país deberá mantener su infestación garrapatosa, con todas sus consecuencias e inconvenientes para dejar subsistir una corriente de comercio reducida, de porvenir no seguro y que puede ser solucionado por procedimientos que la ley pone al alcance del hacendado.

En resumen, señores Congresales, estimo: que la erradicación de la garrapata es una cuestión de alto interés nacional; los intereses particulares son muy respetables, porque ellos también, integran la riqueza nacional; pero, deberán ceder, ante los grandes intereses de la Nación, que exigen una mayor producción, un mayor beneficio en provecho y en bien de todos. Por tales razones, sin perjuicio de que puedan ser revistos y modificados algunos puntos del proyecto de ley de la Dirección de Ganadería, en cuanto no afecten

la eficiencia de la misma, debemos prestarle todo el apoyo, todo el calor para que podamos transformar a nuestro país en una sola Zona Sanitaria, porque nuestro país, chico en extensión territorial, deberá crecer irremediablemente en altura y tenemos la felicidad de tener al frente de nuestra Dirección de Ganadería, al doctor Adolfo Baldomir, distinguido técnico, lleno de entusiasmo y energía, que está dispuesto a echar sobre sus hombros la enorme carga, la enorme responsabilidad de una obra de tanto aliento, como lo es la erradicación de la garrapata, que solo se puede concebir como la expresión de un gran anhelo patriótico.

GARRAPATA - TRISTEZA - PREMUNICION

Conferencia dictada en la Facultad de Veterinaria el día 3 de Setiembre de 1941, bajo los auspicios de la Asociación de Estudiantes de Medicina Veterinaria del Uruguay. — (Folleto publicado en 1941).

En primer término debo agradecer el honor que se me ha dispensado al invitarme a ocupar esta tribuna de nuestra casa de estudios, para contribuir al ciclo de conferencias organizado por la Asociación de Estudiantes de Medicina Veterinaria.

Creo que otras personas, antes que yo, debían haber ocupado esta tribuna, con mayores méritos, con mayor prestigio. Sin embargo no decliné el honor que se me dispensaba al invitarme a ocuparla, por entender que con ello facilitaba la realización de un programa que se había trazado la Asociación de Estudiantes, programa que señala nuevos rumbos y muy auspiciosos por cierto para sus actividades.

Voy a tratar un tema bastante conocido: la Tristeza y los problemas relacionados con la misma sobre todo en nuestro país.

El motivo de la elección de este tema responde a que actualmente el problema de la garrapata es uno de los más importantes para la sanidad pecuaria, en nuestro país, por los daños que causa la garrapata y las consecuencias, aún mayor, que derivan de la inoculación de las diversas formas de Tristeza.

La circunstancia de estar próximo a entrar en vigencia una ley especial da mayor importancia a estos hechos. Esa ley prevee, por una parte, la extirpación de la garrapata y por otra la premunición de los ganados en proceso de saneamiento. Esta es una innovación extraordinariamente importante. Creo que es el único país ganadero que se ha dado una ley de extirpación de la garrapata en la que además de las providencias para extirpar la garrapata, se crea el recurso de la premunición, para dar seguridad a los ganados que se van saneando paulatinamente, contra los perjuicios por posibles reinfestaciones. La inclusión en la ley, del recurso de la premunición, como garantía de la salud de los animales contra una posible reinfestación, ha obligado a la Dirección de Ganadería a realizar un gran esfuerzo, que ha estado a cargo en gran parte del Laboratorio que me toca dirigir, el Laboratorio de Biología Animal. Eso ha hecho que tengamos un caudal de experiencia relativamente grande relacionada con esta cuestión de la premunición, que tendré

mucho placer en esbozarla a grandes rasgos. Pues la propia naturaleza y amplitud del tema: Garrapata, Tristeza y Premunición, da idea de que no podrá ser tratado a fondo el asunto en una sola disertación. De manera que me ocuparé de lo más fundamental, de lo que interesa más directamente del punto de vista de la premunición.

LAS DISTINTAS FORMAS DE LA TRISTEZA BOVINA

En nuestro país se ha comprobado que en la tristeza bovina intervienen por lo menos tres especies de hematozoarios: Piroplasma bigeminum, Piroplasma argentinum o Babessiella argentina y Anaplasma.

Al principio, hace muchos años, sólo era conocida la forma de piroplasmosis a Piroplasma bigeminum, descubierto en Norte América por Smith y Kilborne. Los trabajos de Sivori, de Lignières, de Quevedo y otros en la República Argentina, y de nosotros en colaboración con mi distinguido colega el doctor A. Tortorella y otros en el Uruguay, demostraron la presencia en el ganado del Río de la Plata de esas tres especies de protozoarios como responsables de las mortandades por la garrapata.

Uno de los investigadores que más trabajó en el estudio de los problemas relacionados con la Tristeza bovina en estos paises fué el profesor José Lignières, a quien todos nosotros debemos de estar muy reconocidos. En el estudio de los problemas de inmunización o más bien de premunición, encontró Lignières que por lo menos habían dos formas de piroplasmosis: Una Piroplasmosis típica, que respondía a la descripta por Smith y Kilborne, la producida por el Piroplasma bigeminum, y otra, atípica, que llenaba forma "C". Los estudios del mismo Profesor Lignières demostraron que esa forma atípica se debía a una nueva especie parasitaria que denominó Piroplasma argentinum. Los trabajos de Lignières relacionados con la comprobación de esta nueva especie de piroplasma en el Río de la Plata, levantaron mucha resistencia. Fueron muy discutidos; pero luego fueron comprobándose y aceptándose los hechos señalados por Lignières. El doctor Quevedo llegó también a la comprobación de una forma atípica de tristeza, estudió el parásito y por su pequeñez lo denominó Piroplasma minor. Sin embargo el mismo hizo la conjetura de que el Piroplasma minor podría ser el Piroplasma que Lignières había descripto bajo la denominación de Piroplasma argentinum.

Posteriormente, después del conocimiento de los trabajos de Theiler, en 1909-1910, en que describió una nueva forma de hematozoario que denominó anaplasma. Se comprobó igualmente, en el Río de la Plata, por Lignières, el Anaplasma marginale, al que llamó

Anaplasma argentinum. Resultaron así conocidas las tres formas de parásitos que actualmente consideramos responsables de la Tristeza en los bovinos del Río de la Plata: Piroplasma bigeminum, Piroplasma argentinum y Anaplasma. No se ho encontrado en el Río de la Plata, la forma también descripta por Theiler de Anaplasma centrale.

En cuanto a los Piroplasmas bigeminum y Piroplasma argentinum, no hubo discusión sobre la naturaleza parasitaria de los mismos; se relacionó perfectamente la enfermedad con las formas descriptas como Hematozoarios encontradas en los estudios Hematológicos. No sucedió la mismo con la Anaplasmosis. La aceptación de las Anaplasmosis como entidad mórbida fué muy resistida, debido a que el Anaplasma, como su nombre lo indica, aparece como una granulación cromatínica, sin protoplasma, y los hallazgos hechos por muchos investigadores, de formas análogas en sangre de animales jóvenes, en anemias producidas naturalmente o provocadas por substancias como el nitrobenzol, la fenilhidracina, etc., pusieron muy en duda que las granulaciones descriptas por Theiler, descriptas también en el Río de la Plata y en otros países, como Anaplasmas, como formas de protozoarios, fueron de naturaleza parasitaria.

Este punto no está completamente aclarado; lo que está aclarado es que en una enfermedad bien distinta de las otras enfermedades a hematozoarios, que se denomina Anaplasmosis, aparecen correlativamente en los glóbulos rojos de la sangre, granulaciones cromatínicas que siguen las mismas oscilaciones del proceso de la enfermedad; de tal manera que nosotros podemos considerar, desde cierto punto de vista, como que esas granulaciones correspondieran a una forma parasitaria, sin que la naturaleza parasitaria haya sido demostrada de un modo indudable.

En cuanto a la clasificación de estas formas, que yo he mencionado con los nombres con que los autores las han descripto, han habido algunas variaciones. Los Piroplasmas son hematozoarios que no han sido estudiados de un modo tan profundo como los hematozoarios del hombre. Además, no constituyen un grupo uniforme, como los hematozoarios estudiados en la especie humana.

Para la enseñanza y para las cuestiones relacionadas con nuestro trabajo, hemos adoptado la clasificación que exponemos a continuación, con elementos tomados de Wenyon, Ed. Sergent y Yakimoff.

Los Piroplasmas están ubicados dentro de la Clase de los *Sporozoas* y partiremos de esta Clase, para llegar al punto que nos interesa. Los Sporozoas, son protozoarios que cumplen un ciclo de su vida en las células epiteliales o sanguíneas del huésped, que frecuentemente tienen una reproducción alternada, es decir un ciclo

asexual y otro sexual, y muchas especies de los mismos pueden adoptar formas de resistencia: ovoquistes, cuya similitud biológica con las esporas, ha originado su denominación. Además son responsables de muchas enfermedades del hombre y de los animales.

Los *Sporozoas* se dividen en dos *sub clases: Coccidiomorpha* y *Gregarinina*. Las Coccidiomorphas se dividen en dos órdenes: *Coccididaey Adeleida*. Las Coccididas que nos interesan se dividen en tres *sub órdenes:* Eiméridea, Hermosporiidea y Piroplasmidea. Continuaremos ahora con el sub orden Piroplasmidea.

Este sub orden lo divide Wenyon, al igual que Du Toit, en dos familias: Babesiidae y Theileridae y separan los anaplasmas completamente de los piroplasmideos, ubicándolos en el grupo de parásitos de clasificación aún no definida, al igual que a otros muchos parásitos.

Ed. Sergent y sus colaboradores y Yakimoff, dividen en cambio el sub orden Piroplasmidea en *tres familias: Piroplasmidae Theileridae* y *Anaplasmidae;* clasificación que adoptamos nosotros.

Los *Piroplasmidae* que forman la familia dentro de la cual están la mayoría de los parásitos responsables de la Tristeza, en nuestro país, están caracterizados por formas generalmente piriformes, reproducción simple por división en dos o en cuatro elementos. Los *Theileridae* en cambio, no adoptan la forma piriforme y tienen una reproducción que se asemeja mucho a la de los esporozoarios tipos, es decir, alternada, con un ciclo sexual o gametogónico y otro asexual o esquizogónico, diferenciándose así profundamente de los otros Piroplasmideos.

Los *Anaplasmidae* se diferencian también completamente de los otros Piroplasmideos porque no tienen protoplasmas; solamente están representados por una masa cromatínica. La familia *Piroplasmidae* se divide en varios *géneros.* Entre ellos: *Piroplasma, Nuttalia, Gonderia, etc.* De todos estos géneros el único que tiene representantes en el Uruguay es el Piroplasma.

Dentro del género *Piroplasma,* Yakimoff formó dos sub géneros Piroplasma sensu strictu y Babesiella (Mesnil 1919). El Piroplasma sensu strictu comprende los Piroplasmas que poseen estrictamente los caracteres descriptos para el Piroplasmas bigéminum y especies similares, y el género Babesiella que comprende las formas atípicas del Piroplasmas encontradas en varios países y entre ellos en los del Río de la Plata, Argentina, Brasil y Uruguay.

Muchas especies de Piroplasmas atípicos han sido incluídas en el género Babesiella, entre ellas el Piroplasma bovis o Babesiella bovis, Babesiella caucásica, Piroplasma argentinum o Babesiella argentina, descripta por Lignières y luego por Quevedo como Piroplasma o Babesiella minor.

Yakimoff, 1926, estableció para el sub género Babesiella dos

grupos: el grupo Babesiella sensu strictu que comprende los parásitos cuyos caracteres responden estrictamente a las formas primeramente estudiadas como Babesiella y el grupo Francaiella que comprende parásitos con algunos caracteres diferenciales.

Para el estudio y clasificación de estos hematozoarios se han tomado en cuenta distintos elementos de juicios, entre ellos la morfología, los hallazgos hematológicos, la enfermedad producida por esos parásitos, manifestaciones clínicas y lesiones anatomo patológicas, luego la inmunidad recíproca o cruzada y también el comportamiento a los medicamentos químicos, especialmente al azul de tripano.

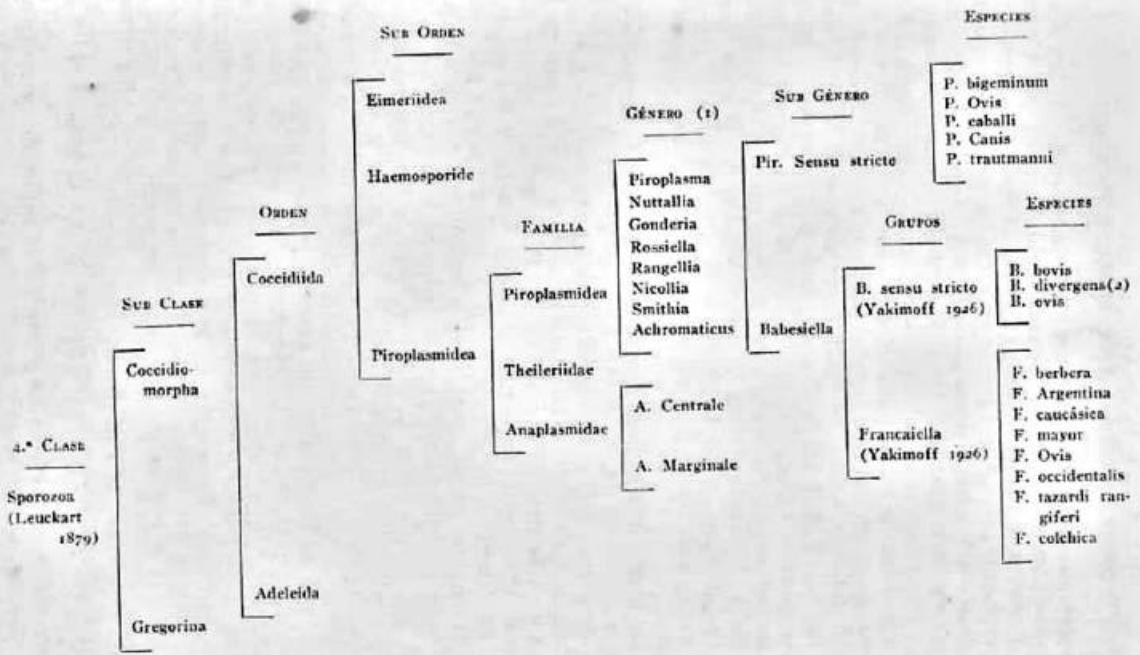
Los Piroplasmas sensu strictu, se refieren a parásitos que adoptan frecuentemente la forma piriforme, de tamaño grande. Cada elemento de la forma bigeminada es más largo que el radio del glóbulo rojo y a veces llega a ser casi igual al diámetro del mismo, siendo las dimensiones de dos micras y media a cinco micras, por una micra y media a tres, presentan dos masas cromatínicas. Las formas bigeminadas forman un ángulo inferior a 90° y ocupan una posición central en el interior del glóbulo. El Azul de Tripan es muy activo lo que constituye un carácter importante.

Las Babesiellas se describen como parásitos muy pequeños, que adoptan también la forma piriforme pero menos frecuentemente y algo lanceoladas. La longitud es igual o menor que el radio del glóbulo rojo, nunca mayor. Las formas piriformes y bigeminadas se encuentran en una proporción que apenas llegan a un quince o un veinte por ciento de las otras formas; en cambio, en los piroplasmas sensu strictu, las formas bigeminadas se encuentran en las proporciones de un cincuenta, sesenta, hasta un setenta por cien o más, relacionadas con las formas redondas y amiboides de los mismos parásitos. Las formas bigeminadas forman un ángulo abierto mayor de 90° a veces de 180° y poseen una sola masa cromatínica y son muy escasas en la circulación periférica.

Para la sub división del sub género Babesiella en dos grupos Yakimoff estableció las siguientes diferencias: Babesiella sensu strictu, tiene los caracteres del sub género y además una ubicación periférica en el glóbulo a veces como implantada sobre la perisferia en forma de casquete, además sensible por lo menos algunas especies al Azul de Tripano. Francaiella, ubicación central en el glóbulo, insensibles al Azul de Tripano. Según esta clasificación, el Piroplasma descripto por Lignières como Piroplasma argentinum sería una Francaiella, la Francaiella argentina.

En resumen, tendríamos como hematozoarios responsables de las diversas formas de Tristeza en el Río de la Plata las siguientes especies: Piroplasma bigéminum, Francaiella argentina y Anaplasma marginale.

PODRIAMOS REUNIR EN LA SIGUIENTE FORMA LA CLASIFICACION A QUE HACEMOS REFERENCIA



(1) Donatien y Letosquard —XIII Congreso Internacional de Medicina Veterinaria, 1938— dividen la familia Piroplasmidae, solamente en dos géneros: Piroplasma y Nuttallia.

(2) Probablemente misma especie que B bovis

FORMAS DE TRASMISION DE LA TRISTEZA

Las tres especies de parásitos que, como hemos dicho, son las responsables de las distintas formas de la Tristeza del Uruguay, —por lo menos es lo que se conoce hasta la fecha—, se trasmiten en la naturaleza, en el campo, especialmente por la garrapata. A este respecto nunca hubo dudas de que la garrapata, Boophilus microplus, fuera la responsable de la trasmisión de las Piroplasmosis, tanto del Piroplasma bigéminum, como del P. argentinum o Francaiella argentina. Nunca hubo dudas; siempre fué comprobado fácilmente; pero en cambio hubo muchas dudas con respecto a la trasmisión del Anaplasma. Al Anaplasma se le atribuyeron diversas formas de trasmisión. Actualmente está perfectamente aclarado que el Anaplasma marginale, en nuestro país, es trasmitido por el Boophilus microplus. La duda para aceptar que el Boophilus microplus fuera el responsable de la trasmisión del Anaplasma, residía en que fué siempre difícil trasmitir la Anaplasmosis aún por medio de garrapatas recogidas en zonas conceptuadas como muy virulentas.

Es un hecho interesante, que es muy raro, por lo menos nos ha sucedido así a nosotros, y así lo hemos encontrado relatado por otros autores argentinos, encontrar en el campo mortandades por Anaplasmosis, atribuible a infestación natural por garrapata. Lo más común es la tristeza producida por Piroplasma bigéminum, y luego por la Francaiella argentina, y por la mezcla de los dos Piroplasmas. En cuanto a la Anaplasmosis provocada por la garrapata, es una observación mucho más rara, y este hecho fué corroborado también experimentalmente, pues si era fácil reproducir en el Laboratorio, en experiencias, la Piroplasmosis a Piroplasma bigéminum, o a Francaiella argentina, por la implantación de larvas de garrapatas, fué muy difícil producir la Anaplasmosis. Los estudios de Rosenbusch y González han aclarado mucho esta cuestión en el sentido de que la transmisión de estos parásitos por la garrapata, Boophilus microplus, están supeditadas a una serie de factores y principalmente a la influencia de la temperatura ambiente. Para que la garrapata trasmita regularmente (siempre, se entiende, partiendo de garrapata infestada) la Piroplasmosis, bastan temperaturas próximas a 30°. Pero la Anaplasmosis no sería transmitida por la garrapata sino con temperaturas ambientes mucho más elevadas, de 34° a 40°.

VARIACIONES DE LA VIRULENCIA DE LA GARRAPATA

Ahora, en lo que se relaciona con la trasmisión de estos hematozoarios por la garrapata, hay todavía algunos puntos interesantes a señalar.

Todos conocemos que la garrapata no se muestra uniformemente infecciosa en todos los lugares del país, que hay diferencias de unos lugares a otros, y que igualmente no se muestra infecciosa de un modo uniforme en distintas épocas del año. Por ejemplo, nosotros sabemos que las mortandades por Tristeza, en invierno, son completamente raras —a veces como colapsos de las infecciones de otoño— pero son completamente raras. En primavera, las mortandades por Tristeza, aún con una abundante cantidad de garrapata, no se observan; son excepcionales; pero a medida que avanza la estación calurosa se van señalando los casos de Tristeza provocados por la garrapata, que en nuestro país, y en la Argentina, llegan sobre todo a ser extraordinariamente frecuentes, si no extraordinariamente graves en otoño, más aun cuando ha existido un otoño relativamente húmedo y caluroso. El calor y la humedad favorece la multiplicación de la garrapata, al mismo tiempo que la temperatura ambiente elevada favorece el desarrollo de las formas graves de Tristeza bovina, y mucho más para las Anaplasmosis.

¿Cómo debemos interpretar nosotros el hecho de que la garrapata en los meses de invierno y en los de primavera a veces aún en los primeros meses de verano no provoque estados graves de enfermedad y en cambio, en el mismo campo la misma garrapata, sin introducción de ningún elemento extraño, produzca formas graves de la enfermedad? La explicación está en que el grado de virulencia de la garrapata no es constante, y está ligado a una serie de factores.

Cuando la garrapata desciente de un animal en el cual ha provocado un acceso agudo de Piroplasmosis, desciende con sangre muy virulenta y si las condiciones del tiempo les son favorables, las larvas saldrán muy virulentas; pero la permanencia de las larvas en el campo hace que la virulencia se vaya atenuando, y si las larvas suben al animal en condiciones poco propicias para el desarrollo de un acceso agudo de Tristeza, las nuevas generaciones de garrapatas, disminuyen su virulencia, y ésta tiende a extinguirse.

En cambio, cuando vienen los momentos favorables, tales como los meses de verano, cuando empiezan a desarrollarse en los animales por las condiciones propicias de temperatura las formas graves de Tristeza, las generaciones sucesivas de garrapatas van aumentando gradualmente su virulencia. Nosotros no podemos saber por el momento si este aumento o disminución gradual de la virulencia se debe realmente a una calidad de hematozoarios, a una clase de hematozoarios con cualidades individuales de virulencia especiales, o a un diferente número de parásitos.

Las dos interpretaciones caben: la de que la garrapata vaya perdiendo gradualmente unidades infectantes o que las unidades infectantes de la garrapata vayan siendo menos virulentas; y vice-

versa aumento de unidades o aumento específico de la virulencia de cada unidad. Lo cierto es que todos estos hechos se presentan frecuentemente y son sumamente importantes. Por consiguiente, la observación de que una infestación garrapatosa en los meses de primavera no ha trasmitido la Tristeza, no puede dar base para establecer la conclusión, de que la garrapata no es virulenta. Se cometería un grave error, porque la misma garrapata puede, en el mismo campo, y a expensas de los mismos animales, aumentar su virulencia y producir graves mortandades en las épocas propicias del verano y otoño.

Está establecido que la evolución periódica de la garrapata en épocas de invierno, atenúa en tal grado su virulencia, que al cabo de tres generaciones invernales, —siempre que no haya hecho generaciones estivales—, pierde casi completamente su virulencia. La presencia de garrapata no virulenta en determinados puntos del país, hecho que sucede tanto en la Argentina como en el Uruguay, tiene probablemente como explicación esas circunstancias, es decir, el desarrollo o evolución muy lentos de la garrapata; muy pocas ascensiones a los animales, no provocación de estados agudos de infección y luego, pérdida gradual de la virulencia.

Además, es una observación interesante, que la garrapata puede conservar en forma latente una infección que no se ha hecho aparente. Por ejemplo, garrapatas que en determinados momentos han trasmitido solamente la Piroplasmosis, en generaciones sucesivas, por los mismos animales, han trasmitido (cuando las condiciones ambientes han sido favorables) formas graves de Anaplasmosis. Estos hechos son extraordinariamente interesantes.

Otros factores que influyen también en las variaciones del grado infectante de la garrapata son, por ejemplo, el huésped. Si cambia o no de huésped. El desarrollo continuo o las generaciones sucesivas de la garrapata sobre los mismos animales que ya tienen un grado de resistencia elevada contra las infestaciones de hematozoarios, las lleva a la pérdida gradual de la virulencia, hasta hacerse de virulencia muy baja. A este respecto tenemos observaciones numerosas con las cepas de garrapata mantenidas en el Servicio de Contralor.

Ahora, hay otros hechos muy interesantes a tomar en cuenta. Si durante esas generaciones, sobre animales ya premunidos, con una alta resistencia, se introducen en el mismo rodeo animales vírgenes de infección, sensibles, como pueden ser las nuevas generaciones de animales que vienen dentro del mismo establecimiento, o la introducción de animales adquiridos en otras localidades, entonces el panorama cambia completamente. Esa garrapata da accesos agudos de Tristeza, aumenta su virulencia, y al volver sobre los animales originarios del establecimiento provoca grandes mortan-

dades. Este es un hecho sumamente importante, que explica porqué en zonas garrapatosas, a pesar de que la garrapata produce el acostumbramiento del ganado contra los hematozoarios, se provocan frecuentemente esas grandes mortandades. Casi podríamos decir que en nuestro país, con las actuales precauciones sanitarias, las mayores pérdidas se registran en las propias zonas garrapatosas.

Nosotros hemos tenido muchas consultas, y hemos recibido denuncias de mortandades en establecimientos garrapatosos. Nos han tocado casos de propietarios que no han querido creer que se trataba de Tristeza. Sin embargo, las comprobaciones de Laboratorio establecieron que era Tristeza.

OTRAS FORMAS DE TRASMISION

Esa es la forma habitual de la trasmisión de la Tristeza. Sin embargo hay algunos puntos interesantes respecto a la Anaplasmosis.

La Anaplasmosis, contrariamente a la Piroplasmosis puede contagiarse o trasmitirse con relativa frecuencia, con prescindencia absoluta de la garrapata, del Boophilus microplus.

Es un hecho comprobado por muchos autores extranjeros, y revisando la bibliografía, hemos encontrado muchos casos señalados ya por Lignières y Quevedo en la República Argentina. Nosotros lo hemos comprobado en distintas oportunidades, en nuestro país; habiendo ya publicado un trabajo conjuntamente con el doctor Tortorella.

La Anaplasmosis puede trasmitirse a veces por operaciones simples, practicadas habitualmente en la estancia; el descorne, por ejemplo. Nosotros hemos tenido una comprobación auténtica de que el descorne de los ganados ha provocado ataques de Anaplasmosis en varios rodeos. La observación fué hecha de un modo minucioso y tiene casi el valor de una experiencia. Se trata de un establecimiento con siete potreros, de los cuales dos poblados con ganados de un mismo origen; en un caso, garrapateados, y en el otro no garrapateados, y los otros cinco potreros con mezcla de novillos de origen garrapatoso y de origen no garrapatoso. Al hacer el descorne se desarrolla una enfermedad en los cinco potreros donde había mezcla de animales de distintos orígenes. La enfermedad apareció aproximadamente a los 45 días de haberse practicado el descorne. Los síntomas eran todos de Tristeza. Fué un técnico, hizo autopsias, comprobó las lesiones de Tristeza; se hicieron los exámenes de sangre; se comprobaron los Anaplasmas y se hicieron inoculaciones a bovinos sensibles comprobándose una Anaplasmosis pura.

Hay otro caso. En determinado establecimiento apareció en la novillada una enfermedad rara. Se pensó en una septicemia hemo-

rrágica. En ese momento, nosotros no pudimos establecer las causas; pero ahora pensamos que fué debida a la intervención de la llamada mosca brava, u otro insecto, porque se desarrollaba en los potreros de costa de arroyo.

En otro caso, en una cabaña estaban premuniendo toros, y especialmente terneros. Ochenta o cien fueron colocados en un mismo galpón, con animales no inyectados. El galpón tenia una parte que daba al sol y otra parte que daba a la sombra. Había animales premunidos y vírgenes del lado del sol y animales premunidos y vírgenes del lado que daba a la sombra. Del lado que daba sol, los animales vírgenes que no habían recibido inyección se enfermaron de Tristeza; se comprobó una Anaplasmosis. De manera que este es un hecho muy interesante, no solamente del punto de vista teórico, sino del punto de vista práctico, porque debemos ponernos en guardia ya que el Anaplasma puede ocasionar —cuando practicamos la premunición— la enfermedad, y la muerte, por esa circunstancia, de reproductores valiosos.

Puede referirse además un hecho reciente comprobado en nuestro laboratorio. En un campo como el nuestro, el de Pando, donde no hay ninguna garrapata, en el proceso de premunición de animales aparece un buey enfermo y presenta síntomas de Tristeza. Se hacen los análisis de sangre y se comprueba una Anaplasmosis. ¿Cómo podemos explicarlo?

Todas estas enfermedades, a Piroplasma bigeminum, Francaiella argentina y Anaplasma, además de ser trasmitidas por la garrapata pueden trasmitirse por inoculaciones de sangre, salvo, algunas Piroplasmosis de la familia Theileridae, que no siempre se pueden trasmitir por ese mecanismo, porque en la sangre circulante sólo existen gametas cuya conjugación se efectúa solamente en el huésped trasmisor.

¿Por qué es que no se observan casos de trasmisión de Tristeza a Piroplasmas, fuera de la intervención de la garrapata o inoculación experimental y se observan en cambio trasmisiones de Anaplasmosis? Nosotros interpretamos esos hechos en la siguiente forma: la Anaplasmosis es una infección mucho más permanente, mucho más regular en el animal, como vamos a destacarlo más adelante. De manera que la sangre se muestra —desde el punto de vista de la inoculación a otros animales— de un modo más especialmente infectante. En cambio, las Piroplasmosis hacen un acceso agudo y luego tienden a declinar, disminuyendo el número de unidades infectantes, o la virulencia de esas unidades; de manera que la Anaplasmosis, como se comprueba, por otra parte, experimentalmente, puede ser provocada por cantidades muy pequeñas de sangre. En cambio, las Piroplasmosis exigirían una mayor cantidad. Se entiende

que esto es solamente una conjetura, pero que está de acuerdo con los hechos que hemos señalado.

Como hemos dicho, todos estos hematozoarios pueden trasmitirse por inyecciones de sangre. Bastan algunos centímetros, uno, dos, tres, o más, según los casos, inoculada por vía subcutánea, para provocar la infección. La enfermedad que se desarrolla por la introducción de sangre, en cuanto a su evolución, a su gravedad, depende del origen del virus. Si se trata de un animal en proceso agudo o de un animal en proceso crónico; si el momento de la toma de sangre está muy alejado de un proceso agudo; y de la cantidad de sangre que se inyecta, además de las condiciones del medio ambiente. La enfermedad trasmitida es tanto más grave, cuanto más proximamente al proceso agudo ha sido tomada la sangre; cuanto más elevada ha sido la dosis y cuanto más elevada es la temperatura ambiente.

A medida que se va apartando del momento de la provocación del proceso agudo, la virulencia de la sangre, sin prejuzgar si se debe a una reducción del número de unidades o a una reducción de la virulencia específica del gérmen, va declinando, pero de un modo distinto para las tres especies de hematozoarios que hemos mencionado: para el Piroplasma bigeminum, para la Francaiella argentina y para el Anaplasma. De todos estos parásitos el que declina más rápidamente su virulencia es la Francaiella argentina. A veces desaparece en pocos meses, o es difícil provocar una nueva infección con inoculaciones de sangre de un animal que hace varios meses ha pasado el acceso agudo.

La infección a Piroplasma bigeminum es mucho más constante, más permanente; dura muchos meses, más de un año. A veces, es claro, llega a provocar solamente accesos parasitarios sin hacerse visible la enfermedad, con toda su sintomatología, fiebre, etc. De todas ellas, la más permanente es el Anaplasma. El Anaplasma dura varios años; es un hecho comprobado por todos los investigadores; también nosotros lo hemos comprobado en el Laboratorio de la Dirección de Ganadería, donde pudimos conservar como "dadores" de Anaplasma, animales que hace varios años han tenido el acceso agudo de Anaplasmosis.

DE LA PREMUNICION

Ahora bien: los animales que han sufrido un ataque de una de estas formas de hematozoarios, ya sea provocada por el Boophilus microplus o por una inyección de sangre, adquieren cierta resistencia a una nueva infección. Para denominar a esta resistencia que resulta de ese ataque provocado por la garrapata o por una

inoculación de sangre, se ha adoptado la denominación de "premunición", dada por Ed. Sergent.

La premunición es completamente distinta a la inmunidad. Inmunidad quiere decir resistencia creada en el organismo animal contra determinada infección, con liquidación del agente de infección. Queda en el organismo una resistencia que se revela por una serie de factores humorales o experimentales, en el sentido de que el organismo resiste nuevas infecciones; pero la infección se liquida; los gérmenes desaparecen; la inmunidad es más o menos sólida. En cambio, en las enfermedades a hematozoarios, el problema es completamente distinto. Hay un aumento de resistencia que no es del todo regular; pero no se liquida la infección, y si se liquida la infección se liquida la resistencia. Todo lo contrario de lo que pasa con las enfermedades infecciosas. No es completamente particular de los hematozoarios, porque nosotros tenemos otro ejemplo: la Sífilis, en la que está perfectamente comprobado que la esterilización completa del sujeto sifilítico, lo hace sensible nuevamente a la Sífilis. Y aún tenemos enfermedades microbianas como la Tuberculosis, en que por muchos años —y hasta ahora no está aclarado este problema— la resistencia contra una lesión tuberculosa se hace residir en la pre existencia de una infección tuberculosa benigna. Esto constituye la base del método de la premunición de Calmette y Guérin.

De manera que la diferencia fundamental estaría en que la premunición, que es la resistencia de los animales a la reinoculación de hematozoarios, resulta de una acción "A" x "B", en la que "A" sería el agente que hiere, el hematozoario y "B" el agente que se defiende, el organismo animal.

Si "A" que es el agente que hiere, desaparece o declina, la resistencia cesa o disminuye. Es el caso de todas estas enfermedades a hematozoarios y otras microbianas que se comportan de un modo análogo como la Tuberculosis y Brucelosis. Sin embargo hay que aclarar este punto. Yo insisto algo porque se quiso hacer un argumento en contra de la sanción de la Ley de Erradicación de la Garrapata, o por lo menos contra la premunición que establece la misma, fundándose en algunas publicaciones que aparentemente ponían en duda la existencia de un estado de premunición efectivo.

Se ha hecho muchas veces la observación de que animales garrapateados procedentes de una zona pueden adquirir la Tristeza grave cuando son llevados a otra zona. Lo mismo de animales que han sido sometidos a inyecciones de determinado origen que pueden reaccionar a inyecciones de sangre de otro origen. Estos hechos son perfectamente exactos y encuentran su explicación a la luz de los conocimientos a que hemos hecho referencia anteriormente y que tienen como base las variaciones de la virulencia de la

garrapata según las épocas del año, según los sujetos que parasitan e igualmente las variaciones de la virulencia de la sangre de los animales, según el origen de la infección y el tiempo transcurrido de esa infección.

Un animal que ha recibido una infección de Tristeza de grado leve, por infestación garrapatosa o por inoculación de sangre, puede desarrollar una forma grave de Tristeza cuando se le somete a una infestación garrapatosa virulenta. La misma cepa de garrapata que ha infestado de un modo leve a un animal puede, cuando aumenta su virulencia por pasaje sobre animales sensibles, provocar un acceso grave de Tristeza sobre el mismo animal.

Por otra parte es siempre presumible, que un animal que ha sufrido un primer ataque de Tristeza, aún severo, pueda desarrollar un segundo, un tercero, a nuevas infestaciones garrapatosas o inoculaciones virulentas de sangre; pero estos accesos repetidos jamás tendrán la severidad de los ataques provocados por los mismos agentes en animales vírgenes y la mayoría de las veces sólo se revelarán por la presencia en la sangre de formas visibles de los hematozoarios sin ningún síntoma exterior de enfermedad.

El grado de resistencia no solamente depende del grado de virulencia de la inyección de sangre, o de la garrapata, sino del acceso agudo o no agudo provocado sobre el animal y del tiempo transcurrido entre la inoculación de prueba, o la prueba en el campo con garrapata, y el momento en que el animal sufre el acceso agudo; porque como hemos dicho anteriormente, las infestaciones de hematozoarios van perdiendo gradualmente su virulencia; va disminuyendo la influencia de factor "A" y correlativamente el grado de resistencia.

NORMAS PARA LA PREMUNICION

Este hecho comprobado de la posibilidad de crear un grado de resistencia efectiva por medio de la infestación garrapatosa, o por medio de inyecciones de sangre virulenta, ha sido la base y el fundamento de los métodos de premunición contra la Tristeza.

Los trabajos de premunición contra la Tristeza se remontan casi a la época de los primeros trabajos de Smith y Kilborne. Empezaron en Norte América, en Sud Africa y en Australia, y luego siguieron en todos los países. En el Río de la Plata, uno de los primeros que se ocupó de ellos, fué el profesor Lignières, en la República Argentina. Lignières trabajó en varios métodos de premunición fundados en la inyección de sangre. Empezó por trabajar con sangre altamente virulenta, extraída de animales en acceso agudo de Tristeza, dándole luego tratamientos de atenuación. Es muy posible que este punto de partida de Lignières se deba a la influencia de la época pasteuriana, a los trabajos de Pasteur, en el sentido de llevar al

agente a un punto fijo, para partir de ese punto degradando la virulencia gradualmente.

Todos los métodos del profesor Lignières tuvieron como base el uso de virus atenuados gradualmente, utilizando con ese fin, para los Piroplasmas, el frío a diversos grados. En cuanto a la Anaplasmosis utilizó el pasaje por ovinos.

Luego vinieron los trabajos de Theiler, también con un punto de partida análogo, con el uso de la sangre altamente virulenta, sacada de animales en acceso agudo de Tristeza, y la aplicación de Tripanblau. Este método tuvo en Sud Africa mucha boga y fué aplicado a la premunición de los animales importados de Inglaterra.

Fué usado también un método análogo por Yakimoff, en Rusia, que él llamó Theilerización, en mérito de Theiler, que fué el creador del método, es decir, de la provocación del acceso agudo con sangre tomada en periodos agudos, y un tratamiento por Tripanblau.

Más tarde tomaron difusión otros procedimientos, fundándose en el empleo de sangre procedente de animales que habían pasado hacía algún tiempo el acceso agudo de Tristeza, ya fuere provocado por inoculación experimental o por infestación por medio de la garrapata.

Uno de esos métodos es el conocido por método de Argelia, debido a Ed. Sargent y sus colaboradores, inaugurado en 1924, que tiene como base el uso de la sangre de animales que hace algunos meses pasaron el acceso de Tristeza, fundado en que la sangre va perdiendo gradualmente su virulencia a medida que se va alejando del momento del acceso agudo. Estos métodos según las estadísticas presentadas por los autores, dieron brillantes resultados. En el Uruguay y en la Argentina se han estudiado métodos análogos de premunición, fundados en los mismos principios, en el uso de sangre de animales que han pasado hace un tiempo un ataque de Tristeza.

Para obtener éxito en la aplicación de estos métodos, no obstante su sencillez, es necesario tener en cuenta algunos factores.

Dijimos que la sangre va perdiendo gradualmente su virulencia, a medida que se va alejando del momento del acceso agudo, y esa sangre que va perdiendo su virulencia llega a perderla totalmente para algunas especies como la Francaiella argentina. De manera que no puede tenerse un grado de seguridad grande sobre el grado de premunición conferida si no se tiene un estudio particular de los virus.

Es necesario poseer animales cuyos virus hayan sido perfectamente estudiados, experimentalmente. En tales condiciones inoculando dos o tres centímetros cúbicos de sangre a otros animales, se obtiene con facilidad el desarrollo de una forma de Tristeza. Esta Tristeza puede ser benigna o grave, según los distintos factores que intervienen; pero felizmente se dispone de una serie de recursos te-

rapéuticos, actualmente, como la Tripaflavina, el Tripanblau, la Acaprina, etc., que permiten operar con una mayor independencia y efectividad.

Una cuestión que hay que tener en cuenta para la premunición contra la Tristeza, además de los factores que hemos mencionado, es la desigual sensibilidad de los animales, según la edad, a las inyecciones de sangre. Hay una Ley general para la Tristeza bovina, según la cual los animales son tanto o más resistentes, cuando más jóvenes son. La sensibilidad de los animales va decreciendo rápidamente con la edad. Es lo que, por otra parte, ha permitido y permite que se puedan hacer crías de ganado en establecimientos o zonas garrapatosas. De otro modo no podría existir la industria pecuaria con la presencia de garrapata virulenta. Esta circunstancia de la mayor o menor sensibilidad o mayor resistencia de los animales jóvenes a la Tristeza, ha sido comprobada por todos los investigadores que se han ocupado de los métodos de premunición, y aquí, en el Uruguay, y en la Argentina se ha trabajado sobre esas bases.

De un modo general, la inyección de sangre virulenta a animales de poca edad, terneros mamones de tres o cuatro meses, provoca una enfermedad benigna; salvo circunstancias de orden especial, esa enfermedad benigna crea un cierto grado de resistencia, y este grado de resistencia está en relación con la respuesta orgánica del sujeto; depende de la sensibilidad del sujeto y depende de la virulencia o de la agresividad desarrollada por los Piroplasmas que hemos inyectado con la sangre.

Pero de todos modos, se ha creado ya un cierto grado de resistencia que puede ser aumentado gradualmente por nuevas inyecciones de sangre en mayor cantidad, o de mayor virulencia. En esa forma se pueden obtener resultados sumamente halagadores para la premunición de los bovinos, a partir de los animales nuevos, antes de los seis meses de edad. A medida que va aumentando la edad, la sensibilidad aumenta de un modo extraordinario, y entonces, los peligros de la premunición por ese método, son enormes. Esa resistencia creada por las inyecciones de sangre, puede ser aumentada en un grado elevado por inyecciones de sangre altamente virulenta, ya sea recogida en animales infectados en el laboratorio, o recurriendo a los animales del campo que han pasado recientemente una infestación garrapatosa. Cualquiera de los dos procedimientos, pueden ser utilizados.

Ahora, como dijimos, la infección de los animales por las formas de Piroplasmas, tanto el P. bigeminum, como la Francaiella argentina, no es constante y tiende a extinguirse. Si la infección ha sido adquirida en edad temprana, en que el animal es poco sensible, tiende a extinguirse más rápidamente; y para conservar un

grado constante, útil, de resistencia, a la reinfestación derivada de la garrapata, en el campo, es necesario continuar las inyecciones de sangre virulenta, periódicamente. Esta es una condición formal, sobre todo para defender a los animales de los ataques del Piroplasma bigeminum y de la Francaiella argentina o Piroplasma argentino.

En cuanto a la Anaplasmosis el asunto ofrece menos peligros, desde que la infección por Anaplasmas es mucho más permanente, y la resistencia es también mucho más permanente. Es una precaución de la que no se puede prescindir, repetir periódicamente las inyecciones de sangre antes que el animal entre en un campo infestado; de lo contrario se corre el riesgo de perder todos los beneficios adquiridos por las inyecciones de sangre. Este procedimiento sencillo, partiendo de la utilización de sangre de animales del campo, de zonas garrapatosas, puede ser mejorado y llegarse a premunir animales de mayor edad.

Sin embargo, para la premunición de animales de más edad, sobre todo de razas perfeccionadas, de alta mestización, convendrá recurrir a líneas puras de virus. El uso de virus integral, conteniendo todos los parásitos de la Tristeza, es peligroso para premunir animales de mucha sensibilidad, porque cuando un animal ha sobrellevado un ataque de un parásito y le sigue otro ataque por un segundo hematozoario, está en malas condiciones para resistir, por su estado de debilidad y porque la infección anterior que está apagada, en estado latente, la entrada en juego de un nuevo Piroplasma que ha integrado el virus, la hace revivir, la hace despertar, y se genera un ataque agudo, no solamente del Pirosplasma que entra en acción en ese momento, sino de los hematozoarios que habían entrado en acción anteriormente.

Por ejemplo, si inyectamos una sangre que contenga Piroplasma bigéminum, P. argentino y Anaplasma, ceden primero los accesos de Piroplasma y le siguen luego los accesos de Anaplasma; el acceso de Anaplasmosis despierta la actividad de los Piroplasmas, y en lugar de hacerse un acceso puramente a Anaplasma, se hace un acceso a Piroplasma y Anaplasma.

Teniendo en cuenta esta circunstancia, el Laboratorio de la Dirección de Ganadería, ha procurado separar líneas puras de virus para ir a las premuniciones, y con eso ha conseguido premunir con relativamente poco riesgo, a animales de mucha edad.

Ahora, cuando se trata de animales finos, de alta mestización, se debe apelar también a los recursos terapéuticos, al tratamiento del acceso agudo de Piroplasmosis por el Tripanblau, cuando es un acceso puro a Piroplasma bigéminum; la Tripaflavina, cuando es un acceso de Babesiella o Piroplasma argentino y en la duda siempre a la Tripaflavina. En la Anaplasmosis, de los específicos acon-

sejados para combatir los hematozoarios; el que se muestra más activo es la Tripaflavina, pero ese tratamiento deberá ser acompañado de algunos recursos higiénicos y dietéticos.

Nuestra experiencia personal nos ha llevado a la convicción de que no obstante ser la Anaplasmosis la forma más grave de Tristeza, natural o provocada, es la forma contra la cual se puede luchar más ventajosamente, con simples medidas de higiene. Nos referimos a dos cosas, principalmente: a una dieta rigurosa, hídrica, de varios días, cuando el animal entra en ataque agudo de Anaplasmosis; a los laxantes usados diariamente, en ayunas; a la alcalinización de la sangre, que evita los efectos de la acidosis. Debemos suponer a todos los animales atacados de Tristeza, con una tendencia a la acidosis; no tenemos datos seguros, y en estos momentos se están estudiando en el Laboratorio de Biología Animal las modificaciones de la reserva alcalina, en las diversas formas de Tristeza; pero estudiando la bibliografía humana, sobre todo en el Paludismo, en que se ha comprobado de un modo indudable que unas de las causas de la muerte de los sujetos es la acidósis, que cierra el riñón y por consiguiente crea una situación de intoxicación grave, nosotros apelamos a los mismos recursos en la Anaplasmosis, y pudimos comprobar que la medicación temprana de alcalinos, en los animales que van a entrar en reacción anaplásmica, facilita el drenaje renal, y que la administración de laxantes facilita el drenaje intestinal. En tales condiciones se tienen todas las probabilidades de "sacar a flote" a animales aún en un acceso grave de Anaplasmosis.

Nosotros podemos mencionar animales de 5, 6 y 7 años con una riqueza globular de un millón trescientos mil glóbulos, contra siete millones que es la cantidad normal de glóbulos rojos de la sangre, que han salvado completamente el ataque agudo de Anaplasmosis.

Al mencionar estos hechos que, en cierto modo son muy útiles para aprovecharlos en los casos que se puedan presentar, no quiero de ninguna manera indicar que sea aconsejable premunir animales de muchos años, porque deben preferirse siempre para la premunición, animales de tres a seis meses. Se pueden realizar con relativamente poco riesgo, al año, al año y medio, pero con muchas precauciones, utilizando virus graduados e inyecciones repetidas, y además aprovechando los meses más favorables, sobre todo apartándose de los meses muy calurosos que, como hemos mencionado, agravan mucho los ataques de estas enfermedades.

DARÉ AHORA A MODO DE CONCLUSIONES LO SIGUIENTE:

1.º Se puede deducir que es posible conferir experimentalmente a los bovinos una resistencia en grado elevado contra las inoculaciones virulentas de sangre o de infestación garrapatosa.

2.º Los animales jóvenes resisten mucho mejor las infestaciones garrapatosas y las inoculaciones de sangre virulenta, y de un modo general, conviene comenzar la premunición en los animales de tres a seis meses de edad.

3.º La utilización de tipos puros de virus permite premunir con menos riesgo los animales sensibles, ya sea por edad o por un alto grado de mestización.

4.º La Anaplasmosis confiere un grado más sólido y más duradero de premunición, y un Anaplasma de un grado relativamente bajo de virulencia protege más seguramente contra la anaplasmosis virulenta, que en igualdad de condiciones los Piroplasmas contra los respectivos piroplasmosis.

5.º La premunición tiende a extinguirse gradualmente de un modo más rápido para la Babesiella, algo menos rápido para el Piroplasma bigéminum, y más lentamente para el Anaplasma, y como consecuencia, mientras los animales premunidos, no sean sometidos a la infestación garrapatosa natural, deberá conservarse la premunición por inyecciones periódicas de sangre virulenta.

La temperatura ambiente tiene una influencia marcada sobre la generalidad de las infecciones. La temperatura elevada, los meses de verano, aumentan la virulencia de la garrapata, y agravan el proceso de la enfermedad.

Es cuanto tenía que decir.

(Muy bien. Aplausos).

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LOS ACCIDENTES EN LA VACUNACION ANTICARBUNCLOSA

POR EL DR. MIGUEL C. RUBINO

(Publicado en el Boletín de Policía Sanitaria de los Animales. - Año IX. - N.º 4. - 1924)

El 28 de Julio próximo pasado, fuí llamado a prestar mis servicios profesionales a un establecimiento ganadero, ubicado en la Costa de Cuadra, del Departamento de Durazno, con motivo de la mortandad de lanares ocurrida después de la aplicación de una vacuna anticarbunclosa única para lanares.

Se trata de una vacuna cuyo expendio está autorizado.

Datos recogidos en el establecimiento:

Población lanar, 2.700; la mayoría Romney Marhs de alta mestización.

Animales vacunados, 1.952; habrían empleado la dosis indicada por los preparadores y en algunos lotes inferior, como comprueban por la cantidad de vacunas solicitadas (2.600 dosis); número de animales vacunados (1.952) y remanente de vacuna (1.170 dosis).

La vacunación fué hecha por el capataz del establecimiento con instrucciones de un médico veterinario. Fué comenzada el 18 de Julio y se realizó en la siguiente forma:

18 de Julio:	117	carneritos	
	18	" de galpón. Total	135
19 de Julio:	448	borregos	448
20 de Julio:	88	ovejas	88
21 de Julio:	213	"	
	155	animales de consumo	
	25	borregas. Total	393
23 de Julio:	888	ovejas	888
Total			1.952

Mortandad. — Comenzó el día 26 de Julio y continuó en la siguiente forma:

26 de Julio:	4	borregas vacunadas	el	día	19
	1	carnerito	"	"	19
	4	carneritos	"	"	18
	1	oveja vacunada	"	"	20
	1	capón vacunado	"	"	21
	1	carnerito	"	"	18
27 de Julio:	1	carnerito vacunado	"	"	18
	1	"	"	"	19
28 de Julio:	1	carnerito vacunado	"	"	19
	1	borrega vacunada	"	"	19
	1	" "	"	"	21
	1	oveja (lote 218)	"	"	21
	2	capones	"	"	21
29 de Julio:	3	animales vacunados	"	"	21
	4	" "	"	"	21
	1	carnerito	"	"	18
	2	animales	"	"	20
	5	"	"	"	19
	8	"	"	"	23
30 de Julio:	7	lanares	"	"	21
	5	"	"	"	23
31 de Julio:	10	ovejas	"	"	23
	1	borrega	"	"	19
	1	carnerito	"	"	18
	2	ovejas y 2 borregas	"	"	21
1.º de Agosto:	4	ovejas vacunadas	"	"	23
	2	carneritos	"	"	18
	2	ovejas	"	"	21
	1	"	"	"	20
	2	carneritos	"	"	19
2 de Agosto:	2	ovejas	"	"	20
	3	carneros	"	"	19
	1	borrega	"	"	19
	1	"	"	"	19
3 de Agosto:	1	borrega	"	"	19
	1	carnerito	"	"	19
4 de Agosto:	No murió nada				
5 de Agosto:	1	carnerito	"	"	19
6 de Agosto:	4	ovejas	"	"	23
	1	carnerito	"	"	19
8 de Agosto:	1	oveja	"	"	21
	1	borrega	"	"	21
9 de Agosto:	2	carneritos	"	"	19

Murió, pues, un total aproximado de 100 animales sobre 1.952 vacunados; es decir, alrededor del 5 por ciento.

Síntomas de los animales enfermos. — Se notaban tristes, apartados de los demás, arrojamiento nasal espumoso, sanguinolento, respiración sacadée. No se observó diarrea, los animales notados con estos síntomas en la mañana, murieron en la tarde; los notados en la tarde, amanecían muertos al día siguiente, es decir la muerte tuvo lugar dentro de las 12 horas que siguieron a la observación de los síntomas.

En el punto de la inoculación, se notó, salvo muy rara excepción, en los animales enfermos o muertos, una tumefacción, a veces subcutánea, adherida a la piel, dura, en forma algo alargada, de volumen como una nuez; en otros en gran número de ellos la lesión tenía como un aspecto especial, una tumefación de un diámetro a veces de 5 a 6 centímetros, unida a la piel o más bien formando cuerpo con ella, presentándose ex-ulcerada o con flictenas llenas de un líquido rojizo. Se trata, pues, de una lesión carbunclosa muy semejante a la pústula en el hombre. Yo nunca había observado ni visto descripta tal alteración.

AUTOPSIAS

Ovino N.º 1. — Borrega de dientes de leche. Aún viva se le extrae sangre de la vena yugular con una pipeta. Examen microscópico directo, negativo. Sacrificio a las pocas horas.

Examen exterior. — Punto de inoculación muy poco visible. Ganglio correspondiente muy tumefacto, suculento. Arrojamiento nasal espumoso, sanguinolento. Anal, no hay arrojamiento. Piel y subcutáneo. No se nota nada de anormal.

Cavidad abdominal. — Poco líquido amarillento, peritoneo parietal y visceral sin alteraciones aparentes. Hígado color normal. No hay parásitos (Saguaypé), vesícula biliar llena de bilis espesa, verdosa, recordando un poco la de la Piroplasmosis. Aparato digestivo. Rumen poco contenido, pastoso flúido. Cuajo contenido muy flúido, casi puro; mucos con pequeñas partículas alimenticias.

Mucosas con sufuciones sanguíneas, de tamaños de lentejas algo más grandes: algunas ulceradas. Bazo, tamaño, color y consistencia aparentemente normales.

Aparato urinario. — Riñones chicos, color y consistencia aparentemente normales. Vejiga poca orina, amarillo claro.

Cavidad torácica. — A su abertura poco líquido, amarillo claro. Pleura parietal sin alteraciones aparentes. Pulmones rosados claros, con pequeñas manchas rojas-obscuras, irregulares, tamaño algo más chicas que una moneda de un centésimo; a la presión conservan las

impresiones digitales, al corte sale líquido espumoso-rosado. Tráquea y grandes bronquios con espuma rosada.

Corazón y grandes vasos. — Ninguna lesión de importancia. Sangre perfectamente coagulada.

Ovino N.º 2. — Macho castrado. Exteriormente. Arrojamiento nasal espumoso, rosado, no hay arrojamiento anal; cara interna de uno de los muslos, tumefación del tamaño de un huevo chico de gallina; piel intacta, consistencia firme.

Cara interna de la piel y tejido subcutáneo: Nada de anormal fuera de la tumefacción mencionada.

Cavidad abdominal. — Peritoneo parietal y visceral aparentemente nada de anormal. Rumen, contenido muy fluído. Cuajo: Abundante líquido sanguinolento. Mucosa cubierta de sufusiones sanguíneas. Hígado: Color algo subido. Bazo: Aparentemtne normal en cuanto a su color, forma, tamaño y consistencia.

Aparato urinario. — Riñones color rojo violáceo, al parecer algo aumentados de volumen, al corte bastante sangre, sustancia cortical y medular color muy intenso, tejido friable. Vejiga con poca orina color sangre, no podría afirmarse si simplemente hemoglobinúrica o si también hematúrica.

Cavidad torácica. — A su abertura. Abundante líquido, aproximadamente ¾ litros, color rosado. Pulmones, superficie rosada sembrada de pequeñas manchas hemorrágicas. El parénquima conserva las impresiones digitales. Al corte abundante líquido espumoso rosado.

Ovino N.º 3. — Macho castrado. Examen externo. Arrojamiento nasal, espumoso rosado, no hay arrojamiento anal, cara interna muslo izquierdo una tumefacción circular, elevada sobre la piel, de un diámetro de cinco a seis centímetros, con flictenas en su superficie en parte exulcerada; las flictenas contienen una serosidad rojo obscuro. La tumefacción se presenta consistente, al corte una superficie relativamente poco húmeda, en su mayor parte de color rojo-violáceo obscuro, con pequeñas estrías amarillo claro, dando la impresión de estractificación algo irregular.

Cara interna de la piel y subcutánea. — Nada de anormal fuera de la lesión especificada.

Cavidad abdominal. — A su abertura. No se observa líquido inflamatorio. Peritoneo parietal y visceral sin alteraciones aparentes. Rumen, contenido flúido. Cuajo, contenido líquido, mucoso, rojizo pardo claro. Mucosa sembrada de sufusiones sanguíneas. Hígado rojo violáceo, pero con bordes afilados, al parecer sin aumento de volumen. Bazo: Color, forma, tamaño y consistencia aparentemente normales.

Aparato urinario. — Riñones muy aumentados de volumen,

rojo obscuro, friables —al corte sustancias cortical y medular rojo obscuro— mucha sangre, orina color sanguinolento.

Cavidad torácica. — A su abertura. No hay líquido anormal. Pleura parietal sin alteraciones aparentes. Pulmones: Superficie rosada, sembrada de pequeñas manchas hemorrágicas, conserva las impresiones digitales; al corte líquido espumoso rosado.

EXAMENES MICROSCOPICOS DIRECTOS

Ovino N.º 1. — Sacrificado momentos antes.
Sangre, negativo.
Frotis del pulmón, hígado, bazo y riñones negativos.
Frotis líquido pleural. Negativo.
Frotis de sangre. Se observan bacilus, algunos en cadenas largas y otros cortas de tres a cuatro ortejas, al parecer en lisis incipiente, parece distinguirse una cápsula.

Ovino N.º 2. — Muerto algunas horas antes.

Ovino N.º 3. — Muerto algunas horas antes.
Sangre. Negativo.
Pulmón, bazo y riñón. Negativo.
Frotis del exudado del corte del punto de inoculación. Positivo, bacilus con algunos caracteres de la Bacteridia.

CULTURAS

Sangre ovino N.º 1. — Positiva Carbunclo.
Sangre ovino N.º 2. — Positiva Carbunclo.
Liquido pleural, ovino N.º 2. — Negativo.
Sangre ovino N.º 3. — Positiva Carbunclo.
Pústula ovino N.º 3. — Positiva Carbunclo.
Vacuna utilizada. — Examen directo:

Formas micelianas con esporos y sin esporos, esporos libres, probablemente en suspensión de suero fisiológico glicerinado.

INOCULACIONES

Vacuna. — Preparada 15 de julio 1924. De la misma partida utilizada para la vacunación de los lanares. Agosto 3 de 1924. Cobayo N.º 100, 340 grs. recibe por vía subcutánea ½ c.c. Cobayo N.º 101, 450 grs. recibe ½ c.c. por vía subcutánea.

Ovino N.º 9. — Recibe 2 c.c. por vía subcutánea.
Agosto 20:
Ratón N.º 4. — Recibe ¼ c.c. por vía subcutánea.

El cobayo N.º 101 muere el 20 de Agosto: el N.º 102, entre el 23 y el 24 de Agosto, es decir, 17 y 20 días después de inoculados, sin presentar lesiones de Carbunclo y Cultura negativa.

El ratón N.º 4 amanece muerto el día 22 de Agosto, presentando Bacteridia en la sangre y Cultura positiva.

La marcha del ovino N.º 9 es interesante. El 6 de Agosto presenta un ligero edema, inflamatorio, que en los días sucesivos se delimita bien, formando un nódulo indurado, ligeramente adherido a la piel, que después decrece para acrecentar nuevamente.

El 13 de Agosto se hace cultura de serocidad extraída de su interior con una pipeta, y a las 24 horas aparece cultura de Bacteridia.

El 21 de Agosto nueva siembra de serocidad extraída del nódulo de inoculación. Positiva, Carbunclo en las 24 horas. Es decir, que la Bacteridia vacinal, se ha conservado viva en el punto de inoculación por lo menos hasta los 18 días.

Ovino N.º 3. — Cultura 72 horas de siembra de la pústula vacinal.

Cobayo N.º 102, 390 grs. Cobayo N.º 103, 470 grs. El 3 de Agosto reciben ½ c.c. c/u. por vía subcutánea.

El N.º 103 muere el 14 de Agosto y el 102, entre el 22 y 23 de Agosto, es decir, después de 11 y 19 días de inoculados; ninguno presentó lesiones de Carbunclo y los cultivos fueron negativos.

Ratón N.º 2. — Agosto 18, recibe ¼ c.c. de la misma cultura.

Muere el 19 de Agosto. Abundantes Bacteridias en la sangre, forman cortas y largas. Cultura positiva.

Cultura 72 horas. Sangre del mismo ovino. Agosto 3 de 1924. Cobayo N.º 104, 425 grs. Cobayo N.º 105, 510 grs. Reciben por vía subcutánea ½ c.c. c/u.

El 104 amanece muerto el día 14 de Agosto y el 105 el día 16 de Agosto. Es decir, mueren 11 y 13 días después de inoculados, sin presentar lesiones de Carbunclo y cultura negativa.

Ovino N.º 1. — Cultura en caldo de sangre. Agosto 18. Ratón N.º 3. Recibe ¼ c.c. por vía subcutánea.

Muere el 19 de Agosto, presentando Bacteridias en la sangre y cultura positiva. Como se observará, tanto la vacuna como la cultura de sangre y pústulas de los ovinos muertos, resulta mortal en los plazos ordinarios y con septicemia solamente para los ratones; es probable que cobayos más nuevos hubieran muerto también con septicemia.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

RELACION ENTRE LA FECHA DE VACUNACION Y LA MARCHA DE LA MORTALIDAD

Anteriormente a la vacunación, según manifestación del encargado, no habría habido mortandad. Un caso aislado sospechoso de Carbunclo habría determinado la vacunación.

La mortandad comienza el 26 de Julio, es decir, 18 días después de iniciada la vacunación, con mortalidad mayor del lote vacunado el día 18, pero comprende a animales de los lotes vacunados los dias 19, 20 y 21; por lo tanto puede estimarse en cinco días el plazo mínimo de incubación para la mortalidad; la mortalidad continúa en los días sucesivos comprendiendo a los mismos lotes, pero con tendencia a aumentar en los lotes últimamente vacunados; el dia 29 de Julio se inicia la aparición de casos mortales en el lote vacunado el día 23; existe, pues, una relación clara entre la fecha de vacunación y la aparición de la mortalidad, aunque no sean perfectamente paralelas, lo que es fácilmente explicable por la diversidad de las condiciones de los distintos lotes comprendidos.

Las culturas. — La revelación de la Bacteridia en la sangre de varios animales muertos, con la ausencia de otro elemento microbiano, tiende a probar que la Bacteridia está como causa de la mortalidad; podría suponerse que se tratara de Carbunclo en incubación, y la mortalidad aumentada por efecto de la vacuna, pero esta explicación no cabe; 1.º por falta de las lesiones que caracterizan al Carbunclo espontáneo; 2.º por las tumefacciones en los puntos de inoculación con presencia de Bacteridia, y 3.º por el resultado de las inoculaciones experimentales.

INOCULACIONES EXPERIMENTALES

El resultado solamente nítidamente positivo en los ratones, a pesar de las dosis utilizadas en los cobayos, parece probar que no se trata de virus natural de campo, ni tampoco de un virus vacinal exaltado, puesto que tanto la vacuna, como los virus de pasaje por los ovinos, no han mostrado virulencia capaz de matar los cobayos con lesiones y septicemia Bacteridiana; es probable que si se hubiera utilizado cobayos más nuevos se hubieran obtenido resultados positivos, pero esto no agregaría nada en favor ni en contra de la vacuna en cuestión.

El caso del ovino N.º 9, inoculado en la Estación Experimental, tiene un alto significado, porque ha puesto en evidencia la sobre vida de la Bacteridia vacinal en el punto de inoculación, por lo

menos de 18 días, y es indudable que durante todo ese plazo el animal está bajo la acción de ese elemento, porque si es lógico suponer, que el animal puede disminuir su riesgo de vida por la inmunidad que se va instalando, es también lógico pensar que la Bacteridia no quede ajena a ese mecanismo que se instala y es condición de vida para ella, que se modifique a fin de resistir la defensa orgánica, lo que puede acarrear un aumento de virulencia o una mejor adaptación al ambiente en que vive, con peligro sin duda alguna para el animal.

Parece, pues, resultar: 1.º Que la mortalidad ha sido ocasionada, por la vacuna, criterio que está reforzado por la circunstancia de haber ocurrido en esos mismos días una mortalidad aún mucho mayor en establecimientos del departamento de Flores, que utilizaron una vacuna del mismo origen; este hecho tiende también a eliminar o por lo menos quitar valor al argumento que se podría hacer de una mala aplicación de la vacuna por parte de un operador no idóneo, como podría ser, por ejemplo, inyecciones demasiado superficiales, intrasubdérmicas, criterio reforzado por las lesiones locales pustulosas, vía que podía resultar más severa; no lo aseguro, ateniéndome a los hechos comprobados por Bessedka en el cobayo.

2.º Que tampoco se trata de una vacuna exaltada, por lo menos en cuanto a los animales reactivos de laboratorios.

3.º La pureza de los cultivos de las siembras realizadas con un tubo de la vacuna, así como la ausencia en los animales sacrificados de otros bacterios, aleja la posibilidad de una vacuna contaminada.

Queda como hipótesis probable la influencia de los siguientes factores:

1.º — Vacuna preparada originariamente con un virus especializado para ovinos, mostrando así relativamente una atenuación mayor para los animales de laboratorio que para los lanares.

2.º — La condición de esporulada de la vacuna que prolonga la permanencia de la Bacteridia en el punto de inoculación.

3.º — Una dosificación demasiado elevada del número de elementos microbianos por unidad de volumen.

4.º — Inoculaciones superficiales.

Será necesario continuar los estudios a fin de establecer el alcance de esos factores.

Me permito también llamar la atención sobre los siguientes puntos que me parece que ofrecen interés:

1.º — La muerte de los lanares con escaso número de Bacteridia en la sangre, revelables en el mayor número de los casos por cultura.

2.º — La ausencia de la mayoría de las lesiones clásicas, sobre todo esplenomegalia y de la no modificación, coagulabilidad de la sangre, que se ha presentado en los animales autopsiados perfectamente coagulada, no ha tenido lugar, o dentro de un límite muy reducido, la proteolisis de la fibrina.

3.º — La presencia de lesiones locales pustulosas análogas a las producidas en el hombre.

Estos hechos, sobre todo los dos primeros, ofrecen interés práctico, los posibles errores de diagnóstico en el campo, donde se pueden presentar circunstancias análogas y que con un examen de sangre directo frente a un animal recientemente muerto, o con integridad de los elementos histológicos de la sangre y ausencia de Bacteridios, se podría concluir en un resultado negativo en cuanto a Carbunclo, aparece, pues, como complemento necesario la cultura de sangre o de médula ósea, según los casos.

Un dato interesante hubiera sido el ensayo de la reacción de Ascoli con extractos de órganos de los ovinos autopsiados.

Dr. M. C. Rubino.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DEL ION H SOBRE LOS CULTIVOS DE LA BACTERIDIA CARBUNCLOSA (B. ANTRAXIS)

(EN COLABORACION CON EL DR. KURT SCHERN)

(Publicado en el Boletín de Bacteriología de la Escuela de Veterinaria de Montevideo, Año I, Número 3-4, 1925)

El nuevo concepto de acidez y alcalinidad, nacido con el progreso de la físico-química, se ha ido imponiendo como factor fundamental que condiciona gran número de fenómenos biológicos; todas las leyes, hipótesis y conceptos sobre el metabolismo nutritivo, fermentaciones, equilibrio físico-químico, etc., y sobre todo los fenómenos coloidales, han sido revisados y más precisados tomando en cuenta la tensión iónica del H. en el medio. Era lógico pues, que los cultivos de la bacteria, para quienes ya los métodos groseros de alcalimentría y acidimetría habían establecido marcadas diferencias, según la especie, en cuanto a las reacciones más apropiadas para los cultivos, fueran estudiados también beneficiando de la exactitud del método físico-químico. Es así que se fueron publicando trabajos sobre la influencia del ión H. en la mayoría de las bacterias patógenas, tanto del punto de vista de la abundancia del cultivo como de la producción de toxinas, acciones fermentativas, etc.

Con el presente trabajo, deseamos dejar bosquejados los resultados obtenidos con el B. Antraxis, una de las bacterias que más nos interesan actualmente, por la difusión del Carbunclo Bacteridiano en el país, como medio de mejor precisar las condiciones de su diagnóstico y profilaxia.

CONDICIONES DE LA EXPERIENCIA. — METODO EMPLEADO

Nuestras experiencias fueron hechas en caldo y gelosa simple. El caldo fué preparado de acuerdo con la técnica que empleó K. G. Dernby, según su trabajo publicado en los "Annales de l'Institut Pasteur", 1921, pág. 277. Un kilo de carne desengrasada, picada fina y colocada en dos litros de agua, puesta en autolisis 24 horas en la estufa a 37°; luego se le agrega 0,5 % de cloruro de sodio y 0,5 % de peptona; en lo demás se siguió la técnica habitual.

Los dos litros de caldo, después de preparados con la reacción habitual de laboratorio, (muy ligeramente rosado a la Fenol-efta-

leína); se dividió en dos porciones: una para cultivo en medio líquido y otra para gelosa. La gelosa fué preparada al 20 °/₀₀.

DISTRIBUCION Y ARREGLO DE LAS REACCIONES. — DEL CALDO

Fué distribuído en veinte porciones de 50 c.c. cada una, numeradas del 1 al 20; el tubo N.º 14 se dejó con la reacción inicial; por tanteo, con el agregado de solución N. ácida de H. Cl. el tubo N.º 3 fué llevado a un Ph. 3.5; la cantidad de solución N. ácida utilizada para llevar la reacción inicial, (tubo N.º 14) al Ph. 3.5 del tubo N.º 3, se dividió por el número de tubos intermediarios; la cantidad resultante fué agregada en dosis crecientes a partir del tubo N.º 13 hasta el N.º 4.

Para la alcalinidad se hizo algo semejante, utilizando una solución N. de hidróxido de sodio, adoptando como término más elevado el tinte rojo puro a la Fenol-eftaleína.

La serie quedó numerada del 3 al 18.

DE LA GELOSA

Fué distribuída igualmente en porciones de 50 c.c. cada una. A la porción 11 se le dió la reacción análoga a la del tubo N.º 14 del Caldo; al tubo 1, se le agregó solución N. ácida hasta Ph. aproximado a 3.5; al tubo 15, s/n. hidróxido de sodio hasta rojo intenso a la fenol-eftaleína; los intermediarios ácidos y alcalinos se arreglaron lo mismo que para el caldo. El tubo N.º 11 de la gelosa correspondía al tubo 14 del caldo. Debemos señalar que al esterilizar la serie completa de gelosa, en el autoclave a 110º20 minutos comprobamos que en varios tubos permaneció líquida después del enfriamiento, desde el líquido perfecto (tubos 1 y 2)), hasta el de jalea más o menos flúida (tubos 3, 4, 5 y 6). De cada una de las porciones de caldo y gelosa se distribuyó en tubos de ensayos habituales, a razón de 10 c.c. en cada uno, medidos exactamente con pipeta y después esterilizados.

MEDIDA DE LA CONCENTRACION IONICA

Después de varios días de esterilizados los tubos, con el fin de dejar estabilizar la reacción del medio, y casi simultáneamente con la siembra se hizo la medida de la concentración, con una serie no sembrada a objeto de descartar las alteraciones por cultivo.

Con tal propósito utilizamos el método de Michaelis, con la escala del mismo y el comparador de Wapole; para las alcalinidades elevadas, no comprendidas en la escala, (más de Ph. 8.4), las determinamos aproximadamente con la Fenol-eftaleína.

VIRUS EMPLEADO

Utilizamos un cultivo de B. Antraxis, aislado directamente de animal muerto naturalmente de carbunclo bacteridiano, (Virus de campo); sin pasajes por animales de laboratorio.

PRIMERA EXPERIENCIA. — SERIE EN CALDO

Una serie de tubos con caldo, numerados del 3 al 18, fué sembrada con seis gotas cada una, de un cultivo de 24 horas en caldo simple, previa homogeneización perfecta; después de homogeneizar la siembra de cada tubo, fueron colocados en estufa a 37°.

LECTURA DE LOS RESULTADOS A LAS 24 HORAS

Tubos N°s	3 al 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Ph.	3.5 a 6.0	6.4	7.0	7.2	7.5	7.9	8.2	8.3	8.4	8.5
Cultivos	No cultivaron	Cultivo pobre	Cult. bastante abundante	Cultivo más abundante	Cultivo más abundante	Cultivo más abundante	Cultivo más abundante	Cultivo menos abundante	Cultivo menos abundante	Cultivo menos abundante

Los cultivos se iniciaron, pues, en el tubo N.° 10, con un Ph. 6.4; fué aumentando hasta el tubo N.° 14 (Ph. 7.9) y disminuyendo hasta el N.° 18 (Ph. 8.5); la lectura se hizo durante varios días en períodos de 24 horas; primero por la observación de los copos en los tubos recientemente sacados de la estufa, después agitando el medio y tomando en cuenta el enturbiamiento relativo; el tubo N.° 10 no progresó más después de las 24 horas y su cultivo se mantuvo muy pobre, contrastando con el tubo N.° 11. La lectura final se hizo a los siete días, comparando el grado de enturbiamiento de los tubos (nefelimetría); los enturbiamientos químicos por excesiva acidez o alcalinidad fueron corregidos con otra serie no cultivada, utilizando el comparador de Wapole. En esta forma se comprobó: Límite de acidez Ph. 6.4 (tubo N.° 10); óptimo Ph. 7.9 (tubo N.° 14); el límite de alcalinidad no apareció, pues cultivaron todos los tubos del 15 a 18, aunque en forma decreciente. El hecho se debe al descenso marcado de la alcalinidad después de varios días de preparada la serie.

En efecto: el tubo N.º 18 fué preparado inicialmente con una alcalinidad aproximada a Ph. 9.5 (tinte rojo a la Fenol-eftaleína); en el momento del cultivo sólo alcanzó un Ph. 8.5. Ese descenso debe interpretarse, en consecuencia, como una acción del $C\ O^2$ del aire sobre el hidróxido de sodio libre.

Debemos señalar la particularidad que el caldo se puso pardo a partir del tubo N.º 10, lo que prueba evidentemente que el cultivo se inició en esa fracción.

SERIE EN GELOSA

Siembra. — Seis gotas de cultivo de 24 horas en caldo, para cada tubo; después se pasea sobre la superficie de la gelosa una pipeta doblada, para uniformar la siembra; los tubos son colocados en la estufa en posición inclinada de unos 5º. La lectura de los resultados se hizo cada 24 horas; el cultivo se inició en el tubo N.º 9; el óptimo correspondió al tubo N.º 11; como para el caldo, toda la serie alcalina cultivó, no siendo visto el límite de alcalinidad.

Como hemos dicho anteriormente, el tubo N.º 11 de esta serie correspondía al N.º 14 del caldo; El N.º 9, al 10 de la serie en caldo, en cuanto a la cantidad s/n. ácida agregada a partir del óptimo (O $C^3$6 s/n. HC1). Los resultados, pues, son concordantes. Después de varios días la gelosa se puso fuertemente parda a partir del tubo N.º 9, indicando que en ese tubo se inició el cultivo.

SEGUNDA EXPERIENCIA

(En caldo solamente)

Se utilizó otra serie de tubos de caldo de la misma partida, modificando la alcalinidad a partir del tubo N.º 16, esta vez con solución de carbonato de sodio puro, para amortiguar los efectos del CO^2 del aire y poder obtener el límite de alcalinidad para los cultivos; la siembra, observaciones y demás, se hizo en la forma indicada para la primera experiencia.

En ésta, el cultivo se inició en el tubo N.º 11 y terminó en el N.º 17; el óptimo correspondió al tubo 15 primeramente, para fijarse en el N.º 14 después de seis días de cultivo. Contrastaba el cultivo abundante en el N.º 11, con la falta de cultivo en el N.º 10; sin embargo, como lo hicimos notar en la primera experiencia, el cultivo en el tubo N.º 10 fué muy pobre y no progresó después de las 24 horas.

Toda la escala fué rectificada en cuanto a los Ph. en esta serie. Para esta experiencia, el límite de acidez correspondió a Ph. 7 (tubo

N.º 11); el óptimo a Ph. 7.7 (tubo 14) y Ph. 8 (tubo 15); el límite de alcalinidad a Ph. 8.7 (tubo 17).

Como se observará, ha habido una variación en los Ph. de la serie superior (tubos 13, 14 y 15), en el sentido ácido, comparados con la lectura anterior (primera experiencia) de la misma serie.

EXPERIENCIAS COMPLEMENTARIAS

Aprovechando la primera experiencia hicimos algunos ensayos con el propósito de averiguar la suerte de las siembras, aún en los tubos no cultivados y de la influencia de los Ph. sobre la esporulación, a los nueve días de hecha la siembra.

Primer ensayo. — Agitación de todos los tubos de la serie (del 3 al 18), y siembra sobre gelosa inclinada, de algunas gotas, paseándolas bien sobre la superficie. A las 24 horas, cultivo sobre toda la serie; del tubo N.º 3 al 9 inclusives, pocas colonias muy separadas; del 10 al 18, cultivo abundante sobre la superficie. De manera, pues, que a pesar de no haber cultivado la Bacteridia (del 3 al 9), ha permanecido viva por lo menos nueve días.

Segundo ensayo. — De cada tubo de cultivo original en caldo (del 3 al 18), previa agitación, se tomó una porción con una pipeta Pasteur; siendo colocados durante 30 minutos en baño-maría previamente llevado a 65º. Después se sembró el contenido de cada pipeta sobre gelosa en pico de flauta.

RESULTADOS

A las 24 horas, falta de cultivo de los tubos 3 al 9. Cultivo abundante de los tubos 10 al 18; esto constituye una prueba más en el sentido que en esta serie el cultivo se ha iniciado en el tubo N.º 10 (Ph. 6.4). A las 72 horas, cultivo en el tubo N.º 7; falta de cultivo en los demás comprendidos entre el 3 y el 9.

Tres interpretaciones caben para esta experiencia:

1.ª Los esporos carbunclosos han perdido su termo-resistencia por hidratación, debido a la acidez elevada.

2.ª Ha habido pérdida de la termo-resistencia por principio de germinación; y

3.ª A la acción de la temperatura, (65º) se ha agregado la acidez del medio determinando la muerte de los esporos. Estamos trabajando, a fin de llevar a la práctica estos resultados.

CONCLUSIONES

Para el cultivo de la Bacteridia Carbunclosa, en las condiciones que hemos operado, el límite de acidez se encuentra entre Ph. 6.4, Ph. 7; el límite de alcalinidad en Ph. 8.7 y el óptimo entre Ph. 7.7 y Ph. 8.

La Bacteridia, por lo menos en su forma esporulada, se conserva viva durante varios días en un medio fuertemente ácido (Ph. 3.5).

Nuestros resultados están en desacuerdo sensible con los publicados por Dernby (Annales de l'Institut Pasteur, 1921, pág. 286), pues establece el límite de acidez en Ph. 6 y el óptimo entre Ph. 6.8 y 7.2, mientras que de nuestras experiencias resulta el límite de acidez entre Ph. 6.4 y Ph. 7 y el óptimo entre Ph. 7.7 y Ph. 8.

En cambio, existe acuerdo —en cuanto al óptimo— con los resultados obtenidos por *Stiakdorn,* quien lo establece entre Ph. 7.7 y Ph. 8, según carta particular enviada por el Prof. Dr. *Bierbaum,* del Instituto *Frosch,* Berlín; lamentando no poder conseguir el trabajo original.

Es probable que las diferencias con el primero se deban al método distinto empleado, o a diferencias de la "souche" microbiana utilizada.

ZUSSAMMENFASSUNG:

Das Optimum der Wasserstoffionenconcentration für das Wachstum der Milzbrandbakterien liegt zwisehen Ph 7,7 und Ph 8.

UNA NUEVA REACCION SEROLOGICA DE LA LEPRA

PRIMERA COMUNICACION HECHA A LA SOCIEDAD DE DERMATOLOGIA Y SIFILOGRAFIA, EL 8 DE JUNIO DE 1926

(Publicado en la Revista de Medicina Veterinaria, Tomo II, Año IX, Núm. 28, 1926)

Desde los primeros meses del año pasado, me estoy ocupando de serología de la sífilis en los métodos de desviación del complemento, tratando de obtener un modo de operar sensible y exacto; con ese objeto me dediqué a los procedimientos de desensibilización utilizando una suspensión de glóbulos formolados de oveja, con resultados muy satisfactorios y que serán motivo de otra comunicación próxima a esta Sociedad.

De un modo general, mezclando un suero, específico o no, con un volumen igual de una suspensión globular, formolada y en determinada concentración, se hace una mezcla uniforme, opaca y que tarda muchas horas en aclarar por sedimentación espontánea de los glóbulos, ya se coloque en la estufa a 37° o a la temperatura ambiente. A este procedimiento sometí unos 800 sueros, de muy variados enfermos, procedentes la mayoría de la Clínica de los Dres. Varela Fuentes y Rubino y del Dr. Claveaux, quienes sistemáticamente han buscado la reacción de Wassermann en sus enfermos.

Alguna vez, aunque muy raramente, observé que algunos sueros clarificaban rápidamente, contrastando con la opacidad de los demás. El fenómeno de clarificación se producía antes de una hora, término de la observación.

Ultimamente, hace unos meses, observé este fenómeno de un modo muy intenso con el suero de un enfermo de la Policlínica Sifilopática de esta Capital, a cargo del Dr. José Etchechury. El enfermo era leproso, con un Bordet Wassermann H°; agitando nuevamente la mezcla, volvía a clarificar rápidamente; repetida varias veces la experiencia con el mismo suero, el fenómeno se mostró constante; —estábamos pues en presencia de un hecho nuevo y raro—, unido a la circunstancia de tratarse de un leproso. Fácil me fué conseguir algunos sueros más de leprosos y pude comprobar la presencia de ese fenómeno en esa enfermedad, dando la sensación de una por lo menos relativa especificidad.

LA REACCION. — SUS CARACTERISTICAS

Me voy a concretar a relatar la técnica, tal cual la he practicado, de un modo general y a cuyos resultados hago referencia en la presente comunicación, dejando de lado las diversas variantes que he planeado con el fin de perfeccionamiento. Para ello se necesita:

1.º Suero de los enfermos en examen sin inactivar.

2.º Suspensión de glóbulos formolados de oveja, preparados en la siguiente forma: Los glóbulos son previamente bien lavados con suero fisiológico al 8 ½ °/₀₀ como para el Wassermann. Después de llevados a su volumen original de sangre, se le agrega 10 % de formalina. Se mezcla bien y se deja 24 horas a la temperatura ambiente. Luego se hace nuevamente el lavado de los glóbulos con suero fisiológico, varias veces, por lo menos cuatro y se lleva a un volumen doble con suero fisiológico; en todos estos lavados es necesario incorporar bien los glóbulos al suero, de manera que se forme una suspensión homogénea.

Después se mezcla un c^3 de suero inactivado, con un c^3 de suspensión globular, se agita y se coloca en la estufa a 37°. La lectura de los resultados se hace a la hora, pero las reacciones positivas tienen lugar, siempre, antes de ese término.

CARACTERISTICAS DE LAS REACCIONES POSITIVAS

Como lo he dicho más arriba, la mezcla de suero con la suspensión globular da lugar normalmente a una suspensión opaca, color pardo y muy estable; después de algunas horas se hace visible la sedimentación espontánea, notándose el descenso gradual de la masa globular, con un límite superior bien definido, dejando ver en su parte superior una capa líquida perfectamente clarificada.

En cambio, cuando la reacción es positiva, muchas veces a los pocos minutos de colocar los tubos en la estufa a 37°, y siempre antes de la hora, se observa un cambio muy visible en la suspensión, consistente en la aparición de un fino floculado que se acentúa rápidamente, al mismo tiempo que comienza el descenso de ese floculado y con él la clarificación del líquido. Obsérvanse en pocos minutos, en el fondo del tubo, un casquete oscuro formado por los glóbulos sedimentados, y sobre él, el suero más o menos completamente límpido; es un fenómeno perfectamente definido y de observación fácil, que contrasta con la homogeneidad y estabilidad de las suspensiones en las reacciones negativas. Paso ahora a definir la influencia de algunos factores.

a) *De la inactividad del suero.* — La reacción tiene lugar igualmente con sueros inactivados a 55-56°, 30 minutos.

b) *Influencia de la temperatura.* — La temperatura de 55-56° inhibe la reacción, pero no destruye la propiedad o sustancia generadora. En efecto, colocando el sistema suero-más glóbulos formolados, inmediatamente de hecha la mezcla, a aquella temperatura, la reacción no se produce, pero si después se coloca a 37°, el fenómeno tiene lugar. De donde resulta que la temperatura de 55-56° inhibe la reacción pero no destruye la propiedad o sustancia activa, lo que se deduce igualmente de la circunstancia que los sueros inactivados dan la reacción. La mencionada temperatura tiene pues, un efecto altamente dispersivo para el sistema.

c) *Influencia de las proporciones relativas de los elementos del sistema.* — Para un c^3 de suspensión globular, la reacción tiene lugar con cantidades de suero que varían de $\frac{1}{8}$ de c^3 a un c^3, —pero es más nítida con cantidades de $\frac{1}{2}$ a 1 c^3;—cantidades menores no han sido ensayadas. En cuanto a la concentración de la suspensión de glóbulos formolados, parece más conveniente la que resulta de diluir el volumen normal en 2 o 3 veces su volumen de suero fisiológico.

d) *Influencia del envejecimiento de los sueros.* — La reacción tiene lugar igualmente con suero de varios días pero es más nítida e intensa con sueros extraídos dentro de las 48 horas.

e) *Influencia de la especie globular y del estado de formolado o no.* — La reacción tiene lugar tanto con glóbulos formolados ovinos, como humanos, pero parece más definida e intensa con los primeros;—queda por ensayar con los glóbulos de otras especies animales y con los humanos de leprosos, frente a los propios sueros y a los sueros de otros enfermos.

La reacción no tiene lugar con los glóbulos naturales, ovinos o humanos, sino excepcionalmente (1 solo caso de todos los observados),—esto tiene un alto valor porque permite diferenciarla del hecho muy probable de que un suero humano pueda aglutinar los glóbulos naturales de ovinos, independientemente de un estado de enfermedad; con esta circunstancia la reacción adquiere mayor valor específico.

DISCUSION DE LA NATURALEZA DE LA REACCION

1.° *Debe descartarse la interpretación de una simple sedimentación globular acelerada: a)* Porque la reacción tiene lugar casi exclusivamente con glóbulos formolados, siendo totalmente negativa con los naturales, ovinos o humanos, *b)* Porque el modo de producirse es característico, iniciándose por una aglutinación, bien manifiesta, a la que sigue luego la rápida sedimentación. La obser-

vación microscópica pone de relieve una verdadera aglutinación globular,—se observan islotes de glóbulos separados unos de otros por espacios libres. Por otra parte, el examen de muchos sueros de tuberculosos, enfermedad en la que se ha comprobado una mayor velocidad de sedimentación, ha mostrado siempre reacciones negativas.

2.º Los sueros positivos poseen un estado físico o una sustancia que aglutina los glóbulos formolados en las condiciones expuestas y que desaparece con el fenómeno; si después de producida una reacción, se separa por centrifugación el suero clarificado y se mezcla con una nueva cantidad igual de glóbulos formolados, sin suero fisiológico, la reacción no se vuelve a producir, dando así lugar a suponer que los glóbulos han absorbido la sustancia aglutinante activa.

Por otra parte, si a un sistema: glóbulos naturales de ovino más suero leproso, se le agrega formalina, en cantidades crecientes, hasta que resulte una concentración mucho mayor a la calculada teóricamente para el caso de glóbulos formolados, la reacción tampoco se produce dentro del plazo habitual,—hay razones pues para concluir, en que se trata de un fenómeno de aglutino-sedimentación función de la calidad de formolados de los glóbulos.

RELACION DE LOS ENFERMOS Y REACCIONES OBSERVADAS

1.ª Observación. — B. S.-Procedente de la Policlínica del Dr. José Etchechury. — Diagnóstico: Lepra. B. W. Hº. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva intensa.

2.ª Observación. — E. C.-De la Policlínica del Dr. Guillermo Rodríguez Guerrero. — Diagnóstico: Lepra. — R. W.: Negativa H8. — R. Glóbulos formolados: positiva intensa.

3.ª Observación. — L.- De la policlínica del Dr. J. May. — Diagnóstico: Lepra tuberculosa discreta. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

4.ª Observación. — W. M.-Del Hospital Fermín Ferreira. — Diagnóstico: Lepra. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

5.ª Observación. — B. C.-Del Hospital Fermín Ferreira. — Diagnóstico: Lepra. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

6.ª Observación. — M. C.-Del Hospital Fermín Ferreira. — Reacción de Wassermann H7. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

7.ª Observación. — R. V.-Del Hospital Fermín Ferreira. — Diagnóstico: Lepra. — R. de Wassermann H8. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

8.ª Observación. — L. F.-Del Hospital Fermín Ferreira. — Diagnóstico: Lepra. — Reacción de Wassermann H8. — Reacción de los glóbulos formolados: Negativa.

9.ª Observación. — J. L.-Del Hospital Fermín Ferreira. Diagnóstico: Lepra. — Reacción de Wassermann H8. — Reacción de los glóbulos formolados: Negativa.

10.ª Observación. — A. T. - Del Hospital Fermín Ferreira. — Caso dudoso de Lepra. — Reacción de los glóbulos formolados: Negativa.

11.ª Observación. — L. P.-Del Hospital Fermín Ferreira. — Diagnóstico: Lepra. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

12.ª Observación. — O. F.-De la Policlínica del Dr. Guillermo Rodríguez Guerrero. — Lepra. — Reacción de los Glóbulos formolados: Positiva.

13.ª Observación. — A. F.-De la Policlínica del Dr. G. Rodríguez Guerrero. — Lepra. — Reacción de los glóbulos formolados: Negativa.

14.ª Observación. — O. Y. — Caso de Lepra, del Dr. B. Vignoli. — Rreacción de los glóbulos formolados: Positiva.

15.ª Observación. — G. M. — Caso de Lepra, del Dr. B. Vignoli. — Rreacción de los glóbulos formolados: Negativa.

16.ª Observación. — X. A. R. S. — Caso interesante sin diagnóstico clínico. — De la clínica de los Dres. Varela Fuentes y Rubino. — Reacción de Wassermann H8. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva.

17.ª Observación. — X. B. (?).-De la clínica del Dr. E. Claveaux. — Sin diagnóstico clínico. — Reacción de Wassermann H8. — Reacción de los glóbulos formolados: Positiva muy intensa.

18ª Observación. — L. de F.-De la policlínica del Dr. Guillermo Rodríguez Guerrero. — Diagnóstico: Lepra. — Rreacción de Wassermann H°. — Reacción de los glóbulos formolados: Negativa.

Sobre un total de 18 casos, comprendiendo dos de lepra dudosos positivos y una lepra dudosa negativo, hemos obtenido el siguiente resultado:

Reacciones Positivas: 12 casos. Porcentaje 66.6.
Reacciones Negativas: 6 casos. Porcentaje 33.3.

LA REACCION EN OTROS ESTADOS PATOLOGICOS

Primera observación. — Sobre un total de 713 sangres examinadas desde Julio de 1925 a Junio de 1926, sólo excepcionalmente fué observado el fenómeno; lo que elimina seguramente la probabilidad de que se trate de un hecho más o menos generalizado.

Segunda Observación. — Sobre un total de doce sangres del Hospital Fermín Ferreira, comprendiendo casos de tuberculosis en diversos períodos de evolución, escarlatina, etc., todas las reacciones fueron negativas.

Tercera observación. — En diez sangres de enfermos del sistema nervioso, hemiplegias, paraplegias y Parkinson, procedentes

de la clínica del Dr. Claveaux (Hospital Pasteur), todas las reacciones fueron negativas.

Cuarta observación. — Sobre un total de cien sueros examinados desde el 23 de Abril del corriente año, hasta la fecha, comprendiendo 82 Bordet Wassermann negativos y 18 positivos, de los cuales 14 H° y 4 parciales, sólo se encontró la reacción positiva, en dos casos B. Wassermann negativos, los dos sin diagnóstico clínico y con signos sospechosos de lepra y que serán historiados en esta misma sesión por los Dres. Varela Fuentes y Rubino y el Dr. E. Claveaux.

PARALELISMO CON LA REACCION DE B. WASSERMANN

Desgraciadamente, nuestra observación abarca en este momento un número muy pequeño de casos y será por lo tanto difícil sacar una conclusión definitiva. Sobre un total de 10 casos de lepra con las dos reacciones se observa:

Con B. Wassermann positivo: 3 casos.

Con la reacción de los glóbulos formolados: 7 casos.

Hay, pues, una diferencia muy grande en favor de nuestra reacción, — hasta el punto que están invertidos los porcentajes.

No siempre hay correlación entre el Bordet Wassermann cuando es positivo y nuestra reacción: L. de F. tiene Bordet Wassermann positivo y la de los glóbulos formolados negativa.

VALOR DE LAS DISTINTAS REACCIONES SEROLOGICAS EN LA LEPRA

Después del descubrimiento de Bordet Gengou y de su aplicación por Wassermann y sus colaboradores para el diagnóstico de la sífilis, muchos son los trabajos que se han publicado también sobre el serodiagnóstico de la Lepra por la desviación del complemento; pronto se pudo comprobar el gran poder de desviación del complemento por los sueros leprosos frente a muy variados antígenos, lo que ha hecho decir a Jeanselme que los sueros leprosos son poli-fijadores.

Ha sido comprobado por muchos investigadores, que los sueros leprosos desvían intensamente el complemento frente a antígenos tan variados como los siguientes: sifilíticos, tuberculosos, carcinomatosos, sarcomatosos, etc., lo que le quita todo valor específico.

Entre los trabajos que deben destacarse, merecen especial mención los de Eitner y sus colaboradores, quienes han demostrado el gran valor antigeno de los extractos de lepromas, llegando a obtener un alto porcentaje, a veces la casi totalidad de reacciones positivas con sueros leprosos.

Pero, posteriormente, Jeanselme y Vernes, en un estudio crítico experimental, llegan a la conclusión de que la reacción de Eitner es también positiva en un gran porcentaje en la sífilis (33 sobre 44) a veces y es negativa en casos de lepra máculo-anestésica. No hay duda pues, que la reacción pierde así casi todo su valor, puesto que precisamente el gran interés está en obtener una reacción que denuncie específicamente la lepra, separándola de la sífilis donde coexiste o diferenciándola donde haya dudas, las que se presentan muy frecuentemente en los períodos iniciales y aun mismo avanzados de las formas nerviosas.

Es éste un punto donde nuestra reacción se muestra desde ya, superior a los métodos precedentes; desde que es positiva en muchos casos con Bordet Wassermann negativo. En una palabra, ella no es correlativa a los métodos de desviación del complemento, contrariamente a la reacción de Eitner y Bordet Wassermann, que dan resultados concordantes, tanto en la sífilis, como en la lepra, a pesar de emplearse antígenos completamente diversos.

Con la presente comunicación no he pretendido dejar definitivamente instituída una nueva reacción de la lepra, sino que he perseguido las siguientes finalidades:

1.º Poner de relieve la existencia de un fenómeno biológico, grueso, extraordinariamente frecuente en la Lepra, que es muy raro o no existe en otros estados patológicos, por lo menos con tanta intensidad.

2.º Despertar interés por una colaboración adecuada si es que al hecho en cuestión se le acuerda algún valimento, a fin de esforzarnos por aumentar los recursos para un diagnóstico precoz de tan temible enfermedad.

Con tal objeto, me pongo a disposición de los señores médicos presentes.

NOUVELLE RÉACTION SÉROLOGIQUE DANS LA LÈPRE

(COMMUNICATION VI)

Par le Dr. Miguel C. Rubino
(Montevideo)

Le présent travail, qui se rapporte à une réaction trouvée dans les sérums lépreux, est basé sur un phénomène d'agglutination et de sédimentation de globules formolés, spécialement avec ceux de moutons, réaction qui est spécifique dans la Lèpre, au sens que ce terme a dans les réactions biologiques connues.

Cette spécificité dans la Lèpre et les faits fondamentaux de mes travaux ont été confirmés par les professeurs Marchoux et Caro de l'Institut Pasteur de Paris. ("Annales de l'Institut Pasteur", T. XIII, N.º 5). (*)

J'ai commencé mes travaux, qui eurent comme origine l'étude de méthodes de désensibilisation dans la R. de Bordet Wassermann, au commencement de 1926. Les premiers résultats furent exposés à la Sociedad de Dermatologia y Sifilografia de Montevideo en juin 1926.

Quelques jours après, je fis quelques démonstrations dans le Laboratorio Central del Instituto Profiláctico de la Sífilis en présence du Directeur de ce Laboratoire, et de quelques professeurs et dermatologues. Les sérums me furent remis numérotés, sans aucune indication de l'origine et provenants des Hôpitaux et Polycliniques de notre ville. Les résultats réussirent au sens que les réactions positives correspondirent seulement à des sérums lépreux, remis par divers dermatologues, quoiqu'on eût soumis à la même épreuve des sérums des maladies plus variées: syphilis en activité, tuberculose en activité, maladies de la peau, anémies, etc.

Postérieurement, je présentai une deuxième communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo (REVISTA MÉDICA DEL URUGUAY, T. XXIX, N.º 9), apportant un plus grand nombre d'eléments de jugement et quelques modifications à la technique.

(*) NOTE IMPORTANTE: *Quelques mois après notre deuxième communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo, nous avons fait deux communications à la Sociedad Argentina de Biologia (7 octobre 1926) et de Dermatologie de Montevideo (novembre 1926) en exposant l'influence de quelques facteurs sur la réaction et en établissant aussi les conditions qui distinguent la réaction des sérums lépreux de celle des hétéro-agglutinants qui peuvent être prises par des positives.*

Nous regrettons que —dû à la difficulté avec laquelle la diffusion de nos publications se réalise— elle ne soient pas connues par les Prof. Marchoux et Caro.

Au mois de septembre 1926, jai visité la République Argentine où j'ai pu continuer mes investigations dans l'Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene, en utilisant le matériel de l'Hôpital Muñiz et les conseils du Dr. Sordelli. Les résultats de ces investigations furent exposés dans la Sociedad Argentina de Biología le 7 octobre 1926 et publiés dans la Revue de la même Société (An II, N.º 6) et dans les Comptes Rendus de la Société de Biologie (Paris) en 1927 (N.º 3).

Au mois de novembre 1926 j'ai presenté ma quatrième communication à la Sociedad de Dermatología y Sifilografía de Montevideo (REVISTA MÉDICA DEL URUGUAY, Seccional de Dermatología y Sifilografía, 1927).

Dernièrement, j'ai présenté ma cinquième communication à la Sociedad de Biología de Montevideo.

Au mois de mai 1928 les professeurs Marchoux et Caro, de l'Institut Pasteur de Paris, publièrent un travail, confirmant les notions fondamentales établies par moi et attribuant une valeur spécifique à la Réaction. ("Annales de l'Institut Pasteur", T. XLII, 1928, N.º 5).

DESCRIPTION DE LA RÉACTION

Première technique

(Présentée à la Sociedad de Dermatología y Sifilografía et à la Sociedad de Medicina de Montevideo).

Mode d'opérer: On prend:

1.º Des sérums inactivés et non-inactivés des malades en examen.

2.º Suspension de globules formolés de mouton, préparés de la manière suivante: On lave d'abord bien les globules avec de l'eau physiologique au 8 ½ par mille comme pour le Wassermann. Après les avoir complétés à leur volume original de sang, on y ajoute le 10 % de formaline en mélangeant bien et les laissant pendant 24 heures à la température du milieu. Après cela, on fait le lavage des globules rouges formolés avec du sérum physiologique au moins 4 fois et on les complète au double volume avec du sérum physiologique. Il est absolument nécessaire, dans tous ces lavages, incorporer bien les globules rouges au sérum de manière qu'il en résulte une suspension homogène.

Après cela, on mêle un centimètre cube de sérum avec un centimètre cube de suspensión globulaire. On agite et on le met à l'étuve à 37º.

La lecture finale des résultats, on la fait après une heure, mais les réactions positives ont lieu toujours avant ce terme, en général entre 10 et 30 minutes.

Caractéristiques des réactions positives. — Le mélange du sérum avec la suspension globulaire, donne, normalement, une suspension opaque, de couleur châtaigne, très durable. Au bout de quelques heures on voit la sédimentation spontanée, en observant la descente graduelle de la masse globulaire avec une limite supérieure bien définie laissant voir une couche liquide parfaitement clarifiée dans sa partie supérieure.

Quand la réaction est positive, souvent après quelques minutes d'étuve à 37° et toujours avant l'heure, on observe une altération bien visible de la suspension, consistant en l'apparition d'une floculation qui s'accentue rapidement, en même temps qu'on observe la descente des globules, suivie de la clarification du liquide.

Au bout de quelques minutes on observera au fond du tube un culot obscur, formé par des globules sédimentés et sur lui le sérum, plus ou moins complètement limpide. C'est un phénomène parfaitement défini et facile à remarquer qui contraste avec l'homogénéité et la stabilité des suspension dans les réactions régatives.

Contrôles. — Après ma deuxième communication nous fimes l'observation que la sédimentation des globules formolés pouvait se présenter dans quelques sérums hors de la Lèpre. Mais dans ces cas, il faut l'attribuer à l'existence d'un pouvoir hétéro-agglutinant qui se présente, comme nous verrons plus tard, en certains cas pathologiques et qui se fait bien visible avec les globules naturels de mouton. Pour écarter ces sérums, il suffit prendre un autre tube dans la réaction, utilisant au lieu de la suspension des globules formolés une suspension de globules naturels. Les sérums simplement hétéro-agglutinants sédimentent ces globules avec la même ou plus d'intensité que les globules formolés.

Pour effectuer la réaction avec ces contrôles, il est nécessaire utiliser le sérum inactivé pour éliminer le complément afin d'éviter l'hémolyse des globules naturels.

TECHNIQUE ACTUELLE

Quelques mois, après avoir commencé nos expériences nous pouvions, par des travaux réalisés dans la République Argentine et continués dans notre pays, travaux, dont j'exposerai plus tard les résultats, introduire quelques modifications dans notre réaction afin de la sensibiliser et lui assurer une valeur spécifique avec le but d'écarter les sérums hétéro-agglutinants. Les fondaments de ces mo-

difications figurent dans les communications Ns. 3 et 4 (Sociedad de Biología Argentina, 7 octobre 1926 et Sociedad de Dermatología de Montevideo, novembre 1926).

Eléments nécéssaires

1.° *Sérum en examen.* — Quoique la réaction ait lieu avec du sérum non-inactivé, comme il fut décrit d'abord par moi, on à bésoin d'un sérum inactivé pour l'usage des tubes-contrôles avec des globules naturels. Nous inactivons le sérum à 55-56° pendant 20-25 minutes sans laisser monter la température jusqu'à 56°. Dans ces conditions, selon différentes expériences que nous avons réalisées, les sérums ne perdent aucune activité.

Il convient que les sérums — quoiqu'ils conservent leur propriété pendant quelques jours — soient frais. Les professeurs Marchoux et Caro ont constaté que les sérums faibles perdent leur activité en 7 jours dans la glacière et en 4 jours dans la température du milieu. Nous-mêmes, nous avons constaté parfaitement la diminution de l'activité à cause de vieillissement, les réactions se faisant peu nettes.

2 centimètres cubes de sérum suffisent à peu près pour la réaction.

2.° *Globules formolés.* — On peut les préparer de la même manière que nous avons décrite dans la technique antérieure, c'est à dire, lavage des globules naturels comme pour le Wassermann, formolation au 10 % pendant 24 heures et lavage ultérieur avec du sérum physiologique. Mais il faut remarquer que les globules formolés au 10 % dans leur volume original, tendent, après 24 heures, à se prendre en une masse gélatineuse qui les fait absolument inutilisables. C'est pourquoi nous préférons maintenant la technique suivante:

Les globules naturels, après un lavage intense, sont portés à leur double volume avec une solution physiologique et au total du volume on ajoute le 10 % de formol. Exemple: globules naturels lavés 10 c.c., solution physiologique 10 c.c., formol 2 c.c. On agite bien. Dans ces conditions, les globules sont parfaitement formolés au bout de 24 heures ou moins et ils peuvent être conservés pendant plusiers jours; on lave seulement la quantité nécessaire pour les réactions du jour. Les globules formolés se conservent aussi après le lavage 2-3 jours, mais ils s'inutilisent graduellement. Il n'est pas recommandable d'opérer avec des globules formolés après deux jours de leur lavage.

La richesse globulaire a une grande importance dans la réaction, comme nous l'avons exprimé dans nos communications antérieures, et en général nous recommandons une suspension dans du

sérum physiologique qui correspond au double du volume initial. De considérables différences peuvent se présenter selon l'origine des globules, quoiqu'on prenne la précaution de ne pas entrainer des globules dans les lavages. En effet, il y a des différences appréciables dans la richesse globulaire des différents animaux et cette différence est très considérable entre les animaux soumis à des saignées fréquentes comme ceux qu'on a dans les laboratoires pour le Wassermann et les animaux des abattoirs. Dans ceux-ci le nombre des globules rouges est toujours supérieur aux premiers. La richesse appropriée dans les proportions avec lesquelles nous travaillons actuellement est de 4.000.000 par millimètre cube. Si on désire renoncer à la numération globulaire ont peut opérer avec le double volume initial pour les globules qui proviennent d'animaux saignés fréquemment et avec le triple volume initial pour les globules des animaux d'abattoirs.

3.º *Globules naturels.* — Les globules naturels sont lavés avec une solution physiologique comme pour le Wassermann. Il est à préférer qu'ils soient de la même origine que ceux qu'on utilise pour la formolation ce qu'on peut obtenir si l'on dispose de moutons dans le laboratoire, parce que dans ce cas on écarte de probables facteurs individuels qui peuvent influencer d'une manière différente sur la réaction. Il faut que les globules soient frais. Après le lavage on complète le volume au titre des globules formolés.

4.º *Mode d'opérer.* — La réaction complète comprend six tubes, trois pour la série de globules formolés et trois pour la série de globules naturels.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Sérum en examen	0.5	0.3	0.1	0.5	0.3	0.1
Solution Physiologique	0.3	0.5	0.7	0.3	0.5	0.7
Suspension de globules formolés	0.2	0.2	0.2	—	—	—
Suspension de globules naturels	—	—	—	0.2	0.2	0.2

D'abord on met le sérum en examen et après la solution physiologique qui égale les volumes; on agite et on ajoute ensuite les suspensions globulaires. De cette manière on évite que les globules se mettent en contact direct avec le sérum pur.

Agiter bien et mettre les tubes à l'étuve à 37º.

Lecture des résultats

On peut commencei les lectures après 20 minutes, faire une deuxième lecture après 30 minutes et la finale après une heure.

Comme nous l'avons dit, la plupart des sérums lépreux donnent la réaction avant une demi-heure, mais il y en a qui peuvent la

donner ou se faire plus visibles un peu plus tard. Sans compter l'activité du sérum, la richesse de la suspension globulaire a une grande influence sur le temps indiqué.

Les fortes réactions positives se caractérisent par une sédimentation complète dans les trois tubes de globules formolés avec le liquide surnageant clair; les réactions faibles se caractérisent par une sédimentation complète ou presque complète dans le premier tube, partielle dans le deuxième tube et plus légèrement partielle dans le troisième. L'apparition d'un petit culot uniforme dans les trois tubes de globules formolés ne constitue pas d'indice d'une réaction positive, mais correspond à la sédimentation spontanée. Ces observations sont d'une grande importance pour travailler avec le schéma que nous venons d'exposer; en cas de doutes, on pourra travailler, au commencement, pour acquérir l'expérience, avec des suspensions globulaires plus riches, par exemple ajoutant 1 ½ ou deux fois la quantité de suspension indiquée dans le tableau. De cette façon, les réactions positives sont plus frappantes parce que, dans cette condition, la sédimentation spontanée es moins visible, dû à l'opacité plus grande du mélange. On compense le surplus de suspension globulaire, en diminuant l'eau physiologique qui égale le volume.

Pour la lecture finale on observera la conduite suivante:

1.º Toute réaction dans laquelle la sédimentation se produit seulement dans les tubes des globules formolés, *est positive.*

2.º Si la sédimentation se produit dans les trois tubes des globules formolés quoique la sédimentation apparaisse dans le premier tube (N.º 4) de globules naturels, la réaction est *positive* aussi.

3.º Si la sédimentation apparaît avant ou en même temps, dans la série des globules naturels que dans les tubes des globules formolés, la réaction est *négative.*

Nous donnons ces normes schématiques pour faciliter l'interprétation des résultats, qui se sont montrés suffisants, jusqu'à ce jour, pour nos examens. *Mais nous insistons que le fait fondamental qui sépare les sérums lépreux des simplement hétéro-agglutinants, est constitué par le fait que les premiers agglutinent intensivement les globules formolés; quand ils ont une action sur les globules naturels c'est d'un degré toujours inférieur.* Les seconds, au contraire, ont une action remarquable sur les globules naturels et moins intensive ou même aucune (surtout avec les globules du cobaye) sur les formolés. En nous tenant à ces normes, nous n'avons obtenu aucune réaction positive hors de la Lèpre sans prétendre à donner une valeur absolue à notre réaction dont la valeur définitive résultera seulement d'une application plus étendue.

Lecture invertie. — Après avoir fait la réaction, quand tous les globules ont déjà sédimenté dans les réactions positives comme dans les négatives, on observe un phénomène intéressant, après quelques heures. Si l'on agite doucement les tubes, ceux de réaction positive donnent un troublement immédiat d'autant plus intensif que la réaction a été positive. Dans les réactions négatives, au contraire, les tubes restent clairs malgré l'agitation. Ce fait a la particularité de faire visibles des réactions faibles qui ne l'étaient pas dans la lecture directe.

Nos résultats, cependant, sont donnés toujours par la lecture directe.

INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS — ÉTUDE DE LA NATURE DE LA RÉACTION

Action de la température sur les sérums

Selon nos expériences, le chauffage antérieur des sérums à 55-56° pendant 20-25 minutes, n'altère pas la substance spécifique qui produit la réaction.

Des expériences comparatives faites avec des sérums inactivés dans ces conditions et des sérums non-inactivés en dilutions croissantes nous permettent de faire cette conclusion. Comme, actuellement, nous faisons la réaction avec des contrôles de globules naturels pour écarter les sérums hétéro-agglutinants, nous employons systématiquement les sérums inactivés dans les conditions indiquées.

Les professeurs Marchoux et Caro ont fait remarquer que la température de 56° pendant une heure inactive le pouvoir spécifique des sérums lépreux.

Action de la température sur la réaction

La température plus favorable paraît osciller autour de 37° quoique, dans notre climat, les réactions peuvent avoir lieu encore à une température du milieu. Une température de 55-56° trouble la réaction, mais ne détruit pas la substance active.

Pour mettre en relief ces faits, on doit opérer dans des conditions très précises et porter tous les éléments du système d'abord à cette température. Si nous mettons, par exemple, des sérums lépreux et la suspension appropriée de globules formolés au bain-marie à 55° et si on les mélange après quelques minutes dans les proportions convenables en laissant le mélange à la température de de 55°, la réaction ne se produit pas. Mais si nous retirons le mélange et si nous le mettons à 37°, la réaction se produit.

Influence des proportions relatives des éléments du système

Au commencement, j'ai travaillé, en général, avec 1 c.c. de sérum et 1 cc. de suspension globulaire premièrement formolée et portée à son double volume initial avec du sérum physiologique. Mais dans mes derniers travaux j'ai constaté que la richesse globulaire variait beaucoup d'une opération à l'autre et que ces variations eurent une influence marquée sur la marche de la réaction. J'ai établi que les suspensions se doivent employer dans une proportion qui n'excède pas de 4.000.000 de globules par millimètre cube ce qui résulte si on complète le volume initial à trois fois des animaux pas saignés, avec le sérum physiologique. Si on ne fait pas la numeration avant, nous conseillons cette méthode de procéder pour éviter la possibilité de ne pas observer les réactions par excés globulaire.

Pour une quantité fixe de sérum, en faisant diminuer progressivement la quantité globulaire, la réaction se sensibilise dans le sens d'une proportion plus grande de positives. Nous opérons de la façon suivante. Trois tubes numérotés de 1 à 3 avec 0.50 c.c. de sérum chacun d'eux au premier on ajoute 0.35 c.c. de suspension globulaire, aun deuxième 0.25 et au troisième 0.15, et nous complétons ensuite les volumes avec du sérum physiologique. Dans ces conditions nous obtenons avec les sérums lépreux une proportion plus grande de positives.

En opérant avec les mêmes volumes de suspension globulaire et de quantités décroissantes de sérum, le phénomène se produit dans quelques sérums même avec ⅛ qui donne la proportion de 1/16 pour le volume total. Nous opérons dans les conditions suivantes: (Trois tubes, avec 0.25 c.c. de suspension globulaire), dans chacun d'eux dans le premier 0.50 de sérum, dans le deuxième 0.25 et dans le troisième 0.125. Nous complétons les volumes à 1 c.c. (de manière que les proportions de sérums soient de ½, ¼ et ⅛ respectivement). Dans ces conditions, les réactions positives se produisent généralement dans les trois tubes mais toujours dans les deux premiers.

Nous devons mettre en relief un fait, à notre avis, très important: Quoique dans la première manière d'opérer, c'est à dire, avec des quantités décroissantes de globules, le nombre de réactions positives augmente dans le troisième tube et dans la deuxiéme méthode d'operer, avec des quantités décroissantes de sérums, le nombre plus grand de positives se produit dans les deux premiers tubes, ces proportions ne représentent pas l'optimum pour le production du phénomène. En effet: dans le premier schéma pour les réactions franches, le phénomène se produit presque d'une façon générale, d'abord dans les deux premiers tubes et ensuite dans le troisième.

Le plus grand nombre de positives dans le troisième tube se rapporte toujours à des réactions lentes Cette maniére de se prononcer et tellement régulière que-quand on observe la production rapide du phénomène dans le troisième tube — on doit penser toujours qu'on est en présence d'une suspension globulaire non appropriée. Quelque chose d'analogue se passe dans le deuxième dispositif quoique pas avec la même régularité. Vis-à-vis du même volume de suspension globulaire, la réaction est quelque-fois plus précoce avec les quantités plus petites de sérums, quoiqu'au fin le total des positives soit plus grand dans les tubes qui ont plus de sérum. Ces faits mettent bien en relief l'influence des proportions relatives des éléments en présence. Ce phénomène est compris aux lois de la réaction de colloïdes entre eux et la floculation ressemble bien à celle qui se produit entre les toxines et les antisérums. Ce phénomène fait aussi penser que, si on utilise une échelle étendue de proportions et si on opère dans ces conditions très précises de température initiale et pendant l'expérience, on peut obtenir pour chaque sérum une valeur spéciale qui sera l'index d'agglutino-sédimentation, élément très intéressant s'il résultât pour étudier la possibilité d'oscilations humorales dans une maladie d'une évolution si prolongée comme la Lèpre.

Influence de l'état de formolation des globules

La première question qui se présenta à nous était, si la réaction pouvait réussir aussi avec les globules à l'état naturel et si elle ne serait plus sensible à cause de l'altération que le formol produit, fixateur par excellence des tissus animaux ce qui pourrait avoir comme conséquence le ralentissement du phénomène ainsi comme il évite l'hémolyse des globules.

En opérant dans les conditions appropriées nous avons prouvé que la réaction est liée à la condition du formolé et qu'elle ne se produit pas en général avec les globules à l'état naturel, non plus si on ajoute au système du formol une quantité en proportions croissantes, qui supèrent en beaucoup le calcul théorique du formol que les globules formolés pourraient retenir dans leur stroma. *Cette conduite différente vis-à-vis des globules formolés et naturels est le caractéristique principal des sérums lépreux.* Opérant avec 3 tubes avec des quantités fixes de globules et décroissantes de sérum selon les conditions que nous venons d'exposer pour les globules formolés, on ne peut voir qu'exceptionnellement l'agglutino-sédimentation des globules naturels dans le premier tube, et nous ne l'avons jamais observé d'une façon définitive dans les deux autres tubes et quand elle s'y produit, elle est toujours plus lente et mois complète.

Dans les sérums non-lépreux, au contraire, qui ont présenté la réaction positive, sept cas jusqu'à présent, l'agglutination des

globules naturels a été toujours plus précoce et plus intensive qu'avec les formolés de manière qu'elles se sont produites souvent avant la termination de la réaction et quelquefois se produit un block globulaire qui ne se désagrège pas par simple agitation. Il semble que, hors de la Lèpre, la réaction des globules peut se présenter par extension et non qualitativement, étant plutôt l'expression d'un panaglutinisme que le formol ne peut pas éviter quoique nous ayons constaté quelques cas dans lesquels, malgré un fort agglutinisme pour les globules naturels, le phénomène ne se présenta pas avec les formolés.

L'individualité ovine semble avoir une grande influence sur la conduite des globules naturels parce que nous avons constaté que cela s'observe plus fréquemment avec certains globules selon l'origine. Chez cinq moutons de l'Instituto Bacteriológico nous avons observé que le sérum N.º 93 agglutinait les globules naturels du mouton N.º 2 et qu'il n'agglutinait pas, cependant, ceux des autres moutons. A l'Uruguay, j'ai observé le même fait.

L'existence de groupes sanguins dans les moutons est vraisemblabe comme Bialosuknia et Kaczkowski l'ont affirmé quoiqu'ils semblent n'avoir pas d'importance practique, à cause de la conduite différente comme nous l'avons déjà exprimé.

Les professeurs Marchoux et Caro (V. le travail cité) étudiant l'action du formol en concentrations différentes sur les sérums lépreux sont arrivés à la même conclusion, c'est à dire, que la sédimentation no se doit pas à une action directe du formol.

Influence du degré de la formolation des globules

Dès mes premières expériences j'ai pu me convaincre qu'il fallait certain degré de formolation afin que la réaction se produit, ce qu'on obtient par l'action de la formoline au 10 % pendant 24 heures de manière que les globules furent parfaitement fixés et ne s'hémolysèrent pas dans l'eau distillée. Cette fixation, nous l'avions obtenue par la formoline au 5 %, mais la laissant actuer plus longtemps; seulement nous avons suivi la technique au 10 % parce qu' elle nous parut plus convenable. La formolation au 10 % dans la forme exposée par nous-mêmes sur le volume de suspension globulaire normale, ne se peut pas porter à plus de 24-48 heures parce que les globules tendent à se prendre en une masse gélatineuse et les suspensions, après le lavage, ne sont pas homogènes. Mais, si au lieu d'opérer sur le volume original, dans la forme indiquée d'abord par nous, nous ajoutons après 24 heures de formolation au 10 % le même volume de sérum physiologique et si nous complétons d'abord la suspension globulaire à son double volume avec le sérum physiologique ajoutant ensuite le 10 % de formoline, alors nous pouvons faire actuer le formol plus longtemps, sans que l'al-

tération indiquée apparraise, ce qui permet étudier parfaitement l'influence de l'intensité de formolation. Nous avons observé des suspensions globulaires sous l'action du formol au 10 % pendant plus d'un mois sans remarquer une altération. La condition absolument nécessaire est que les globules soient d'une extraction récente e d'abord bien lavés avec la solution physiologique avant d'y ajouter le formol. La présence de sérum, aussi en petites quantités, altères la suspension.

Nous avons étudié l'influence de l'intensité de la formolation sur la réaction en quelques sérums lépreux.

Conditions de l'expérience

C'est une condition indispensable que les différentes suspensions contiennent le même nombre de globules rouges par mm.^{3}, parce que la richesse globulaire a une influence très marquée sur la sensibilité de la réaction, comme nous l'avons déjà dit.

Suspension N.º 1	Globules de mouton lavés et complétés à leur volume normal . . .	10 c.c.
	Formol	1 "
	24 heures et après lavage	
Suspension N.º 2	Globules rouges dans les mêmes conditions	10 c.c.
	Solution physiologique	10 "
	Formol	2 "
	24 heures et après lavage	
Suspension N.º 3	Globules rouges dans les mêmes conditions	5 c.c.
	Solution physiologique	15 "
	Formol	4 "
Suspension N.º 4	Globules rouges dans les mêmes conditions	10 c.c.
	Formol	2 "
	Solution physiologique	10 "
	41 jours de formolation et après lavage.	

Nous avons fait la numération globulaire de toutes les suspensions et les égalâmes à 5.000,000 par mm. cube.

Nous usons les Ns. 21 et 38 de l'Enquête sur la Lèpre comme sérums lépreux, dilues au ¼ avec une solution physiologique.

Schéma pour chaque sérum et suspension globulaire

Tubes	1	2	3	4
Sérum dilué au ¼	0.8	0.6	0.3	0.1
Solution physiologique	—	0.2	0.5	0.7
Suspension globulaire	0.2	0.2	0.2	0.2

Tableau résumant les résultats

Le nombre des x indique l'intensité de la réaction.

	Sérum 21				Sérum 38			
Tubes	1	2	3	4	1	2	3	4
Suspens. 1	xxxx	xxxx	xxx	x	xxx	xx	x	—
" 2	xxxx	xxxx	xxxx	xx	xxxx	xxxx	xx	x
" 3	xxxx	xxxx	xxxx	xx	xxxx	xxxx	xx	x
" 4	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xx

De la lecture du tableau résulte clairement la supériorité des suspensions 2 et 3 sur 1, et la supériorité du numéro 4, qui a 41 jours de formolation, sur les autres trois. Donc, le temps de formolation favorise la réaction et la sensibilise.

L'influence de l'espèce. — Ce qui nous venons d'exposer se rapporte seulement aux globules de l'espèce ovine. Quant aux autres espèces, il y a beaucoup de discordances entre eux et l'ovine et vis-à-vis du formol. Il y a des espèces qui se fixent bien et d'autres qui se fixent mal. Les humains, ceux du cobaye et du lapin se fixent mal, ceux du pigeon, lama, chèvre et bovines se fixent bien. La conduite dans la réaction est differente aussi.

Les premiers que nous avons examinés furent les humains d'une origine déterminée; les réactions se produirent régugliérement avec des globules formolés et furent négatives avec les naturels, tandis qu'avec des globules d'une origine différente, les réactions furent aussi positives avec des globules naturels. Ce fait peut s'interprêter facilement par les groupes sanguins. Afin d'étudier la conduite des globules de cette espèce, il faut considérer ce facteur décisif. Les globules de lama présentèrent des résultats concordants avec ceux de moutons, quoique les agglutinations naturelles sont plus fréquentes. Parmi les globules de bovins, seulement les formolés sont agglutinés. Nous n'avons observé aucune agglutination pour les naturels; le nombre des résultats positifs est inférieur à celui des moutons; avec ceux de chèvre s'offrit le fait important, qu'aucune réaction positive ne se produit. Il faut remarquer, cependant, que les suspensions de globules de cette espèce sont beaucoup plus stables que celles des autres dû au petit diamètre des erythrocytes

quoique nous ne pensons pas que cette circonstance puisse avoir une grande influence parce que la surface se trouve augmentée et par cette raison il semble que le phénomène devrait se produire plus intensivement, surtout dans sa phase d'agglutination.

Les globules de cheval, lapin et cobaye doivent, pour être fixés, être complétés à leur double volume initial après le lavage, en y ajoutant le 10 à 15 % de formol avec une permanence de 24 heures. Presque la totalité des sérums humains présentent des agglutinines pour ces espèces globulaires.

Il faut remarquer spécialement la conduite des globules du cobaye. En effet: Diverses expériences m'ont montré que la plupart des sérums humains agglutinent les globules naturels de cette espèce, *tandis que les formolés son seulement agglutinés par les sérums lépreux. Cela prouve clairement que les globules naturels et formolés peuvent être influencés par des substances ou propriétés différentes des sérums et dans les sérums lépreux la réaction avec les globules formolés est due à une substance ou propriété spécifique*

FREQUENCE DE LA RÉACTION DANS LA LÈPRE

Dans ma communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo, j'ai manifesté que j'avais obtenu sur un total de trente cas 23 réactions positives, c'est à dire, un pourcentage de 76,6 %.

En novembre 1926, j'ai exposé dans la Sociedad de Dermatologia de Montevideo, les résultats obtenus en quatre-vingt-douze cas de Lèpre de l'Hospital Muñiz de Buenos Aires. En quatre-vingt-douze cas il y eut soixante-huit réactions positives ce qui représente un porcentage de 74 % et une proportion générale de 75 %.

Postérieurement, dans l'année courante, nous avons examiné un nombre abondant, grâce à l'amabilité de quelques dermatologues, spécialement du Dr. Rodriguez Guerrero, Chargé de l'Enquête sur la Lèpre dans notre pays par le H. Consejo Nacional de Higiene.

Je passe maintenant à exposer les résultats obtenus avec la technique actuelle communiquée à la Sociedad de Dermatologia en novembre 1926 que j'indique dans le présent travail avec de légères altérations.

Résultats de la réaction. — Sérums de Lèpre confirmée

Sérums	Réaction	Sérums	Réaction
B. V. H. F. Ferreira	Positive	C. H. H. F. Ferreira	Négative
A. C. "	Positive	M. C. "	Positive
M. S. "	Positive	A. Ch. "	Positive
W. M. "	Positive	B. "	Positive

Sérums	Réaction	Sérums	Réaction
A. U. "	Positive	S. S. "	Positive
T. G.	Douteuse	P. B. "	Positive
L. Polic. H. Maciel	Positive	P. M. "	Positive
M. C.	Positive	E. B. "	Positive
T. A. H. Pasteur	Négative	A. B. "	Positive
M. C. G. "	Positive	A. G. M. H. F. Ferr.	Positive
Ad. M. H. F. Ferreira	Positive	E. S. "	Positive
E. C. (Salto)	Positive	A. B. (Paysandú)	Positive
G. Q. H. Pasteur	Positive	M. L. (Salto)	Positive
J. P. (Paysandú)	Positive	T. T. de T. (Salto)	Positive
H. R.	Négative	B. F.	Positive
A. T. (Salto)	Positive	A. P. (Salto)	Positive
G. M. (Montev.)	Positive	E. P. (Salto)	Négative
D. P. (Salto)	Négative	J. B. (Montevideo)	Positive

Résumé:

Sur 38 sérums de Lèpre confirmée, 32 réactions positives, 1 douteuse et 5 négatives, c'est à dire, un pourcentage de 84.2 % de positives. Parmi les 5 cas négatifs il y a trois de l'intérieur du pays dont les sangs furent remis par la poste, ayant passé quelques jours avant que la réaction fût réalisée.

LA RÉACTION EN D'AUTRES CAS PATHOLOGIQUES

Dans ma deuxième communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo j'ai communiqué que nous n'avions trouvé aucume réaction avec les caractères que j'ai décrits pour la Lèpre, sur un total approximatif de 800 sérums examinés jusqu'à ce jour.

Entre ces súrums figuraient les maladies plus variées: tuberculose en activité, syphilis en activité, des anémies graves, urémies, intoxications, maladies de la peau, etc.

Postérieurement, par l'application systématique de ma technique spéciale dans la déviation du complément pour la syphilis qui consiste en la desénsibilisation et décomplémentement des sérums par les globules formolés (travail présenté à la Conferencia Sudamericana de Microbiologia e Higiene, Buenos Aires, 1926), j'ai examiné un total approximatif de 2,000 sérums et nous n'avons observé aucune réaction positive, hors de la Lèpre. Quand l'agglutino-sédimentation des globules formolés apparut dans quelque sérum—ce qui se produit exceptionnellement—nous prouvions toujours que c'était dû à un phénomène d'hétéro-agglutination. Le Dr. Bacigalupo dans la République Argentine et moi à l'Uruguay, nous avons remarqué le fait inté-

ressant que dans quelques états pathologiques, spécialement dans les fractures et les contusions, des hétéro-agglutinines apparaissent pour les globules de moutons et d'autres espèces (Communication à la Sociedad de Biologia de Montevideo).

VALEUR DES DIFFERENTES RÉACTIONS SEROLOGIQUES DANS LA LÈPRE

Aprèe la découverte de Bordet Gengou et son application par Wassermann et ses collaborateurs au diagnostic de la syphilis, beaucoup de travaux furent publiés sur le sérodiagnostic de la Lèpre par la déviation du complément. Bientôt on put prouver le grand pouvoir de déviation du complément par les sérums lépreux vis-à-vis de différents antigènes ce qui a fait diré à Jeanselme que les sérums lépreux sont polyfixateurs. Il a été prouvé par beaucoup d'investigateurs que les sérums lépreux dévient intensivement le complément vis-à-vis des antigènes aussi variés que les suivants: Syphilitique, tuberculeux, carcinomateux, etc., ce qui leur ôte toute valeur spécifique.

Parmi les travaux qu'il faut nommer, on doit citer spécialement ceux d'Eitner et de ses collaborateurs qui ont prouvé la grande valeur antigène des extraits de lépromes et qui obtinrent un haut pourcentage, quelquefois presque la totalité des réactions positives avec des sérums lépreux.

Postérieurement, Jeanselme et Vernes, dans une étude de critique expérimentale, arrivèrent à la conclusion que la réaction d'Eitner est aussi positive dans un grand pourcentage dans la syphilis (33 sur 44), et quelquefois elle est négative dans des cas de Lèpre maculoanesthétique. Il n'est pas douteux que la réaction perd ainsi presque toute sa valeur, parce que le grand intérêt est précisément d'obtenir une réaction qui dénonce spécifiquement la Lèpre en la séparant de la syphilis où cette maladie co-existe ou en la différenciant où il y a des doutes lesquelles se présentent très fréquemment dans les périodes initiales et aussi avancées des formes nerveuses.

Ceci est un point où notre réaction se montre supérieure aux méthodes précédantes parce qu'elle est positive dans beaucoup de cas de Lèpre où le Wassermann est négatif. En un mot: Elle n'est pas correlative aux méthodes de déviation du complément, contrairement aux réaction d'Eitner et Bordet Wassermann qui donnent des résultats concordants dans la syphilis comme dans la Lèpre quoiqu'on emploie des antigènes complètement différents.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA NATURE DE LA RÉACTION

Quelques proprietés des sérums lépreux. — Pouvoir floculant. Son parallèlisme avec la réaction des globules formolés

Désireux d'expliquer la nature de la réaction, nous avons fait un grand nombre d'expériences basées sur deux points de vue:

1.º Si un antigène spécial existe dans les globules de mouton auquel on doit la réaction.

2.º Si les globules seraient simplement le support et si les mêmes résultats pourraient s'obtenir avec d'autres supports organiques formolés ou non.

Suivant les indications du Dr. Sordelli, j'ai préparé quelques extraits de globules rouges et d'organes de cobaye selon la technique indiquée pour l'étude des antigènes de Forsman (1 gr. de globules ou d'organe frais pour 10 c.c. d'alcohol à 95º extrait par la chaleur à 55º pendant plus de 12 heures). Ensuite on l'évapore dans une capsule ou boîte de Petri à l'étuve. On reprend alors l'extrait sec avec la solution physiologique en telle proportion qu'il en résulte une opalescence habituelle comme celle qui s'utilise pour les réactions de floculation de lipoïdes.

Schéma de l'expérience

	Tube N.º 1		Tube N.º 2	
Suspensión d'antigène	1	c.c.	1	c.c.
Sérum en examen	0.1	c.c.	0.2	c.c.

Parmi les différentes expériences réalisées nous citons les suivantes:

1ère. Expérience: Avec extrait de rate. 5 sérums lépreux et trois non lépreux. Des 5 lépreux 3 avec réaction aux globules formolés positives et 2 négatives.

Résultats: Seulement les trois sérums positifs avainet floculé après 4 heures. Après 24 heures ils s'étaient clarifiés par sédimentation du floculé, les autres 5 ne floculèrent pas.

2ème. Expérience: Avec extrait de rate. Trois sérums syphilitiques avec Bordet-Wassermann positifs ne floculèrent pas.

3ème. Expérience: Avec des extraits globulaires de mouton et cobaye, séparément. Nous avons utilisé 5 sérums, 4 lépreux et un non-lépreux. Des 4 premiers 3 positifs aux globules formolés et 1 négatif. Les deux extraits floculèrent seulement avec les trois sérums positifs aux globules formolés.

4ème. Expérience: Aves culture en gélose de B. Proteus -X 19, suspension en solution physiologique, formolation au 5 %, aprè lavage et suspension en solution physiologique.

Schéma: Suspensión de Proteus . . 0,5 c.c.
Sérum en examen . . . 0,5 c.c.

Nous avons utilisé 4 sérums lépreux, 3 positifs aux globules formolés et 1 négatif. Des 3 premiers floculèrent 2 intensivement, 1 faiblement et le dernier (négatif) n'agglutinait pas.

5ème. Expérience: Avec culture vive de Proteux X 19 — suspension en solution physologique. Dans les mêmes conditions que l'antérieur. Nous avons utilisé 6 sérums, dont 3 étaient lépreux dont 2 étaient positifs aux globules formolés et 1 négatif. Seulément les 2 positifs floculèrent.

Par ces expériences nous ne voulons pas démontrer que les floculations de ces antigènes ont une valeur spécifique parce qu'ils peuvent être floculés, spécialement les types de Forsman, par d'autres sérums, mais ils montrent bien la haute valeur floculante des sérums lépreux et, se qui est plus intéressant encore, que ce pouvoir floculant est parallèle à la positivé dans la réaction des globules formolés.

La haute valeur floculante des sérums lépreux se montre aussi avec le péréthynol, dans la réaction de Vernes, produisant un floculé intensif avec clarification par sédimentation, comme le Dr. Moreau et nous l'avons prouvé fréquemment. Cette particularité des sérums lépreux, ne doit pas être étrange à la propriété de dévier le complément vis-à-vis des antigènes aussi variés comme celui de la tuberculose, quelques de la Réaction de B. Wassermann, extraits de lépromes et quelques antigènes hydatiques (Expériences personnelles).

Les globules formolés épuisent dans les sérums lépreux la substance qui donne origine à la réaction. Influence de la température

Dans mes investigations réalisées dans l'Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene (R. A.), j'ai pu établir, par una série d'expériences, que les globules formolés en certaines conditions fixent la substance productrice de la réaction dans les sérums lépreux. Ces expériences figurent dans mes protocoles du 13 au 17 octobre 1926 lesquelles nous n'avons pas publiées parce que nous désirons les compléter. Les professeurs Marchoux et Caro, dans le travail cité, arrivent à la même conclusion et c'est à eux sans doute, qu'il correspond la priorité.

Quand même, j'exposerai les résultats de mes expériences qui comprennent aussi l'influence de la température sur le fait biologique:

Condition de l'expérience

Sérum lépreux . . . . . 0,5 cc.
Suspension de globules formolés dans le double volume normal . . . . . 1 cc.

Les expériences s'initièrent à 9° à 37° et à 56°.

J'ai porté les éléments séparément jusqu'à l'équilibre de la température les mélangeant après et les laissants 1 heure dans ses respectives températures. Immédiatement après ils furent centrifugés avec les précautions nécessaires afin qu'ils conservassent la température initiale.

Pour chaque température on fit les deux experiénces suivantes:

1.° Rechercher si le liquide surnageant avait conservé la propriété de produire la réaction vis-à-vis d'une nouvelle suspension globulaire.

2.° Si les globules retirés par centrifugation de leur respectives sérums avaient acquis la propriété de s'agglutiner et sédimenter sans nouvelle intervetion de sérum lépreux.

Nous avons obtenu résultats suivants:

Pour une température de 37°: a) les sérums restèrent épuisés dans le sens qu'ils ne produirent plus la réaction vis-à-vis d'une nouvelle suspension de globules formolés. b) les culots de globules des centrifugations, incorporés à une solution physiologique se conduirent de la même manière que dans une réaction positive quoiqu'il soit après le lavage.

Pour une température de 9°: Les sérums sont épuisés partiellement.

Pour une température de 56°: Les liquides surnageants retiennent une partie de la substance spécifique et les culots globulaires incorporés au sérum physiologique ne reproduisent pas la réaction ce qui prouve que les globules formolés n'ont pas absorbé la substance spécifique.

Dans les expériences à 56° il faudra écarter l'action fâcheuse de cette température sur la substance spécifique.

Quant aux globules naturels, quand on les met en grande proportion en présence de sérum lépreux, ils absorbent aussi la substance spécifique. (Quelques expériences).

La réaction ne se produit pas sans la présence d'électrolytes. Influence du chlorure de sodium

Si nous prenons 1 c.c. de sérum de Lèpre et le mélangeons avec 1 c.c. de globules formolés en laissant se produire le réaction et si ensuite nous centrifugeons, lavant après le culot de globules

formolés 2 ou 3 fois avec de l'eau distillée, les mélangeant bien et le centrifugeant et si ensuite nous incorporons le culot à l'eau destillée, la réaction no se réalise pas. Mais si nous mélangeons le culot avec la solution physiologique, la réaction positive se répète. Ce fait annonce que les globules formolés ont épuisé la substance spécifique et que la présence d'un électrolyte es nécessaire pour la production de la réaction. (Dans ce cas le chlorure de sodium).

Nature du phénomène dans les réactions positives. Il s'agit d'une floculation de la suspension globulaire

Dès mes premières études sur le réaction des globules formolés j'ai observé que la phase de sédimentation est précédée toujours par une première phase d'agglutination ou floculation globulaire bien visible aux parois du tube si on l'agite et aussi pendant la réaction quand la suspension s'est faite déjà plus transparente. Les expériences suivantes semblent prouver ce fait:

Premier type d'expérience: Si nous faisons la réaction avec un sérum lépreux, en employant la même richesse globulaire et doses décroissantes de sérum jusqu'à une dilution où elle est négative, après quelques heures (12-24) quand la sédimentation s'est déjà produite dans tous les tubes (positives et négatives), nous observons en agitant légèrement le support, que les tubes de réaction positive se troublent rapidement d'autant plus intensivement que la réaction a été positive. Les tubes négatifs, au contraire, restent limpides avec leur culot globulaire au fond.

Si nous faisons parallèlement une réaction avec un sérum négatif ou non-lépreux, nous observons dans les mêmes conditions que les tubes ne se troublent pas par simple agitation: Les globules sont andhérés les uns aux autres en prenant les caractéristiques d'une pâte.

Second type d'expérience: Si nous prenons un sérum lépreux actif, un autre sérum non-lépreux épuisé d'abord par les globules formolés et un sérum non-lépreux et si nous faisons la réaction avec les trois sérums séparément, avec des quantités égales de sérums et de suspension globulaire et si après nous l'exposons à 37° pendant une heure en agitant bien chaque tube afin d'incorporer totalement la masse globulaire et si ensuite nous introdusions chaque système (sérum plus globules) dans les respectifs tubes d'un sédimentimètre, nous observerons au bout de quelques heures que les globules occupent dans le tube de réaction positive une hauteur très supérieure à celle de la masse globulaire des autres deux tubes. Cela prouve évidemment que les globules formolés ont floculé en présence des sérum lépreux et que cette floculation ne se produit pas si elle a été traitée d'abord par les globules formolés.

RÉACTION DES GLOBULES FORMOLÉS ET LES SÉRUMS HÉTÉRO-AGGLUTINANTS

A première vue, il semblerait que la réaction des globules formolés est l'expression d'un simple hétéro-agglutinisme, fait plus évident par la qualité des formolés des globules, mais, hors des expériences que nous avons exposées et qui tendent à l'attribuer à l'existence d'une substance spécifique dans la Lèpre, il y a un grand nombre de faits qui les séparent complètement.

Les étéro-agglutinines se trouvent fréquemment dans les sérums humains et récemment dans une réunion de la Sociedad de Biologia de Montevideo, j'ai mis en relief son existence fréquente et quelquefois en grand degré dans les fractures, spécialement chez les enfants, en rapportant à ce respect des données très intéressantes du Dr. Jean Bacigalupo (Buenos Aires). Hors des fractures on les trouve en beaucoup d'états pathologiques. Nous les avons observés en tuberculose, anémies, etc.

La différence fondamentale qui existe, entre les deux phénomènes est la conduite différente vis-à-vis des globules naturels et formolés de mouton.

Les sérums hétéro-agglutinants se conduisent vis-à-vis des deux systèmes d'une manière diamétralment opposée aux sérum lépreux. Tandis que ceux-ci agglutinent plus intensivement les globules formolés, ceux-là agglutinent plus intensivement les globules naturels et presque dans la totalité des cas, les sérums de lépreux, n'agglutinent pas les globules naturels ou le font très faiblement.

Dans notre 2ème et 3ème communication nous avions indiqué quelques cas de sérums hétéro-agglutinants, parfaitement séparables des sérums lépreux. Ces différences dans la conduite sont encore plus marquées vis-à-vis des globules de cobaye selon nos expériences, parce que jusqu'à present les globules formolés de cobaye seraient seulement influencés par les sérums lépreux, quoique les sérums humains possèdent plus fréquemment des agglutinines pour les globules naturels de cette espèce.

Exemple: Hospital de Niños. — Fracture maléolaire, qui date d'un mois.

Globules de mouton naturels:	Titre d'agglutination	1/10
" " " formolés:	" "	1/5
" de cobaye naturels:	" "	1/10
" " " formolés:	*pas d'agglutination.*	

Il faut dire que nous n'avons trouvé aucune réaction de globules formolés hors de la Lèpre, jusqu'à present, avec les caractéristiques que nous avons décrits pour cette maladie.

RÉACTION DES GLOBULES FORMOLÉS ET SÉDIMENTATION GLOBULAIRE ACCÉLERÉE

Malgré ces faits que nous avons exposés clairement et malgré la necessité de formoler les globules afin que les réactions positives aient lieu, circonstance qui tend à dévier la réaction du phénomène biologique si étroitement lié à des conditions naturelles comme c'est la sédimentation accélérée et l'auto-agglutination, il est, cependant, difficile de renoncer à une étude comparative en vue que la réaction est un phénomène d'agglutination des globules formolés avec leur sédimentation rapide et il est difficile de le concevoir comme un phénomène isolé, manquant une rélation spécifique de l'antigène avec la Lèpre et étant donnée, en outre, la fréquence de la sédimentation accélérée dans le sang du lépreux.

La sédimentation globulaire accélérée étudiée spécialement dans la tuberculose, où elle a acquis une grande valeur jusqu'à ce qu'on l'a prise comme élément important du diagnostic et surtout du prognostic, on l'a trouvée très accentué en beaucoup de cas pathologiques. Dernièrement, elle fut constatée en quelques cas de Lèpre en France par Gilbert, Tzank et Cabanis.

Les Drs. Claveaux et Rodriguez Guerrero à l'Uruguay trouvèrent également une sédimentation très accélérée en divers cas de Lèpre, en quelques cas de tuberculose et dans un cas d'urémie. Ce qui attire l'attention c'est la circonstance que l'on attribue l'origine de la sédimentation accélérée à sa coexistence avec une auto-agglutination globulaire, ce qui donnerait une grande ressemblance à ces deux phénomènes.

Mais, est-ce que ce fait constitue un motif suffisant pour identifier les deux phénomènes ou pour affirmer que l'existence de l'un suppose l'existence de l'autre? Nullement.

En effet: 1.º La sédimentation accélérée est, qualitativement et quantitativement, un phénomène commun à beaucoup d'états pathologiques d'étiologie très différente: Lèpre, Anémie, Tuberculose, etc.

2.º L'agglutino-sédimentation formolée n'est pas toujours correlative et très souvent elle se trouve invertie. L. F. Cas de Lèpre avec une sédimentation accélérée des plus intenses, est un des cas de réaction négative, contrastant avec J. Z. et R. V. de vélocité de sédimentation comparativement très modérée et de réaction positive. En deux cas de tuberculose ce fait est encore plus évident: Un cas de péritonite bacillaire avec une sédimentation si accélérée comme dans les plus intensifs de Lèpre, la réaction es négative. En C. cependant, cas de pneumonie bacillaire caséeuse, déja décrit, avec une réaction positive universelle, la sédimentation est presque

nulle au bout d'une heure, la masse globulaire descend seulement 0.2 c.c. d'une hauteur totale de 6 c.c. (Dans l'éprouvette).

3.º L'auto-agglutination qui peut exister comme cause de l'accélération de la sédimentation globulaire, est un phénomène, objectivement et biologiquement différent de l'agglutino-sédimentation formolée, objectivement, parce que l'auto-agglutination est l'exagération d'un phénomène normal (formation de piles de monnaie) et biologiquement, parce que, en général, elle n'obéit pas aux lois de l'iso-et hétéro-agglutinines, quant à la température, absorption, etc., comme le fait l'agglutino-sédimentation formolée.

En résumé: Les deux phénomènes coexistent fréquemment, mais l'un n'est pas l'expression quantitative ni qualitative de l'autre. Il reste, pourtant, à prouver le sens biologique de l'agglutino-sédimentation formolée quoique tout incline à penser en un phénomène de floculation globulaire de valeur spécifique pour la Lèpre par la modification imposée avec le formol, sur les globules rouges.

ÉTUDE DES QUELQUES CARACTERES CHIMIQUES ET PHYSIQUES DES SÉRUMS LÉPREUX ET LEUR RELATION AVEC LA RÉACTION DES GLOBULES FORMOLÉS

Ces données furent obtenues en collaboration avec le Prof. Angel Goslino, Directeur de l'Instituto de Química Industrial, et de M. Morel, Adjudant de cet Institut.

A) L'Index Réfractométrique.

Comme l'index réfractométrique est généralement la mesure de la richesse albuminoïde des sérums (albumines et globulines) nous fîmes la mesure de l'index avec l'intention de rechercher si quelques modifications sensibles se présentaient dans le sérum lépreux dans un sens ou autre.

Le tableau suivant indique les résultats à 17,5º.

Sérum	Maladie	Réaction des globules formolès	Index réfractométrique
N.º 1	douteuse	négative	1.3518
" 2	douteuse	négative	1.3510
" 3	Lèpre	positive	1.3518
" 4	Lèpre	négative	1.3538
" 5	Lèpre	positive	1.3531
" 7	Lèpre	positive	1.3530
" 8	Lèpre	positive	1.3540
" 9	Lèpre	positive	1.3511
" 10	Lèpre	positive	1.3536
" 11	Lèpre	positive	1.3550
" 12	Lèpre	positive	1.3521
" 14	Lèpre	positive	1.3581
" 15	Lèpre	douteuse	1.3529
" 18	Lèpre	positive	1.3510
" 19	Lèpre	positive	1.3505
" 20	Lèpre	positive	1.3520
" 21	Lèpre	positive	1.3518
" 24	pas Lèpre	négative	1.3560
" 28	Lèpre?	positive	1.3544
" 33	douteuse	négative	1.3542
" 34	Lèpre	positive	1.3548
" 35	Lèpre	négative	1.3530
" 36	Lèpre	positive	1.3521
" 37	Lèpre?	négative	1.3514

Si nous comparons ces résultats avec l'index donné comme normal, il aurait dans la plupart des sérums lépreux une augmentation sensible dans la troisième décimale, mais sans aucune rélation avec l'intensité de la réaction des globules formolés.

B) Cholestérine et esters de cholestérine. (Exprimée en milligrammes par %).

METHODE DE BLOOR HAHN

Sérum		Maladie	R. des globules formolés	Cholestérine	Esters de Cholestérine
N.º	1	douteuse	négative	221	190
"	2	douteuse	négative	266	195
"	3	Lèpre	P. très intensive	177	102
"	4	Lèpre	négative	218	135
"	5	Lèpre	P. franche	241	170
"	6 pas	Lèpre	négative	218	151
"	7	Lèpre	P. franche	241	162
"	8	Lèpre	P. très intensive	140	116
"	9	Lèpre	P. très forte	250	170
"	10	Lèpre	P. très intensive	170	144
"	11	Lèpre	P. faible	146	112
"	12	Lèpre	P. intensive	160	118
"	13 pas	Lèpre	négative	218	156
"	14	Lèpre	P. franche	144	82
"	15	Lèpre	douteuse	225	147
"	18	Lèpre	P. très intensive	160	103
"	19	Lèpre	P. franche	204	97
"	20	Lèpre	P. très intensive	207	103
"	21	Lepre	P. très intensive	170	118
"	24 pas	Lèpre	négative	183	140
"	26 pas	Lèpre	négative	201	138
"	27	Lèpre	P. très intensive	116	81
"	28	Lèpre	P. très intensive	207	162
"	31	Lèpre	P. très intensive	177	133
"	33	Lèpre?	négative	146	138
"	32	Lèpre?	négative	282	184
"	34	Lèpre?	négative	241	166
"	35	Lèpre	négative	190	120
"	36	Lèpre	P. très intensive	126	78
"	37	Lèpre?	négative	229	141

Résumé: Dans les sérums lépreux, généralement, surtout les fortement positives á la réaction des globules formolés ont la cholestérine totale très réduite.

RESUME FINAL:

La Réaction des globules formolés, selon la technique que nous avons décrite dans le présent travail *est une réaction spécifique de la Lèpre*, dans le sens que ce terme a dans les réaction biologiques connues. Jusqu'à ce jour, elle est la seule réaction qui a ce caractére dans la Lèpre. Les autres réactions décrites atteignent la lèpre par extensión en vue du caractére polyfixateur et hautement floculant des sérums lépreux, mais elles ne lui sont pas exclusives.

La Réaction des globules formolés est due à une substance des sérums lépreux qui est absorbée par le globules en conditions déterminées suivant les lois de la fixation des anticorps.

La réaction se produit seulement en présence d'électrolytes. (Dans nos expériences le chlorure de sodium).

La sédimentation est due à la floculation de la suspension globulaire ce qui se montre par l'aspect primairement en grumaux bien visibles, son volume augmenté et la facilité avec laquelle ils s'incorporent à la masse liquide par simple agitation, en contrastant avec les sérums négatifs en tous ces éléments.

La Réaction est influencée par les proportions relatives de sérum et de globules formolés, ayant pour chaque sérum une proportion optima dans laquelle le phénomène apparait plus précocement, suivant les lois d'agglutination et floculation par les anticorps.

Tous ces éléments définissent bien sa nature et la séparent complètement de la sédimentation globulaire accélérée et de l'hétéro-agglutination.

La Réaction des globules formolés diffère aussi de l'hétéro-agglutination globulaire par la manière opposée de se conduire vis-à-vis des globules naturels et formolés des moutons et cobayes.

La réaction diffère aussi de la sédimentation globulaire accélérée hors des éléments dejà indiqués parce que ce phénomène est, qualitativement et quantitativement, commun à beaucoup d'états pathologiques d'étiologie différente.

Dans le sérums lépreux l'index réfractométrique a en général, augmenté, indiquant une richesse plus grande en albuminoïdes (albumines et sérum-globulines), mais il n'a aucune rélation avec l'intensité dans la Réaction des globules formolés.

Dans le sérums fortement positifs, la cholestérine est très diminuée, mais il y a des sérums lépreux avec la cholestérine augmentée.

La Réaction des globules formolés ne s'est pas présentée à nous positive en aucun cas hors de la Lèpre.

Laboratorio Jenner, Montevideo, 30 Décembre 1928.

AKTIVE SERA BEI DER KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION. FAKTOREN DER SENSIBILITÄT UND UNSPEZIFISCHER ERGEBNISSE

ZEITSCHRIFT FÜR IMMUNITÄTSFORSCHUNG. Bd. 70. 1931. Heft 1/2

In einer früheren Arbeit(1) habe ich bereits Eigenheiten der aktiven Sera, insbesondere die antihämolytische Fähigkeit und die ko-fixierende Eigenschaft für den hämolytischen Ambozeptor behandelt. Im folgenden sollen einige besondere Eigenschaften dieser Sera in unmittelbarer Beziehung zu der Komplementbindungsreaktion bei der Syphilis untersucht werden.

Das Bestreben, die Methoden mit aktiven Sera weiter auszubauen, ist besonders darauf zurückzuführen, dass sie gegenüber den Methoden mit inaktivierten Seren eine grössere Sensibilität zeigen, sowohl im Sinne stärkerer Reaktionen als auch eines grösseren Prozentsatzes positiver Ergebnisse. Dem steht als Nachteil stets ein mehr oder weniger hoher Prozentsatz unspezifischer Resultate gegenüber.

Eine Hauptschwierigkeit für die Erkenntnis der hierbei wirksamen Faktoren ist das Vorhandensein des normalen hämolytischen Systems in den aktiven menschlichen Seren. Infolge dieser Eigenschaft lassen sich die Versuchsbedingungen nicht gleich gestalten, da seine Werte bei den einzelnen Seren und sogar bei dem gleichen Serum von einem Tage zum andern schwanken. Bei einzelnen Seren werden ausserdem die Verhältnisse durch das Vorhandensein antihämolytischer Eigenschaften kompliziert, die durch das eben erwähnte hämolytische System verdeckt werden. Es handelt sich also darum, diese Fehlerquellen auszuschalten.

Der Weg, der hierbei gegangen wurde, ist die Verwendung menschlicher Sera, die durch eine Suspension formolfixierter Hammelblutkörperchen ihres normalen hämolytischen Systems (Antihammelblutkörperchen-Ambozeptor und Komplement) beraubt werden. Nach dieser Behandlung können die Seren ohne vorherige Erwärmung mit einem fremden hämolytischen System untersucht werden, wobei sich ihre Reaktionen mit denen inaktivierter Seren vergleichen lassen.

(1) *M. C. Rubino*, Reacción de desviación del complemento para el diagnóstico de la sífilis. Técnica con absorción del sistema hemolítico natural. 4. Conferencia Sudamericana de Microbiología e higiene. Buenos Aires, 1926. — *Ders.*, Über die antihämolytischen Eigenschaften des Menschenserums. Erscheint Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Orig. — *Ders.*, Zur Verwendung formolfixierter Hammelblutkörperchen. Erscheint ebendort.

Versuchsbedingungen

Bei allen Untersuchungen wurden folgende Einheiten benutzt:

Blutköperchensuspension. Für die Suspension der natürlichen und der formolvorbehandelten Blutkörperchen beträgt die Einheit 1 ccm. Benutzt wurde eine 5proz. Suspension gewaschener Hammelblutkörperchen, die vorher mit 0,85proz. Kochsalzlösung auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt waren.

Hämolysin. Einheit ist die Menge, welche mit 0,4 ccm im Verhältnis 1:10 verdünntem Meerschweinchenkomplement mit 1 ccm der schon erwähnten Blutkörperchensuspension Hämolyse ergibt.

Komplementeinheit ist die Menge Meerschweinchenserum, die mit ½ Einheit Hämolysin 1 ccm der Blutkörperchensuspension komplett lösst.

Ich habe diese Sensibilisierung benutzt, um die Komplementeinheit zu ermessen, damit die Resultate meiner Untersuchungen vergleichbar sind(1).

Bemerkung über das Ablesen der Resultate: Zum Ablesen der Hämolyse habe ich die Skala von Vernes benutzt, welche die verschiedenen Schattierungen zu notieren gestattet. H^0 entspricht keiner Hämolyse, H^0 entspricht ebenso wie H^k kompletter Hämolyse. Die Nummern zwischen 0 und 8 entsprechen den Zwischengraden der Hämolyse, wobei der Grad der Hämolyse mit dem Wert der Ziffern ansteigt. H^{fk} entspricht fast kompletter Hämolyse.

Die Formolfixierung geschieht auf folgendem Wege:

Hammelbluterythrozyten werden wie für die Reaktion nach Bordet-Wassermann gewaschen und sodann mit physiologischer Kochsalzlösung bis zum doppelten Originalblutvolumen aufgefüllt. Hierauf wird 10 Proz. Formalin zugesetzt (35—40proz. Formaldehyd) und die Mischung nach gutem Durchschütteln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 18 Stunden sind die Blutkörperchen schon brauchbar und werden dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Beim Zentrifugieren bildet sich eine teigige Schicht, von der die Flüssigkeit direkt abgegossen werden kann. Zur Herstellung einer völlig homogenen Suspension muss mit einem Glasstäbchen umgerührt und sehr kräftig durchgeschüttelt werden.

Die Sensibilisierung der formolbehandelten Blutkörperchenaufschwemmung führen wir in folgender Weise durch:

Für 10 ccm einer 20proz. Aufschwemmung berechnet man die Zahl der Blutkörpercheneinheiten. Nach dem letzten Zentrifugieren setzt man vor Zusatz der Kochsalzlösung das berechnete Hämolysin zu.

Die Behandlung der Sera mit formalinbehandelten Blutkörperchen wurde in folgender Weise ausgeführt:

a) Menschliche Seren, 1:2,5 verdünnt, 1 ccm / Serum-
b) Formolbehandelte Blutkörperchen 20:100 1 ccm \ verdünnung 1:5.

Gut schütteln und 1 Stunde bei 37° in den Brutschrank.

Es ist zweckmässig, die Röhrchen nach einer halben Stunde noch einmal durchzuschütteln, da die Blutkörperchen dazu neigen, sich abzusetzen.

(1) Vergleichsweise wurde auch eine mit 5proz. vom Vollblutvolumen (nicht vom Sediment) hergestellte Blutkörperchensuspension benutzt, um die Blutkörperchenkonzentration in der Suspension natürlicher und formolbehandelter Blutkörperchen zu vergleichen. Letztere ergeben in derselben Konzentration ein kleineres Sediment.

I. KO-FIXIERENDE EIGENSCHAFTEN DER NICHT ERWÄRMTEN MENSCHLICHEN SEREN

An anderer Stelle habe ich bewiesen, dass die nicht erwärmten menschlichen Seren die Eigenschaft besitzen, die Absorption des hämolytischen Ambozeptors durch die Blutkörperchensuspension (formalinbehandelte Blutkörperchen) zu steigern. Diese als Ko-Fixierung bezeichnete Eigenschaft erstreckt sich nicht nur auf den hämolytischen Ambozeptor, sondern auch auf das System Antigen—Syphilitischer Antikörper—Komplement.

Nimmt man verschiedene syphilitische und normale menschliche Seren, die vorher durch Erwärmen inaktiviert wurden, und lässt sie in einer Reihe ohne Zusatz in fallender Menge auf das Luesantigen und Komplement einwirken, in einer zweiten Reihe unter Zusatz eines normalen, nicht erwärmten menschlichen Serums, so beobachtet man, dass bei den syphilitischen Seren das Resultat in der zweiten Serie immer stärker ist als in der ersten. Ebenso wie das menschliche Serum verhält sich auch das Hammelserum, nicht indessen das Meerschweinchenserum, das auf den Ausfall der Reaktion wenig oder gar keinen Einfluss hat.

Diese Eigenschaft des menschlichen Serums geht bei vorheriger Inaktivierung verloren. Bei der Erwärmung auf 50° während 30 Minuten verschwindet ein Teil dieser ko-fixierenden Eigenschaften.

Wie bei allen Versuchen mit nicht erwärmten Seren, muss man besonders bei der Absorption des hämolytischen Systems die Möglichkeit berücksichtigen, dass antihämolytische Eigenschaften auftreten. Die anzuwendenden menschlichen Seren, oder besser deren Mischung, muss also vorher von diesem Gesichtspunkt aus geprüft werden.

Versuch vom 21 März 1930

1) 5 menschliche Luesseren, nach Wassermann positiv.
2) Eine Mischung von 3 menschlichen normalen, nicht inaktivierten Seren.
3) Hammelserum.
4) Meerschweinchenserum.
5) Antigen Bordet-Ruelens, 1:20 verdünnt.
6) Meerschweinchenkomplement, 1:15 verdünnt.

Versuchsanordnung. 4 Serien. Bei der ersten wurden nur die inaktivierten Seren benutzt, bei der anderen inaktiviertes Serum plus nicht erwärmtes menschliches Normalserum, bei der dritten inaktiviertes Serum plus Hammelserum, und bei der vierten inaktiviertes Serum plus Meerschweinchenserum. Die Mischung des inaktivierten Luesserums mit den anderen, vorher durch Zusatz formolbehandelter Blutkörperchen ihres hämolytischen Systems beraubten Seren ging folgendermassen vor sich:

Mit Menschenserum		*Mit Hammelserum*		*Mit Meerschweinchenserum*	
Luesserum	0,2 ccm	Luesserum	0,2 ccm	Luesserum	0,2 ccm
nicht erwärmtes menschliches Serum	0,1 ccm	Hammelserum	0,1 ccm	Meerschweinchenserum 1:4	0,1 ccm
Physiologische Kochsalzlösung	0,2 ccm	Physiologische Kochsalzlösung	0,2 ccm	Physiologische Kochsalzlösung	0,2 ccm
20 proz. formalinbehandelte Suspension, sensibilisierte mit 2 E. Hämolysin pro globuläre Einheit	0,5 ccm	Ebenso	0,5 ccm	Ebenso	0,5 ccm

Jedes einzelne Röhrchen wurde durchgeschüttelt und nach 1 Stunde Aufenthalt im Brutschrank bei 37° zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf das doppelte Volumen aufgefüllt. Hierbei ergaben sich folgende Verdünnungen der Seren:

Luesserum — Verdünnung 1:10.

Unerwärmte Seren — Verdünnung 1:20.

Hammelserum — Verdünnung 1:20.

Meerschweinchenserum — Verdünnung 1:80. (Das Meerschweinchenserum wurde in grösserer Verdünnung angewandt, da wegen seines stärkeren Komplementgehaltes die Absorption sonst unvollständig wäre.)

Siehe Tabelle I.

Der Zusatz menschlichen Serums und des Hammelserums hat die Reaktionen beträchtlich verstärkt. Andererseits hat das Meerschweinchenserum die Reaktionen eher etwas abgeschwächt, was möglicherweise auf eine zurückbleibende Komplementmenge zurückzuführen wäre, möglicherweise aber auch auf die von Gengou (1909) beschriebene Hämolysebegünstigung durch dieses Serum.

Bei diesem Versuch, der häufig wiederholt wurde, handelt es sich auf keinen Fall um antihämolytische Erscheinungen. Denn abgesehen davon, dass die nicht erwärmten menschlichen Seren vorher daraufhin genau untersucht wurden, zeigte sich die beobachtete Erscheinung nie in den Kontrollröhrchen. Ausserdem wirken die Seren in erster Linie bei einer Dosis von 0,3 ccm des 1:20 verdünnten Serums (d. h. 0,015 ccm nicht erhitzten Menschenserums) gegenüber einer Dosis von 0,5 ccm im Verhältnis 1:15 verdünnten Meerschweinchenkomplements.

Eher ist der Versuch angelegt, nicht die wirkliche Intensität der ko-fixierenden Kraft nachzuweisen, da die Dosis des nicht erwärmten menschlichen Serums nach und nach mit der Dosis des Luesserums geringer wird anstatt gleichmässig zu bleiben. Diese Versuchsanordnung erklärt auch, warum die ko-fixierende Eigenschaft in den Röhrchen N.° 2 und 3 der Serie nicht mit gleicher Stärke zutage tritt.

Tabelle I.

	Inaktivierte Luesseren				Inaktivierte Luesseren + unerwärmtes Menschenserum				Inaktivierte Luesseren + Hammelserum				Inaktivierte Luesseren + Meerschweinchenserum			
Röhrchen N.°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Serum	0,3	0,1	0,05	0,3	0,3	0,1	0,05	0,3	0,3	0,1	0,05	0,3	0,3	0,1	0,05	0,3
Antigen 1:20	0,3	0,3	0,3	—	0,3	0,3	0,3	—	0,3	0,3	0,3	—	0,3	0,3	0,3	—
Komplement 1:15	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
NaCl	—	0,2	0,25	0,3	—	0,2	0,25	0,3	—	0,2	0,25	0,3	—	0,2	0,25	0,3
1 Std. 37°. — 1 ccm Suspension sensibilisierter Hammelblutkörperchen. Ablesen nach 30 Minuten Brutschrankaufenhalt bei 37°																
Serum N.°																
595	H^r	H^k	H^k	H^k	H^o	H^r	H^k	H^k	H^r	H^r	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
596	H^r	H^k	H^k	H^k	H^o	H^r	H^k	H^k	H^r	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
597	H^o	H^o	H^o	H^k	H^o	H^o	H^o	H^k	H^o	H^o	H^o?	H^k	H^r	H^o	H^r	H^k
613	H^g	H^k	H^k	H^k	H^o	H^r	H^k	H^k	H^o	H^r	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
615	H^r	H^k	H^k	H^k	H^o	H^r	H^k	H^k	H^o	H^r	H^k	H^k	—	—	—	—

II. ZUR REAKTIONSFÄHIGKEIT MENSCHLICHER, NICHT DURCH HITZE INAKTIVIERTER SERA.

Mit einigen menschlichen Luesseren wird folgender Versuch angestellt:

Jedes Serum wird in drei Teile geteilt. Der eine bleibt ohne jede Behandlung im nativen Zustande. Der zweite wird zur Entziehung des hämolytischen Systems mit formolbehandelten Blutkörperchen vorbehandelt. Der dritte Teil wird durch Erwärmen auf 55° während 20—30 Minuten inaktiviert. Mit jedem dieser drei Teile werden folgende beiden Versuche angestellt:

a) Eine Komplementbindung mit einem Luesantigen unter den gewöhnlichen Bedingungen.

b) Mischung von Antigen und Serum allein ohne Komplementzusatz.

Nach 1 Stunde Brutschrankaufenthalt bei 37° verfährt man wie bei der Wassermannschen Reaktion. Zu der Serie a) werden die sensibilisierten Blutkörperchen zugesetzt. Zu der Serie b) setzt man ausser den sensibilisierten Blutkörperchen noch die gleiche Komplementmenge zu, wie im Versuch a) benutzt war.

Nach einem Aufenthalt von 30 Minuten im Brutschrank bei 37° lassen sich folgende Ergebnisse ablesen:

1) Bei dem inaktivierten Teil der Seren finden sich positive Resultate nur bei der Serie a), nicht indessen bei der Serie b).

2) Bei den nativen, unbehandelten Seren finden sich positive Reaktionen in der Serie a), ausserdem einige auch in der Serie b).

3) Bei den mit formolfixierten Blutkörperchen behandelten Seren finden sich in Serie a) und b) positive Reaktionen, und zwar mit grösserer Klarheit.

Bei diesen Versuchen gingen wir folgendermassen vor:

Für die Absorption des hämolytischen Systems wurden die mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:2,5 verdünnten Seren mit dem gleichen Volumen einer 20proz. Suspension formolbehandelter Blutkörperchen gemischt, die mit 2 Einheiten Hämolysin für jede globuläre Einheit sensibilisiert wurden (Technik s. oben). Die einzelnen Elemente wurden in folgendem Verhältnis benutzt: 0,25—0,5 ccm der zu 1:5 verdünnten Seren, 0,25—0,5 ccm des 1:20 verdünnten Bordetschen Antigens, 0,5—1,0 ccm einer 5proz. Blutkörperchensuspension, die vorher mit 2 Einheiten Hämolysin für jede globuläre Einheit sensibilisiert wurde, und die 2fache Komplementdosis im Verhältnis zur Blutkörperchensuspension.

Die Ergebnisse sind nicht bei allen Seren gleichmässig und hängen zweifellos von dem entsprechenden Gehalt an syphilitischem Ambozeptor ab. Trotzdem geht deutlich eine höhere Reaktionsfähigkeit der nicht erhitzten Seren daraus hervor, die sich in einer merklichen Beschleunigung der Komplementbindung ausdrückt. Diese Erscheinung hat nichts mit einer antihämolytischen Eigenschaft der Seren zu tun, die sich durch die entsprechenden Kontrol-

len ja leicht ausschliessen lässt, sondern lässt sich vielmehr höchstwahrscheinlich auf den gleichen Faktor zurückführen, der die kofixierenden Eigenschaften bei den nicht erhitzten Seren bedingt.

Weiterhin geht aus diesem Versuch hervor, dass durch Erhitzung diese Eigenschaft verschwindet. Bereits eine Erwärmung auf 50° während 30 Minuten verringert sie beträchtlich.

III. ÜBER UNSPEZIFISCHE REAKTIONSFAKTOREN.

Unspezifische Reaktionen zeigen sich in einem gewissen Prozentsatz bei allen Komplementbindungsreaktionen mit unerhitztem Serum und bilden die grösste Schwierigkeit bei deren Weiterentwicklung. Die Arbeiten von Noguchi, Sachs und Altmann beweisen, dass die Hitzeinaktivierung der Seren einen grossen Teil der unspezifischen Reaktionen beseitigt, so dass die Resultate der Komplementbindung in weit höherem Grade spezifisch werden. Friedemann führt die unspezifischen Reaktionen auf das labile Gleichgewicht der Globuline zurück, wodurch die antikomplementäre Wirkung zu erklären sei. Diese könnte durch eine Änderung der Globuline entstehen, wodurch dann schliesslich die Komplementfunktion völlig verschwinden könnte (Sachs).

Ausser diesen von der inneren Struktur der Seren abhängigen Faktoren gibt es noch andere von nicht geringerer Wichtigkeit bezüglich ihrer praktischen Bedeutung. Sie haben je nach der angewandten Methode einen verschiedenen Einfluss auf die Ergebnisse. Von diesen Faktoren seien der verschiedene Gehalt der Seren an hämolytischem System und Differenzen in der Reaktionsfähigkeit mit den gebräuchlichen Antigenen genannt. All diese Umstände erschweren die Untersuchung der aktiven Seren.

Unsere Methode, menschliches Serum von dem normalen hämolytischen System frei zu machen (Ambozeptor und Komplement) (1), gestattet, die nicht erhizten Seren mit einem genau dosierbaren hämolytischen System zu untersuchen. Auf diese Weise wird ein grosser Teil schwer zu beurteilender Faktoren ausgeschaltet, der auf den verschiedenen Gehalt der Seren an hämolytischem System zurückzuführen ist, während man bei den hitzeinaktivierten Seren mit stets gleichbleibenden Mengen arbeitet.

Die auf die angegebene Weise ihres hämolytischen Systems beraubten nicht erhitzten menschlichen Seren besitzen einige Eigenschaften der aktiven Seren in ausgesprochenerem Masse, und zwar wegen des Fehlens des eigentlichen Kompensationssystems besonders bei den hämolytischen Reaktionen. Die Neigung zu unspezifischen Reaktionen tritt besonders deutlich hervor.

(1) Die Komplementabsorption ist eine begrenzte Reaktion; einige Seren können einen beträchtlichen Rest des Komplements bewahren, doch ist dies nur von teilweisem Einfluss auf die Versuchsergebnisse.

Meine Versuche berechtigen mich zu der Annahme, dass der Hauptgrund für die unspezifischen Reaktionen eine besondere Reaktionsfähigkeit der nicht erhitzten Seren ist, die in keiner Beziehung zu ihrer Eigenhemmung steht. Es gibt Seren ohne jegliche antikomplementäre Fähigkeit, die starke unspezifische Reaktionen geben, ebenso wie es demgegenüber Seren mit antikomplementären Eigenschaften oder Neigung hierzu gibt, die keine unspezifischen Reaktionen liefern.

Versuchsanordnung

Es wurden einige Seren ausgewählt, unter denen sich auch solche mit unspezifischen Reaktionen befanden. Von jedem Serum wurde ein Teil in aktivem Zustande (1 ccm) im Eisschrank aufbewahrt, um die Entwicklung der antihämolytischen Fähigkeit zu untersuchen. Der Rest des Serums wurde in zwei Teile geteilt:

a) Ein Teil wurde nicht erhitzt, sondern in der angegebenen Weise mit formolbehandelten Blutkörperchen zur Zerstörung des hämolytischen Systems versetzt.

b) Ein Teil wurde durch Erwärmung auf 55° während 20 Minuten inaktiviert.

Mit jedem dieser Teile wurde in gewohnter Weise eine Wassermannsche Reaktion vorgenommen, und zwar wurde bei beiden das gleiche hämolytische System (Immunhämolysin und Meerschweinchenkomplement) benutzt: 0,25 bis 0,5 ccm im Verhältnis 1:5 verdünntes Serum, 0,25—0,5 ccm langsam auf 1:20 verdünntes Bordetsches Antigen, die doppelte Dosis Meerschweinchenkomplement und 0,5—1,0 ccm einer 5proz. Blutkörperchensuspension, die mit 2 Einheiten Hämolysin sensibilisiert war. Für den Nachweis antikomplementärer Eigenschaften wurden Kontrollröhrchen angesetzt. Das Reaktionsvolumen betrug je nach der Dosis der einzelnen Elemente 1,0—1,5 ccm, die Bindungszeit 1 Stunde bei 37°, und die Dauer der Hämolyse 30 Minuten bei 37°.

Unspezifische Reaktionen liessen sich sowohl bei den aktiven wie bei den vorbehandelten aktiven Seren feststellen, indem bei den Antigen enthaltenden Röhrchen eine komplette Hemmung der Hämolyse und bei den Kontrollröhrchen eine komplette Hämolyse zu sehen war. In der Versuchsreihe mit erhitzten Seren fanden sich diese Reaktionen indessen nicht(1).

Nach diesen Versuchen wurde die Entwicklung des antikomplementären Verhaltens der im Eisschrank aufbewahrten Serumproben untersucht. Nach 2—3 und endlich nach 5—6 Tagen wurde eine Reaktion angesetzt und es zeigte sich, dass bei einigen Seren, deren Prozentsatz mit der Aufbewahrungsdauer zunimmt, eine starke antihämolytische Fähigkeit auftritt, die indessen keinerlei

(1) Die unspezifischen Reaktionen sind dadurch charakterisiert, dass sie im aktiven Serum nicht vorkommen und keinerlei Beziehungen zur Syphilis haben.

Beziehungen zu den vorher beobachteten unspezifischen Reaktionen aufweist.

So zeigte sich beispielsweise bei einem Versuch vom 11. Juni 1930 mit den 10 Seren N.° 948—957 folgendes: Das Serum N.° 949 reagierte unspezifisch mit völliger Hemmung der Hämolyse, ohne antikomplementäre Eigenschaften zur Zeit des Versuches. Die Seren N.° 952 und 955 waren negativ. Bei der 48 Stunden später erfolgenden Nachuntersuchung zeigte das Serum N.° 949 keine antihämolytischen Eigenschaften, die Seren 952 und 955 zeigten eine teilweise Hemmung der Hämolyse.

Bei einem weiteren Versuch vom 25. Juni 1930 mit den 10 Seren N.° 994—1003 wiesen die Seren 999 und 1003 eine kräftige unspezifische Reaktion ohne antikomplementäre Eigenschaften auf. Nach Verlauf von 5 Tagen zeigten sich bei der Nachuntersuchung bei den Seren N.° 999 und 1003 keinerlei antihämolytische Eigenschaften, dagegen bei den Seren N.° 998—1000 und 1001 in starkem Ausmasse.

Ich komme nunmehr zur Darstellung einiger Faktoren, die das unspezifische Verhalten aktiver Sera zu beeinflussen vermögen.

Einfluss der Hitze

Wie bereits früher erwähnt, beschäftigen wir uns in dieser Arbeit ausschliesslich mit den Eigenschaften der nicht erhitzten Seren und deren unspezifischen Resultate, nicht indessen mit den erhitzten Seren. Es werden daher alle jene Seren, die auch im Zustande der Hitzeinaktivierung bei der Komplementbindung der Syphilisdiagnose unspezifische Resultate ergeben (Lepra, Malaria, usw.), hier nicht berücksichtigt.

Die Hitzeeinwirkung zeigt gewisse Besonderheiten, die hier näher geschildert werden sollen:

Eine Erwärmung auf 45° während 30 Minuten übt keinen merklichen Einfluss auf die von uns untersuchten Seren aus; allenfalls werden einige der unspezifischen Reaktionen etwas verstärkt. Bereits eine Erwärmung auf 47° hat einen merklichen Einfluss auf das Verschwinden der unspezifischen Reaktionen und lässt den Einfluss der Temperatur von 45° noch paradoxer erscheinen. Bei der Temperatur von 50° während 30 Minuten verschwinden einige der unspezifischen Reaktionen fast vollständig.

Versuch

1) 6 aktive menschliche Seren werden in 3 Teile geteilt:
   a) nicht erhitzt,
   b) auf 45° 30 Minuten lang unverdünnt erhitzt.
   c) auf 50° 30 Minuten lang unverdünnt erhitzt.

Diese 3 Teile wurden mit dem gleichem Volumen einer 50proz. vorher sensibilisierten Suspension formolisierter Blutkörperchen behandelt, so dass die Seren im Verhältnis 1:2 verdünnt waren.

2) Langsam mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1:20 verdünntes Antigen nach Bordet.

3) 0,5 ccm einer 5proz. sensibilisierten Blutkörperchensuspension.

4) 0,075 im Verhältnis 1:10 verdünntes Komplement.

Tabelle II.

	Nicht erhitzte Seren		Auf 45° erhitzte Seren		Auf 50° erhitzte Seren	
Röhrchen N.°	1	2	3	5	4	6
Serum 1:2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Antigen 1:20	0,5	—	0,5	—	0,5	—
Komplement 1:10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
NaCl	—	0,5	—	0,5	—	0,5
1 Std. 37°. — Zusatz von 0,5 Blutkörperchensuspension. — Ablesen nach 30 Minuten bei 37°						
Serum N.°						
1030	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
1032	H^s	H^k	H^s	H^k	H^k	H^k
1034	H^1	H^k	H^s	H^k	H^1	H^k
1035	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k

Von den Seren reagiert N.° 1032 schwach und 1034 sehr stark in der unerhitzten Reihe. Die Reaktionen sind in der Reihe mit Erhitzung auf 45° verstärkt. In der Reihe mit Erhitzung auf 50° aber verschwindet die Reaktion des Serums 1032 bzw. wird beim Serum 1034 erheblich schwächer. Bei diesem Versuch findet sich also im nichterhitzten Serum nach der Behandlung mit den formolfixierten Blutkörperchen noch ein Rest von Komplement (unvollständige Absorption), nicht indessen mehr bei den beiden erhitzten Serumportionen.

Setzt man eine grosse Anzahl menschlicher Seren, die im aktiven Zustande mit einem Luesantigen unspezifische Reaktionen ergeben, der Erhitzung auf Temperaturen von 50—55° aus, so bemerkt man folgendes: Die Seren verhalten sich bei der gleichen Temperatur nicht alle gleichmässig, denn bei einigen Seren ist die Thermolabilität stärker ausgesprochen als bei anderen. Bildet man weiterhin aus den gleichen menschlichen Seren verschiedene Reihen — z. B. nicht erhitzt, auf 50° erhitzt und auf 55° erhitzt — und

stellt mit jeder die übliche Wassermannsche Reaktion mit nur einer Komplementdosis an, lässt binden und beobachtet nach Zusatz der Blutkörperchensuspension die allmähliche Entwicklung der Hämolyse, so tritt folgendes zu Tage: Die Seren, die in ihrem nicht erhitzten Anteil unspezifische Reaktionen ergeben, zeigen auch in ihren erhitzten Anteilen im ersten Moment der Hämolyse eine unspezifische Reaktion, und zwar in dem auf 50° erhitzten Anteil stärker als in dem auf 55° erhitzten Anteil. In dem Masse aber, in dem die Zeit der Hämolyse abläuft, schwinden die unspezifischen Reaktionen, schneller in der auf 55° erhitzten Serie als in der auf 50° erhitzten. Dieser Vorgang hat für mich eine grosse theoretische und praktische Bedeutung.

Die Fähigkeit der nicht erhitzten Seren, unspezifische Resultate zu geben, ist auf mindestens zwei Faktoren zurückzuführen: Der erste Faktor ist für sämtliche Seren von allgemeiner Bedeutung, und wird offenbar durch dieselbe Eigenschaft dargestellt, die wir als ko-fixierende Eigenschaft bezeichnet haben. Diese findet sich ebenso wie das Komplement und die antihämolytische Eigenschaft im labilen Substrat der Seren. Hierzu kommt in bestimmten Seren noch ein besonderer Faktor, der je nach dem Serum in verschiedenem Ausmasse in Gegenwart lipoidhaltiger Antigene Komplement inaktiviert, ebenso, wenn auch schwächer, wie die wirksamen Bestandteile der Luesseren. — Der thermolabile Teil würde nach unseren Darlegungen der ko-fixierenden Eigenschaft entsprechen.

Einfluss der Salze

Die Salzkonzentration hat einen sehr starken Einfluss auf die Komplementbindungsreaktion, insbesondere nach unseren Erfahrungen bei den unspezifischen Reaktionen. Die alkalischen Salze, wie die doppelkohlensauren und besonders die kohlensauren, haben eine ausgesprochenere Einwirkung als die neutralen Salze, wie beispielsweise das Kochsalz.

Versuch

Es gelangen zur Verwendung:

1) 9 aktive Seren, darunter 3 Luesseren (1 mit positiver Wassermann-Reaktion und 2 mit positiver Meinicke-Reaktion) und 6 nichtluetische Seren. Alle Seren sind zur Entziehung des normalen hämolytischen Systems mit formolfixierten Blutkörperchen behandelt.

2) Antigene.

a) Bordet 0,9 ccm plus 0,1 ccm 1proz. Cholesterinlösung. Mit physiologischer Kochsalzlösung schnell auf 1:20 verdünnt.

b) Bordet 1,0 ccm. Nach Verdampfen des Alkohols wird der Lipoidrückstand mit 20,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen.

c) Bordet, Verdünnung langsam mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1:20.

3) Eine 0,5proz. Lösung von wasserfreiem Natriumkarbonat in physiologischer Kochsalzlösung.

Die zu untersuchenden Seren werden in zwei Hälften geteilt, die eine mit und die andere ohne Zusatz des Natriumkarbonats. Der Zusatz geschieht in der Menge von 0,1 ccm zu jedem Röhrchen.

Tabelle III.

	Ohne Salzzusatz				Zusatz von 0,1 ccm 0,5proz. Karbonatlösung zu jedem Röhrchen		
Röhrchen N.°	1	2	3	4	5	6	7
Serum 1:5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Lösung des kohlens. Natrium	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1
Antigen a	0,5	—	—	—	0,5	—	—
" b	—	0,5	—	—	—	0,5	—
" c	—	—	0,5	—	—	—	0,5
Komplement	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
NaCl	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—
1 Std. 37°. — Zusatz von 0,5 ccm einer 5proz. sensibilisierten Blutkörperchensuspension. Ablesen nach 30 Minuten 37°							
Serum N.°							
Lues 884	H^0	H^0	H^0	H^k	$H^?$	H^0	H^0
" 885	H^0	H^0	H^0	H^k	H^0	H^0	H^0
" 886	H^0	H^0	H^0	H^k	H^0	H^0	H^0
Nichtlues 887	H^0	H^0	H^0	H^k	H^k	H^k	H^k
" 888	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
" 889	H^0	H^0	H^0	H^k	$H^{f.k.}$	$H^{f.k.}$	$H^{f.k.}$
" 890	H^k	H^0	H^0	H^k	H^k	H^k	H^k
" 891	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
" 892	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k

Der Versuch demonstriert überzeugend, dass die unspezifischen Reaktionen der Seren N.° 887, 889 und 890 durch den Zusatz der geringen Menge von 0,1 ccm der Natriumkarbonatlösung vollständig verschwinden. Weiterhin aber beweist dieser Versuch den weiter unten noch näher zu besprechenden Einfluss der Antigene:

Dan schnell verdünnte Antigen a hat trotz des Cholesterinzusatzes eine nur geringe Bindungsfähigkeit.

Den gleichen Einfluss wie die Natriumkarbonatlösung hat eine Lösung von Kaliumbikarbonat, und zwar liegt für die oben geschilderten Versuchsbedingungen das Optimum bei einer 1proz. Lösung in physiologischer Kochsalzlösung. Die 0,5proz. Lösung hat einen noch merklichen Einfluss, die 2,5proz. Lösungen bedingen indessen eine gewisse Hämolysehemmung.

Die Neutralsalze, wie das Kochsalz, haben ebenfalls eine deutliche, wenn auch weniger starke Wirkung. Unter den gewählten Versuchsbedingungen wäre hier eine Konzentration nötig, die etwa der vierfachen der isotonischen entspräche. Zweifellos ist daher für den Einfluss dieser Salze einerseits der Alkalitätsgrad, andererseits die Elektrolytenkonzentration massgebend.

Diese Versuchsergebnisse, insbesondere der Einfluss des Kochsalzes, haben eine besondere Bedeutung; sie sprechen dafür, dass man die Reaktion zu den Globulinreaktionen, und zwar besonders zu den Euglobulinreaktionen stellen muss. Handowsky und Wagner(1) bewiesen, dass die Lipoide des Pferde- und Hammelserums bei den homologen, durch Dialyse salzarm gemachten Seren starke Fällungen verursachten, die indessen durch Zusatz von Salzen zu verhindern sind. Gleiche Untersuchungen stammen von Jarisch(2) über cholesterinisierte Organextrakte. Es ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, dass alle diese als thermolabil beschriebenen Eigenschften ihren Sitz oder mindestens eine sehr grosse Abhängigkeit von der Globulinfraktion des Serums, und zwar besonders von der wasserunlöslichen Euglobulinfraktion haben.

Der Einfluss der Antigene.

Für das Zustandekommen unspezifischer Reaktionen gibt es ausser den bereits geschilderten im Serum selbst beruhenden Faktoren noch andere von grosser Bedeutung, und zwar stellen den wichtigsten Faktor die Antigene dar. Sachs und Rondoni(3) wiesen den Einfluss der Art der Verdünnung der Antigene auf die Komplementbindung nach. Der gleiche Umstand spielt auch die Hauptrolle bei dem Einfluss der Antigene auf das Auftreten unspezifischer Reaktionen. Auch der Cholesterinzusatz ist offenbar über den physikalischen Zustand der Emulsionen wirksam.

Bei allen unseren Antigenversuchen diente das Antigen nach

(1) *H. Handowsky* und *R. Wagner*, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911.
(2) *A. Jarisch*, Pflüg. Arch., Bd. 194, 1922. Vgl. auch *Mona Spiegel-Adolf*, Die Globuline, 1930, S. 378 ff. — *H. Thierfelder* u. *E. Klenk*, Die Chemie der Cerebroside und Phosphatide, 1930, S. 134—142.
(3) Vgl. *J. Bordet*, Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses, 1920, p. 437.

Bordet und Ruelens als Grundlage(1). Es handelt sich um einen alkoholischen Rinderherzextrakt mit vorheriger Azetonbehandlung. 1 ccm entspricht 0,5 frischem Organ. Dieser Extrakt verbindet mit seiner starken Wirksamkeit die Eigenschaft, in den gebräuchlichen Dosierungen keine merklichen antihämolytischen Wirkungen zu zeigen.

Mit diesem Extrakt wurden folgende Reihen von Emulsionen im gleichbleibenden Verdünnungsgrade von 1:20 angesetzt:

a) 1 ccm Extrakt. Schneller Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung zum Extrakt.

b) Bordetscher Extrakt mit 10 Proz. Zusatz einer 1 proz. Cholesterinlösung. Schneller Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung zum Extrakt.

c) 1 ccm Extrakt. Nach Verdampfen des Alkohols werden die Lipoide in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert.

d) 1 ccm Extrakt. Kochsalzlösung wird dem Extrakt fraktioniert zugesetzt.

e) 1 ccm Extrakt. Der Zusatz der physiologischen Kochsalzlösung erfolgt langsam tropfenweise.

f) Extrakt Bordet mit 10 Proz. Zusatz einer 1proz. Cholesterinlösung. Der Zusatz der physiologischen Kochsalzlösung erfolgt langsam tropfenweise.

Diese verschiedenen Emulsionen gelangten bei der WaR. mit nicht erhitzten Seren zur Anwendung, und zwar besonders nach vorheriger Entziehung des hämolytischen Systems durch Zusatz formolfixierter Blutkörperchen. Hierbei beobachtet man, dass bei gleicher Dosierung und gleichen sonstigen Bedingungen die Zahl der unspezifischen Reaktionen von der Emulsion a zur Emulsion f hin ständig beträchtlich zunahm. Bei der cholesterinisierten Suspension b konnte man sogar den Cholesteringehalt oder die Konzentration verdoppeln, ohne dass die Ergebnisse beträchtlich abwichen.

Die Art der Verdünnung spielt somit in meiner Versuchsanordnung entsprechend den Resultaten von Sachs und Rondoni auch bei der Erzielung unspezifischer Resultate eine wesentliche Rolle. Eine besondere Erwähnung verdienen die cholesterinisierten Extrakte: die Vorteile einer grösseren Empfindlichkeit bei der Komplementbindung werden in diesen Versuchen durch eine Vermehrung der unspezifischen Reaktionen und durch ihr unregelmässiges Verhalten wieder aufgehoben. Die physikalischen Bedingungen der cholesterinisierten Emulsionen hängen streng von dem gegenseitigen Verhältnis der Phosphatide und des Cholesterins ab; es muss aus diesem Grunde bei der Herstellung derartiger cholesterinhaltiger Extrakte von dem genau bestimmten Phosphatgehalt der Organextrakte ausgegangen werden.

(1) Vgl. l. c.

Ergebnisse.

Die unterhitzten menschlichen Sera besitzen eine ko-fixierende Fähigkeit bei der Bildung des Komplexes: syphilitischer Antikörper—Antigen—Komplement, ebenso, wie wir es für den hämolytischen Ambozeptor nachgewiesen haben. Diese Eigentümlichkeit zeigen sie in gleicher Weise gegenüber jenen Bestandteilen nichtsyphilitischer Seren, die mit lipoidhaltigen Antigenen (Phosphatiden) in Reaktion treten. Die grössere Reaktionsfähigkeit der unerhitzten Sera bei der Komplementbindung wird auch dadurch sichtbar, dass die positive Reaktion in einer überaus kurzen Zeit eintreten kann, wenn alle notwendigen Elemente gleichzeitig gemischt werden. Diese Eigenschaften sind im gleichen Masse thermolabil, wie wir es für die Ko-Fixierung des hämolytischen Ambozeptors, der antihämolytischen Eigenschaften und des Komplementes nachgewiesen haben. Dies dürfte dafür sprechen, dass alle diese Eigenschaften auf dem gleichen labilen biochemischen Substrat der Seren beruhen.

Diese ko-fixierende Eigenschaft der unerhitzten Seren findet sich wesentlich verstärkt, wenn die Seren vorher durch Behandlung mit formolfixierten Blutkörperchen ihres normalen hämolytischen Systems beraubt worden sind.

Im engsten Zusammenhange mit dieser Eigenschaft steht die grössere Zahl der unspezifischen Reaktionen bei den serodiagnostischen Methoden der Syphilis mit nicht erhitztem Serum.

Die unspezifischen Reaktionen sind nicht nur durch die Hitzeinaktivierung beeinflussbar; sie verschwinden auch bei Zusatz kleiner Mengen von Neutralsalzen (Kochsalz) und noch besser von Salzen mit schwach alkalischer Reaktion (Bikarbonate und Karbonate). Die Ambozeptorfunktionen, auf welche die unspezifischen Reaktionen zurückzuführen sind, treten häufig längere oder kürzere Zeit bei einigen akuten Prozessen (Scharlach, Gonorrhöe und einigen septischen Prozessen) auf. Sie können auch bei hitzeinaktivierten Seren zutage treten, wenn man den Verlauf der Hämolyse von Anfang an genau verfolgt. Bei einigen chronischen Infektionskrankheiten (Lepra usw.) können sie einen so hohen Grad erreichen, dass sie auch bei den hitzeinaktivierten Seren bei der gewöhnlichen Syphilisrektion deutlich werden.

Die Natur der Antigene und die Art der Verdünnung bei der Herstellung der Emulsionen haben einen deutlichen Einfluss auf die unspezifischen Reaktionen.

Die antihämolytische Fähigkeit an sich hat keinen Einfluss auf das Auftreten unspezifischer Reaktionen. Beobachtet man indessen den Verlauf der Hämolyse vor Abschluss der gewöhnlichen Beo-

bachtungszeit, so erkennt man in der etwas verzögerten Hämolyse das Vorhandensein einer gewissen unspezifischen Reaktion.

Bei den serodiagnostischen Methoden der Syphilis mit teilweise erhitzten Seren (Hohn u. a.) ist die Möglichkeit des Auftretens unspezifischer Reaktionen grösser als bei Verwendung der in gewöhnlicher Weise inaktivierten Seren, da hier die für das aktive Serum beschriebenen Eigenschaften teilweise noch erhalten sind. Ein jeder Fehler im hämolytischen System oder in den Antigenen (bei der Beladung cholesterinisierter Antigene) kann die Zahl der unspezifischen Reaktionen ansteigen lassen.

ÜBER DIE ANTIHÄMOLYTISCHEN EIGENSCHAFTEN DES MENSCHENSERUMS.

ZENTRALBLATT FÜR BAKTERIOLOGIE, PARASITENKUNDE UND INFEKTIONSKRANKHEITEN.

Das Problem der Eigenhemmung aktiver und inaktiver Sera hat gemäss seiner grossen Bedeutung für die Praxis der Serodiagnostik bereits wiederholt zur Debatte gestanden. Dabei ist das Phänomen von der Mehrzahl der Serologen(1) den Kolloidlabilitäts-Reaktionen zugezählt worden; nur vereinzelt(2) wurde die Erscheinung durch die Existenz eines Antialexins zu erklären gesucht. Die folgenden Versuche sollen einen Beitrag zu der Frage der Natur der antihämolytischen Eigenschaften des Menschenserums und ihrer Beeinflussung durch Erhitzung liefern.

I.

Werden Menschensera, die am Tage der Entnahme etwa unter den Bedingungen der WaR. in Gegenwart einer ausreichenden Menge Komplement mit sensibilisierten Hammelblutkörperchen eine sehr deutliche Hämolyse geben, im Eisschrank aufbewahrt und nach 2—3 Tagen mit demselben hämolytischen System unter Komplementzusatz untersucht, so ist bei einem Teil der Sera stets eine gewisse Eigenhemmung nachweisbar. Dieses Eigenhemmungsvermögen nimmt in den folgenden Tagen zu und wird innerhalb von 5—10 Tagen so stark, dass eine vollständige Aufhebung der Hämolyse eintritt.

Es handelt sich nun um die Frage, ob hier eine antikomplementäre Wirkung zustande kommt, wie bisher stets angenommen worden ist, oder ob sich unter dem Einfluss der Konservierung des aktiven Serums eine Eigenschaft entwickelt, die gegen die Wirkung des Ambozeptors gerichtet ist.

Ich habe, um diese Frage einer Lösung näherführen zu können, folgende Versuchsanordnung angewandt. Jedes menschliche Serum wurde in der Verdünnung 1:5 einerseits mit dem Meerschweinchenkomplement, andererseits in der gleichen Dosierung mit dem Ambozeptor angesetzt und während 1 Std. im Brutschrank belassen. Nach dieser Zeit wurde in jedem Röhrchen der fehlende

(1) Vgl. *H. Sachs*, Handb. d. pathog. Mikroorg. 3, 3. Aufl. (1928).
(2) Vgl. *J. Kirt*, Alexin und Antialexin. Verlag Gustav Fischer, 1921.

Anteil und Hammelblutkörperchensuspension zugesetzt und nunmehr der Ablauf der Hämolyse beobachtet.

Es ergibt sich das interessante Phänomen, dass nicht etwa der Ausfall bei jedem Serum der gleiche ist, sondern dass bei dem einen Serum das Eigenhemmungsvermögen bei der Berührung mit dem Komplement in den Vordergrund tritt, bei dem anderen durch die Einwirkung auf das Hämolysin. Meine Versuche sprechen dafür, dass nicht nur von einer antikomplementären Eigenschaft, sondern auch von einer Antihämolysinwirkung bei eigenhemmenden aktiven Normalseren gesprochen werden muss.

Versuch

	Bindung mit Hämolysin		Bindung mit Komplement	
Menschliches Serum 1:5	0,25	0,5	0,25	0,5
Hämolysin 1:500	0,4	0,4		
Komplement 1:10	—	—	0,4	0,4
Kochsalzlösung	0,35	0,1	0,35	0,1

Nach 1stünd. Aufenthalt im Brutschrank erfolgt bei denjenigen Seren, die mit Hämolysin angesetzt sind, Zusatz von Komplement und Hammelblutkörperchen-Emulsion, bei denen, die mit Komplement gebunden haben, Zusatz sensibilisierter Hammelblutkörperchen in entsprechender Dosis. Die Resultate gestalten sich bei 6 Versuchsseren folgendermassen:

Serum Nr. 166	H^s	H^z	H^K	H^{K^1})
" " 167	H^s	H^s	H^0	H^0
" " 170	H^s	H^s	H^0	H^0
" " 242	H^0	H^0	H^0	H^0
" " 233	H^0	H^0	H^0	H^0
" " 245	H^s	H^0	H^K	H^K

Die Sera Nr. 166, 242 und 245 haben somit nach dem Versuchsergebnis stärkere Antihämolysinwirkungen, die Sera Nr. 167 und 170 antikomplementäre Eigenschaften durch die Konservierung im Eisschrank erworben. Dieser Unterschied in dem Verhalten einiger Sera gegenüber Ambozeptor und gegenüber Komplement steht nicht etwa in Beziehung zu dem Gehalt der Sera an Normalambozeptor und an Komplement. Unter den Seren, die die Eigenschaft der Hämolysehemmung, insbesondere nach Bindung mit dem Ambozeptor aufweisen, sind Sera mit einem reichen Gehalt an Normalambozeptor und solche, bei denen ein Normalambozeptor nur in einem geringen Grade nachweisbar ist. Auch der Gehalt an

Komplement kann nach 5tägigem Aufenthalt im Eisschrank keine Rolle mehr spielen, wenn auch die experimentelle Prüfung wegen der wechselseitigen antihämolytischen Eigenschaften nicht zuverlässig möglich ist.

Es muss dahingestellt bleiben, ob die Antihämolysinwirkung dadurch zustande kommt, dass die Sera der Vereinigung des Immunhämolysins mit den Blutkörperchen einen verschieden grossen Widerstand entgegensetzen, somit eine Art Schutzkolloidwirkung für die roten Blutkörperchen besitzen, oder ob etwa die Sera ein Adsorptionsvermögen für den Ambozeptor erwerben können.

Die Natur der antikomplementären Eigenschaften der aufbewahrten Menschensera erhält durch meine Experimente über den Einfluss der Erhitzung noch eine weitere Klärung.

II.

Es ist längst bekannt, dass Erwärmen auf die antihämolytischen Eigenschaften von grossem Einfluss ist. Das Verschwinden der antihämolytischen Eigenschaften infolge Erwärmung ist z. B. von Browning und Mc. Kenzie(2), Zinsser und Johannsen(2) nachgewiesen worden. Hübschmann(3) hat bereits die Zunahme der antihämolytischen Eigenschaften der menschlichen Sera bei der Aufbewahrung und das Verschwinden dieser Eigenschaften bei einer Erwärmung auf 56° nachgewiesen.

Aus der grossen Zahl meiner Versuche teile ich einmal Expeerimente mit, die an frischen aktiven Seren den Einfluss der Wärme auf das Auftreten antihämolytischer Eigenschaften ergeben, dann solche, die ihre Wirkung auf bereits vorhandene antihämolytische Eigenschaften demonstrieren sollen.

a) EINFLUSS DER WÄRME AUF DAS AUFTRETEN ANTIHÄMOLYTISCHER EIGENSCHAFTEN.

Frische menschliche Sera ohne antihämolytische Eigenschaften wurden im Wasserbad in Versuchsröhrchen, die zur Verhütung einer Verdampfung mit Pfropfen verschlossen sind, unter genauer Einhaltung eines bestimmten Temperaturgrades gehalten und hinterher ihre antihämolytische Eigenschaft bei 1stünd. Einwirkung auf Komplement nach Austitrierung mit Ambozeptor und Hammelblutkörperchen geprüft. Dabei wurde das zu prüfende Serum in der Verdünnung 1:5 in der Dosis von 0,15—1 ccm verwandt. Es gelangten 2 Einheiten Immunhämolysin und 2 Einheiten Meerschweinchen-Komplement zur Anwendung.

(1) H^0 keine Hämolyse, H_K komplette Hämolyse, H^1-H^9 Grad der Hämolyse bis zur kompletten Hämolyse.
(2) Vgl. Literatur bei *Sachs*.
(3) *Hübschmann*, Z. Immun.forschg. *26* (1929).

Versuchsreihe I: Bei Aufbewahrung bei niedriger Temperatur und bei Zimmertemperatur (unter aseptischen Vorsichtsmassnahmen) ergeben sich erhebliche Unterschiede in dem Verhalten der Sera, was die Entwicklung antihämolytischer Eigenschaften angeht. Die Temperatur zwischen 5 und 10° ist am ehesten geeignet, das Entstehen antihämolytischer Eigenschaften zu verhindern.

Versuchsreihe II: 5 menschliche Sera wurden in 4 Portionen geteilt. Eine wurde ohne Erwärmung aufbewahrt (Kontrolle), von den 3 anderen Portionen je eine auf 40, 45 und 50° eine halbe Stunde erhitzt. Nach Einwirkung der Hitze wurden sie im Kühlschrank bei einer Temperatur von — 1 bis + 3° konserviert. Bei 2 Seren entwickelten sich im Laufe von 5 Tagen bei der unerwärmten Portion und den auf 40 und 45° erhitzten Portionen starke antihämolytische Eigenschaften, während die auf 51° erhitzte keine Hemmung der Hämolyse aufwies.

Versuchsreihe III: 7 menschliche aktive Sera wurden in gleicher Weise in 4 Portionen geteilt. Wieder wurde je eine ohne Erhitzung aufbewahrt; die anderen drei wurden auf 45, 50, 52° ½ Std. erhitzt. Nach 5tägiger Aufbewahrung fanden vergleichende Untersuchungen aller Serumportionen statt. Die Resultate gingen auseinander. Bei einem Serum (Nr. 379) hatte allein die auf 45° erwärmte Portion antihämolytische Eigenschaften, während die auf 50 und 52° erwärmten sie nicht aufwiesen. Bei einem anderen Serum (Nr. 380) hemmte die nicht erwärmte Portion und die auf 45° erwärmte vollständig die Hämolyse, während die beiden anderen keinen Einfluss zeigten.

Versuchsreihe IV: 11 aktive Sera ohne antihämolytische Eigenschaften wurden in drei Portionen geteilt, von denen die eine nicht, die beiden anderen auf 50 und 52° erwärmt und hinterher im Eisschrank aufbewahrt wurden. Nur bei drei Seren entwickelten sich in den unerwärmten Portionen antihämolytische Eigenschaften.

b) EINWIRKUNG DER WÄRME AUF DAS VERSCHWINDEN ANTIHÄMOLYTISCHER EIGENSCHAFTEN.

Hatten die bisherigen Versuchsreihen das Ziel, den Einfluss der verschiedenen Temperaturgrade auf die Entwicklung antihämolytischer Eigenschaften zu studieren, so haben die folgenden die Aufgabe, den Einfluss der Wärme auf das Verschwinden der antihämolytischen Fähigkeit zu demonstrieren. Die Versuchsanordnung war die gleiche, wie sie oben beschrieben worden ist. Es wurden nur Sera mit kräftigen antihämolytischen Eigenschaften für den Versuch herangezogen.

Versuchsreihe V: Von 6 Seren wurde eine Portion nicht erwärmt; zwei andere wurden auf 40 und 45° während 30 Minuten

erhitzt. Die antihämolytischen Eigenschaften verschwanden bei keiner der zur Untersuchung gelangenden Serumportionen.

Versuchsreihe VI: In dieser Versuchsreihe wurde der Einfluss einer Temperatur von 50° auf unverdünnte und 1:2 verdünnte Sera mit Eigenhemmung studiert. Die unverdünnten Sera verloren einen grossen Teil ihrer eigenhemmenden Fähigkeit, dier verdünnten Sera behielten sie dagegen fast völlig.

Versuchsreihe VII: Einfluss der Temperatur von 52 und 53,5° auf die Eigenhemmung der Sera in unverdünntem und verdünntem Zustande. Die unverdünnt während 30 Min. bei dieser Temperatur gehaltenen Sera verloren vollständig ihre antihämolytischen Eigenschaften. Vorherige Lösung vermindert aber den Einfluss der Erwärmung. Verdünnung 1:2 hat bei dieser Temperatur nur noch geringen Einfluss. Die im Verhältnis 1:3 und 1:4 verdünnten Sera verharren aber in dem Zustand der Eigenhemmung.

Versuchsreihe VIII: Erwärmung auf 55° während 30 Minuten. Über den Einfluss dieser Temperatur liegen, da die Anwendung dieses Hitzegrades der bei der Inaktivierung allgemein üblichen Methode entspricht, augedehnte Erfahrungen vor. Aus der grossen Zahl meiner Versuche seien daher nur einzelne interessante Einzelheiten erwähnt. Wieder zeigt sich, dass die Erwärmung bei dem unverdünnten Serum rasch (in 15 Min.) die antihämolytischen Eigenschaften vernichtet, dass aber mit dem Grade der Verdünnung die Tendenz zum Bestehenbleiben der antihämolytischen Eigenschaften zunimmt. Bei einer Verdünnung 1:8 blieb bei einzelnen Seren der grösste Teil der Fähigkeit zur Hemmung der Hämolyse erhalten. Es erscheint bemerkenswert, dass die Hämolysehemmung nur bei vorangegangener Einwirkung auf das Komplement sichtbar wird, und nicht etwa, wenn Komplement und sensibilisierte Blutkörperchen gleichzeitig zugefügt werden.

Es bedarf wieder der Feststellung, ob es sich bei der hämolysehemmenden Wirkung der verdünnten Sera um eine antikomplementäre Funktion handelt, oder ob eine Antiambozeptorwirkung vorhanden ist. Das folgende Protokoll, bei welchem die Sera in drei Portionen geteilt und entweder unverdünnt oder 1:4 verdünnt oder 1:8 verdünnt erwärmt wurden und in der Lösung 1:16 in dem Versuche Verwendung fanden, illustriert die Natur des Hemmungsvermögens.

	Erhitzung ohne Verdünnung		Erhitzung bei Verdünnung 1:4		Erhitzung bei Verdünnung 1:8	
Serum 1:16	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Komplement 1:10	0,2	—	0,2	—	0,2	—
Immunhämolysin	—	0,2	—	0,2	—	0,2

Nach einer Stunde Aufenthalt im Brutschrank Hinzufügung von Komplement und Hammelblutkörperchen, oder von sensibilisierten Hammelblutkörperchen. Die Resultate sind für 5 verschiedene Sera folgende:

Serum Nr. 761	H^k	H^k	H^r	H^k	H^0	H^k
" " 762	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k
" " 763	H^k	H^k	H^r	H^k	H^0	H^k
" " 764	H^k	H^k	H^r	H^k	H^0	H^k
" " 767	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k	H^k

Es ergibt sich, dass die unverdünnt erhitzten Seren ihre antihämolytischen Eigenschaften völlig eingebüsst, dass dagegen unter den 1:4 verdünnt erwärmten und insbesondere den 1:8 verdünnt erwärmten Sera einzelne ihr Hemmungsvermögen fast vollständig bewahrt haben, weiter aber, dass es sich hier nicht um eine Antiambozeptorwirkung, sondern ausschliesslich um eine antikomplementäre Eigenschaft handelt!

Die grosse Bedeutung des Verdünnungsgrades auf das Verschwinden der antikomplementären Eigenschaften ist bereits von Kiss und Takenomata(1) beobachtet worden. Auch in anderer Hinsicht ist die Bedeutung der Verdünnung des Menschenserums für Immunitätsphänomene schon erkannt worden. Besredka(2) hat z. B. bereits gezeigt, dass die Hitzeresistenz der sensibilisierenden Eigenschaften der Sera mit dem Grade der Verdünnung ausserordentlich wächst. Sachs und Klingenstein haben in ihren Studien über die Thermolabilität der Antikörperfunktionen die Rolle der Verdünnung beschrieben. Bordet hat bereits 1899 gezeigt, dass der Hitzewiderstand der normalen Antikörper und auch der Immunantikörper nicht nur von der Antikörperart, sondern auch von der Thermostabilität der verschiedenen Sera abhängt.

Von besonderem Interesse ist in all diesen Versuchen das Verhältnis der antihämolytischen Eigenschaften zu dem Komplement. Die antihämolytischen Eigenschaften der aktiven Sera entwickeln sich in der Aufbewahrungszeit zugleich mit der Spontaninaktivierung des Komplements. Die bereits vorhandenen antihämolytischen Eigenschaften verschwinden mit derselben Erhitzung auf 55°, die die Inaktivierung des Komplements mit sich bringt. Antihämolytische Eigenschaften und Komplementwirkung sind getrennte Funktionen des Kolloidzustandes der Serum-Eiweissteilchen. Die Komplementwirkung ist nach F. Klopstock(3) an die Unversehrtheit des kolloidalen Systems des Serumeiweisses gebunden; die antihämolytischen

(1) Vgl. Literatur bei *Sachs*.
(2) *Besredka, A.*, C. r. Soc. Biol. *63*, 294 (1929).
(3) *F. Klopstock*, Dtsch. med. Wschr. *1924*, Nr. 35 u. 51. — Ders., Zbl. Bakter. I Re. *85*, 323 (1927).

Eigenschaften treten offenbar mit einer Störung im Aufbau der Serumkolloide zutage. Die antihämolytischen Eigenschaften verschwinden mit einer Erhitzung, die dem Aufbau der Serum-Eiweissteilchen eine neue Stabilität zu geben vermag, die aber die Komplementwirkung vollkommen aufhebt.

Zusammenfassung.

Meine Untersuchungen über die antihämolytischen Eigenschaften des Menschenserums und den Einfluss der Erwärmung haben somit zu bemerkenswerten Ergebnissen geführt.

1. Menschensera, die 5—10 Tage im Eisschrank aufbewahrt werden, weisen eine erhebliche antihämolytische Wirkung auf. Werden diese Sera in einer Versuchsreihe in Berührung mit dem Komplement und in einer zweiten Reihe mit dem Hämolysin während einer Stunde im Brutschrank gelassen, so zeigen nach Ergänzung des hämolytischen Systems einige Sera die höchste antihämolytische Wirkung in der Komplementreihe und andere in der Hämolysinreihe. Es besitzen somit einige Sera eine besondere antikomplementäre, andere wieder eine Antiambozeptorwirkung. Diese Differenz in dem Einfluss auf Komplement und Ambozeptor steht nicht etwa in Beziehung zu dem Vorhandensein oder der Menge des Normalambozeptors.

2. Erwärmung der eigenhemmenden Sera vermag die antihämolytischen Eigenschaften zu zerstören. Erwärmung auf 45° für 30 Min. ist noch nicht imstande, die Eigenhemmung aufzuheben; sie vermag sogar das Phänomen noch zu steigern. Erwärmung auf 50° kann die Eigenhemmung fast komplett aufheben, Erwärmung auf 52° während 30 Min. lässt die antihämolytische Eigenschaft vollständig verschwinden. Bei verdünnten Seren steigt die Thermoresistenz der antihämolytischen Fähigkeit mit dem Grade der Verdünnung. Sera, die 1:2 verdünnt sind, bewahren ihre Eigenhemmung noch bei Erhitzung auf 50°, Sera, die 1:4 verdünnt sind, noch bei 52—53°. Einzelne 1:8 verdünnte Sera bewahren noch bei 55° Erhitzung ihre Eigenschaft. Die antihämolytische Wirkung der verdünnten Sera ist, wie sich erweisen lässt, eine antikomplementäre.

3. Es ergibt sich, dass bei der Konservierung aktiver Sera Spontaninaktivierung und Erwerbung antihämolytischer Eigenschaften sich nebeneinander entwickeln, dass aber Erwärmung Eigenhemmung und Komplementwirkung gleichzeitig aufhebt. Die Spontaninaktivierung geht mit dem Entstehen antihämolytischer Wirkung einher; die Hitzeinaktivierung hebt gleichzeitig antihämolytische Wirkungen auf.

UNTERSUCHUNGEN ZUR VERWENDUNG FORMOLFIXIERTER HAMMELBLUTKÖRPERCHEN IN DER SERODIAGNOSTIK

ZENTRALBLATT FÜR BAKTERIOLOGIE, PARASITENKUNDE UND INFEKTIONSKRANKHEITEN

Die Inaktivierung des Komplements durch Erhitzung auf 55° setzt die Reaktionsfähigkeit der Sera, wenn auch in geringem Masse, herab; weiterhin wird der Normalambozeptor gegen Hammelblutkörperchen, der in der grossen Mehrzahl der Menschensera vorhanden ist, nicht ausgeschaltet. Die Anstellung serodiagnostischer Untersuchungen an hitzeinaktivierten Seren ist somit nicht als eine ideale Methode anzusprechen. Ich habe daher versucht, die Aufhebung der Komplementwirkung der zu untersuchenden Sera auf andere Weise zu erreichen und gleichzeitig den Normal-Hammelblutkörperchen-Ambozeptor zu eliminieren, und bin nach vielen Experimenten zu einer Vorbehandlung der Sera mit formolfixierten Hammelblutkörperchen gelangt. Im folgenden soll die Technik der Fixierung, die antigenen Eigenschaften der formolfixierten Hammelblutkörperchen und ihr Adsorptionsvermögen für den Normalambozeptor und das Komplement zur Darstellung gebracht werden.

Die Technik der Herstellung der formolfixierten roten Blutkörperchen ist folgende: Wiederholtes Waschen der roten Hammelblutkörperchen, wie für den Hämolyseversuch; Auffüllung mit physiologischer Kochsalzlösung zum Blutoriginalvolumen; Zusatz von Formalin in einem Verhältnis, dass eine Formalinkonzentration von 5—10 Proz. erreicht wird; wiederholtes Schütteln. Nach 18—48 Stunden erfolgt, wenn die Blutkörperchensuspension eine braune Färbung angenommen hat, erneute Waschung mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Blutkörperchen sind dabei in ihrer histologischen Beschaffenheit erhalten geblieben. Eine 5proz. Formalinkonzentration fixiert die Blutkörperchen innerhalb von 48 Std., eine 10proz. innerhalb 24 Std. Bildet sich nach Zusatz einer 10proz. Formalinlösung eine gallertähnliche Masse, so genügt Zusatz eines gleichen Volumens physiologischer Kochsalzlösung, um eine homogene Suspension zu erhalten.

Derartig behandelte Blutkörperchen erwerben neue charakteristische Eigenschaften: Die Wichtigste ist die starke Agglutinier- 1:234, der Durchschnittstiter bei 7 Tieren (behandelt mit formalinisierten Blutkörperchen) 1:95. Gegenüber formalinisierten Blutkörperchen ist der Agglutinintiter, unabhängig von der Herstellungsart des Immunserums, entweder der gleiche wie gegenüber natürlichen Blutkörperchen oder aber auch stark vermindert.

barkeit und Erhöhung der Senkungsgeschwindigkeit durch die Sera von Leprakranken (die eigentümliche Veränderung ist von mir in früheren Arbeiten zu einer spezifischen Reaktion der Lepra ausgebaut worden). Gegenüber anderen Menschensera, welche Hammelblutkörperchen-agglutinierende Eigenschaften haben, zeigt sich dagegen ihre Agglutinabilität unverändert oder vermindert. Weiter sind die so behandelten Blutkörperchen weder durch destilliertes Wasser noch durch spezifischen Amboezptor in Gegenwart von Komplement hämolysierbar.

Antigene Eigenschaften der formolfixierten roten Blutkörperchen

Zum Studium der antigenen Eigenschaften der formalinisierten roten Blutkörperchen wurden drei Serien von Kaninchen teils mit unvorbehandelten Hammelblutkörperchen, teils mit formalinisierten Blutkörperchen behandelt. Einzeldosis ½—3 ccm, Abstand der Einspritzungen 4—7 Tage. Zahl der Injektionen 4. Die erste Serie erhielt subkutane, die zweite intraperitoneale, die dritte intravenöse Einspritzungen. Die Resultate gehen aus folgenden Tabellen hervor.

Es ergibt sich somit: Der Hämolysintiter beträgt bei 5 Tieren, welche mit unvorbehandelten Blutkörperchen vorbehandelt sind, 960 Einheiten; der Durchschnitt bei 7 Tieren, welche Einspritzungen formolfixierter Blutkörperchen erhalten haben, ist 970 Einheiten. — Der Agglutinintiter für natürliche Hammelblutkörperchen beträgt für 6 Tiere (vorbehandelt mit natürlichen Blutkörperchen)

Kaninchen	Nr.	Einspritzung mit	Hämolytischer Titer	Agglutinationstiter gegen	
				unvorbeh.	formolfix.
				Blutkörperchen	
Serie I	1	unvorbeh. Blutk.	1:1000	1:50	0
	2	formal. "	1:1000	1:10	0
	3	" "	1: 700	1:10	0
Serie II	4	unvorbeh. Blutk.	1: 800	1:33	Ø
	5	" "	1: 400	1:25	1:25
	6	" "	1:1300	1:50	1:30
	7	formal. "	1: 500	1:33	1:25
	8	" "	1: 800	1:33	1:33
	9	" "	1:1000	1:33	1:25
Serie III	10	unvorbeh. Blutk.	—[1])	1:1000	1:1000
	11	" "	1:1300	1: 250	1: 250
	12	formal. "	1: 800	1: 50	0
	13	" "	1:2000([2])	1: 500	1: 500

(1) Der hohe Agglutinintiter verhindert Ablesen des Hämolysintiters.

(2) H^0 = keine Hämolyse. H^4 = komplette Hämolyse. H^1—H^3 = Grad der Hämolyse bis zur kompletten Hämolyse (Methode von *Ferrata*).

Absorption des Immunambozeptors durch natürliche und durch formolfixierte rote Blutkörperchen.

Die formalinisierten Blutkörperchen bewahren trotz ihrer histologischen Fixierung die Eigenschaft, den spezifischen Ambozeptor an sich zu reissen. Ihre Absorptionsfähigkeit ist jedoch gegenüber der von natürlichen Blutkörperchen, wie bereits Landsteiner und Prasek gezeigt haben, vermindert.

Der folgende Versuch demonstriert die Differenz in der Absorptionsfähigkeit:

Versuch

	Behandlung mit natürlichen Blutkörperchen						Behandlung mit formolfixierten Blutkörperchen					
Röhrchen	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Amboz. $^1/_{200}$	0,15	0,3					0,15	0,3				
Amboz. $^1/_{50}$	—	—	0,06	0,12	0,18	0,24	—	—	0,06	0,12	0,18	0,24
Kochsalzlösung	0,35	0,20	0,44	0,38	0,32	0,26	0,35	0,20	0,44	0,38	0,32	0,26
Blutkörperchensuspension	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Nach 1stünd. Aufenthalt im Brutschrank werden die Röhrchen zentrifugiert und der Hämolysinüberschuss unter Zusatz von Komplement und einer nichtsensibilisierten Blutkörperchensuspension gemessen.

	Behandlung mit natürlichen Blutkörperchen						Behandlung mit formolfixierten Blutkörperchen					
Röhrchen	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
5proz. Blutkörperchensuspension	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Meerschweinchenkomplement $^1/_{35}$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Resultat [2])	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0	H^k	H^k	H^k

Die Absorptionskraft der natürlichen Blutkörperchen ist nach meinen Erfahrungen vierfach so gross als die der formalinvorbehandelten; Grad und Dauer der Formalineinwirkung haben einen leichten Einfluss auf die absorbierenden Fähigkeiten. Die Absorption des Immunambozeptors kommt auch bei niedrigen Temperaturen zustande (Eisschrank).

Einfluss aktiver Menschensera auf die Absorption des Immunambozeptors.

Cofixierende Eigenschaft des aktiven Menschenserums.

Bei meinen vergleichenden Untersuchungen über die Absorptionsfähigkeit der formalinisierten Blutkörperchen gegenüber Normalambozeptor und Immunambozeptor gelangte ich zu dem Resultat, dass die Absorption des Ambozeptors des normalen Menschenserums in weit reichlicherem Masse erfolgt als die des Immunambozeptors. Das Ergebnis liess mich vermuten, dass das aktive Menschenserum eine die Absorptionsfähigkeit unterstützende Eigenschaft besitzt, und veranlasste mich, in einem Versuch nebeneinander das Absorptionsvermögen mit und ohne Zusatz von aktivem Menschenserum, das frei von hämolytischen Eigenschaften ist, zu vergleichen.

Versuch

	Ohne Serum						Mit Serum					
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Immunhämolys. $^1/_{10}$	0,16	0,20	0,24	0,28	0,32	0,36	0,16	0,20	0,24	0,28	0,32	0,36
Menschenserum	—	—	—	—	—	—	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Kochsalzlösung	0,84	0,80	0,76	0,72	0,68	0,64	0,74	0,70	0,66	0,62	0,58	0,54
Formalinblutk. 10%	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Die Röhrchen müssen einzeln geschüttelt werden. Nach 1 Std. bei 37° im Brutschrank werden sie gleichzeitig zentrifugiert und die Gesamtflüssigkeit von jedem Röhrchen wird zum Messen des überschüssigen Hämolysins benutzt.

	Ohne Serum						Mit Serum					
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Blutkörperchensuspension 5%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Komplement $^1/_{10}$	0,2	0,2	0,2	—	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Resultat	H^0	H^0	H^0	H^0	H^k	H^k	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0	H^0

Der Versuch ergibt ein eindeutiges Resultat: Die Absorptionskraft ist durch Zusatz des Menschenserums erheblich gesteigert worden. Ich bezeichne diese Eigenschaft des Menschenserums in Anlehnung an den Ausdruck Coagglutination als co-fixierende Eigen-

schaft. Es ist eine Fähigkeit des aktiven Menschenserums; ihrem Studium ist noch eine weitere Publikation gewidmet(1).

Absorption des Meerschweinchenkomplements durch formalinfixierte rote Blutkörperchen.

Die Absorptionsfähigkeit der formalinfixierten Blutkörperchen für das Meerschweinchenkomplement ist eine eng begrenzte. Nur stark konzentrierte Aufschwemmungen (mindestens 20 Proz.) können einen kleinen Teil Komplement absorbieren. Von besonderer Wichtigkeit erscheint aber, dass die Anwesenheit von Immunambozeptor die Absorptionsfähigkeit zu steigern vermag.

Versuch

	Nichtsensibilis. Blutkörp.				Sensibilisierte Blutkörp.			
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	1	2	3	4
Komplement $^1/_{10}$	0,2	0,4	0,6	0,8	0,2	0,4	0,6	0,8
Kochsalzlösung	0,8	0,6	0,4	0,2	0,8	0,6	0,4	0,2
Blutkörperchensuspens.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Die Absorption erfolgt unter den gleichen Bedingungen wie im vorigen Versuch. Zum Abmessen des überschüssigen Komplements setzt man 0,5 ccm einer 5proz. gewöhnlichen Blutkörperchenaufschwemmung, sensibilisiert mit 2,5 E. Hämolysin hinzu.

Resultat	H^k	H^k	H^k	H^k	H^s	H^k	H^k	H^k

Absorption von Normalambozeptor und Komplement des aktiven Menschenserums.

Ich komme jetzt zu meinen Versuchen, Normalambozeptor und Komplement des aktiven Menschenserums durch formolfixierte Hammelblutkörperchen zu absorbieren, somit zu jenen Experimenten, die für die praktische Anwendung der Methode in der Serodiagnostik massgebend sind. Ihre Resultate haben mich veranlasst, eine neue Methode in der Serodiagnostik der Syphilis mit aktiven absorbierten Seren auszuarbeiten (vergleiche IV. Südamerikanische Versammlung für Mikrobiologie und Hygiene in Buenos Aires 1926).

Meine Versuche ergeben die Abhängigkeit der vollständigen Absorption von Normalambozeptor und Komplement insbesondere von zwei Umständen: Einmal erscheint das relative Verhältnis von

(1) Erscheint Z. Immun.forschg.

Serumkonzentration und Konzentration der Suspension formalinisierter Hammelblutkörperchen von grosser Bedeutung. Bei unverdünnten Seren ist das gleiche Volumen einer 50proz. Aufschwemmung notwendig, bei einer Serumverdünnung 1:2,5 das gleiche Volumen einer 15—25proz. Suspension. Weiter ergibt sich bemerkenswerterweise, dass die Absorption des Komplements zu dem Vorhandensein von Normalambozeptor in Beziehung steht. Die Absorption des Komplements ist nicht an das Vorhandensein von Normalambozeptor gebunden; sie kommt auch an sich, wenigstens bis zu einem gewissen Grade, in der gleichen Weise durch die formolfixierten Blutkörperchen zustande, wie durch eine grosse Zahl anderer kolloidallöslicher Substanzen; sie ist jedoch dort am vollständigsten, wo gleichzeitig die Absorption eines Ambozeptors durch die formalinisierten Hammelblutkörperchen erfolgt.

Es bleibe nicht unerwähnt, dass nach Weinberg, de Lerede und Rubinstein fast alle Menschensera Antihammelbluthämolysin enthalten, nach Muterlich 95 Proz., nach E. Pery und Rhodes 80 Proz.

Der folgende Versuch demonstriert an 5 verschiedenen Seren, bei denen der Gehalt von Normalambozeptor geprüft wird, den Einfluss formolfixierter und den Einfluss sensibilisierter formolfixierter Hammelblutkörperchen auf die Absorption von Ambozeptor und Komplement.

Schema des Versuchs

	Nachweis des Hämolysins (am inaktiven Serum)		Nachweis der Komplementabsorption (am aktiven Serum) durch Behandlung mit formolfixiert. Hammelblutkörperchen.			
			nicht sensib. Blutk.		sensib. Blutk.	
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6
Serum 1:5	1 ccm	0,5 ccm	1 ccm	0,5 ccm	1 ccm	0,5 ccm
Komplement	0,35	0,35	—	—	—	—
Kochsalzlösung	—	0,5	0,35	0,85	0,35	0,85

	Aufschw. von nicht sensibil. Blutkörperchen, 1 ccm in jedes Röhrchen		Aufschw. von sensib. natürl. Blutkörp., 1 ccm in jedes Röhrchen			
	Ablesen nach 30 Minuten Brutschrank					
Serum Nr. 490	H^e	H^f	H^g	H^h	H^i	H^o
" " 493	H^g	H^i	H^i	H^l	H^p	H^o
" " 494	H^k	H^k	H^n	H^o	H^o	H^o
" " 495	H^k	H^k	H^n	H^o	H^o	H^o
" " 496	H^e	H^n	H^g	H^k	H^o	H^o

Die Ergebnisse des Versuchs sind folgende: Die Sera 490 und 496, die keinen Normalambozeptor enthalten, und 493 mit einem geringen Gehalt an Normalambozeptor weisen nach Absorption mit nichtsensibilisierten formalinisierten Hammelblutkörperchen einen deutlichen Komplementüberschuss auf. Dieselben Seren zeigen keine oder fast keine Komplementwirkung, wenn die Absorption mit sensibilisierten formalinisierten Blutkörperchen stattgefunden hat.— Die Sera 494 und 495, die einen reichlichen Gehalt an Normalambozeptor besitzen, lassen bereits nach Absorption mit nichtsensibilisierten Blutkörperchen keine Komplementwirkung mehr in Erscheinung treten. Die Resultate dieses Versuchs sind von besonderem Interesse für die Theorie der Komplementwirkung, indem sie dartun, dass sensibilisierte Blutkörperchen, denen durch Fomalinbehandlung die Fähigkeit der Lösung genommen ist, in stärkerem Masse Komplement absorbieren als nichtsensibilisierte.

Eigenhemmung absorbierter Sera.

Ich habe in einer anderen Publikation gezeigt, dass die antihämolytischen Eigenschaften aktiver Menschensera sich in eine antikomplementäre und in eine Antiambozeptorfunktion zerlegen lassen. Von Seren, die mit formalinisierten Blutkörperchen vorbehandelt sind, lässt sich demonstrieren, dass nunmehr die Antikomplement- und die Antiambozeptorfunktion sozusagen verwischt ist. Es existieren nicht mehr Sera, die eine antikomplementäre Funktion haben, und wieder andere, die eine Antiambozeptorfunktion ausüben. Lässt man in gleicher Weise, wie es früher beschrieben worden ist, in verschiedenen Röhrchen das Serum auf Komplement und auf Ambozeptor einwirken und ergänzt hinterher den Hämolyseversuch, so fallen in beiden Röhrchen die Versuche gleichsinnig aus.

Zusammenfassung.

1) Es gelingt, durch Fomalinbehandlung Hammelblutkörperchen so zu fixieren, dass sie in ihrer histologischen Beschaffenheit erhalten bleiben, dass sie aber weder durch destilliertes Wasser, noch durch spezifischen Ambozeptor in Gegenwart von Komplement hämolysierbar sind.

2) Die formolfixierten Hammelblutkörperchen bewahren ihre antigenen Eigenschaften. Sie sind imstande, im Kaninchenversuch Hämolysin und Agglutinine zu erzeugen.

3) Die formolfixierten Blutkörperchen behalten die Eigenschaft, den spezifischen Ambozeptor zu absorbieren. Die Absorp-

tionsfähigkeit ist gegenüber derjenigen der natürlichen roten Blutkörperchen herabgesetzt. Zusatz aktiven Menschenserums vermag die Absorption des spezifischen Ambozeptors erheblich zu steigern. (Cofixierende Eigenschaft des aktiven Menschenserums).

4) Behandlung des aktiven Menschenserums mit formolfixierten Hammelblutkörperchen hat die Absorption des Normalambozeptors und die Inaktivierung des Komplements zur Folge. Bei diesem Vorgang spielt das relative Verhältnis von Serumkonzentration und Konzentration der Suspension formolfixierter Hammelblutkörperchen eine Rolle. Von Bedeutung ist jedoch auch der mehr oder weniger reichliche Gehalt an Normalambozeptor. Sensibilisierte formolfixierte Hammelblutkörperchen haben ein grösseres Absorptionsvermögen für das Komplement als nicht sensibilisierte Blutkörperchen.

SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA LÈPRE PAR L'AGGLUTINO-SÉDIMENTATION DES GLOBULES DE MOUTON FORMOLÉS

(Travail du laboratoire du professeur Marchoux)

Extrait des *Annales de l'Institut Pasteur.* (Août 1931. — Tome XLVII, p. 147)

Quelques expérimentateurs ont obtenu certains résultats contradictoires concernant la réaction d'agglutino-sédimentation des globules de mouton formolés dans la lèpre; nous attribuons ces résultats à l'utilisation incertaine de la première technique publiée, encore insuffisante. Toutefois, devant ces faits, nous avons résolu de reprendre, dans des conditions particulièrement sévères, un nouvel ensemble d'expériences comportant de nombreuses réactions de contrôle sur des cas d'affections les plus diverses, en particulier la syphilis, la tuberculose et différentes maladies du sang d'origine tropicale où la réaction semblait avoir donné des résultats plus inconstants.

Nous tenons à remercier ici de tout cœur M. le professeur Marchoux de l'hospitalité qu'il nous a offerte et des conseils qu'il a bien voulu nous donner.

Nous adressons aussi à M. le Dr. H. Monier l'expression de notre vive gratitude pour l'intérêt qu'il a pris à nos expériences et pour la peine que lui a imposée la correction de notre texte français.

La première technique que nous avons publiée (1) comportait seulement l'utilisation d'une suspension de globules de mouton formolés, diluée au double du volume originel de sang et mélangée en parties égales avec les sérums à examiner. Peu après, nous avons décelé dans quelques sérums humains, non lépreux, un fort pouvoir agglutinant pour les suspensions de globules de mouton à l'état naturel (non formolés) et observé même dans quelques cas l'extension de ce pouvoir agglutinant aux globules formolés.

Dans un travail ultérieur, nous avons étudié les méthodes propres à différencier les sérums lépreux de ceux qui, n'appartenant pas à des lépreux, constituaient les exceptions précédentes et, de ce fait, agglutinaient et sédimentaient les globules formolés. Il fut ainsi établi que l'agglutino-sédimentation des globules formolés produite par les sérums lépreux était due à l'existence d'agglutinines agissant

(1) *M. C. Rubino.* "Societad de Dermatologia de Montevideo". Sezio de junio 8, 1926; "Revista médica del Uruguay", 24, f. 9, 1926.

électivement sur les globules formolés, et qu'en dehors des cas de lèpre, les phénomènes d'agglutination des globules de mouton etaient dûs à des hétéro-agglutinines non spécifiques parfois présentes dans des sérums divers, pathologiques ou normaux; elles agissent toujours plus fortement sur les globules naturels et elles n'atteignent les globules formolés que d'une manière moins intense (1).

Quelques mois après était publiée (2) notre technique plus perfectionnée; elle comportait l'utilisation de deux séries de trois tubes, en introduisant une série de trois tubes de globules naturels comme contrôle; elle comprenait enfin des doses décroissantes de sérum et des doses fixes de suspension globulaire.

En 1928, le professeur Marchoux et Caro (3) publièrent un travail confirmant ces faits fondamentaux et le caractère exclusif de leur présence dans la lèpre; mais ils trouvèrent un pourcentage inférieur à ceux précédemment notés par nous.

M. Peltier (4), avec la première technique, n'a trouvé que 22 p. 100 de cas positifs sur 18 sujets lépreux examinés, mais aucune réaction de contrôle positive.

Monacelli (5), sur 13 lépreux examinés, trouve 12 réactions positives et il accorde à la réaction une grande valeur pour le diagnostic des suspects.

Markianos (1), sur 104 examens de sérums divers, n'a trouvé qu'un cas positif chez un sujet originaire d'un pays où sévissait la lèpre et dont on ne put contrôler le diagnostic.

Nous-même (2), dans un dernier travail, avons trouvé sur 38 sérums lépreux examinés, 32 positif, 1 douteux et 5 négatifs, soit un pourcentage de 84 p. 100 de réactions positives; sur 2.000 réactions de contrôle faites, aucune ne fut trouvée positive.

Silva Araujo, au Brésil, et Borzone, en Argentine, ont présenté en octobre 1930, au Congrès médical du centenaire, à Montevideo, des travaux favorables.

Dernièrement, Pinto de Figuereido (3), dans sa Thèse de Doctorat, a examiné 65 sérums lépreux et trouvé 74 p. 100 de résultats positifs dans les formes tubéreuses et mixtes, 26,6 p. 100 dans les formes nerveuses et latentes; sur 43 sérums provenant de divers malades (tuberculose pulmonaire, lupus tuberculex, blasto-

(1) *M. C. Rubino.* "Revista de la Societad argentina de Biologia". Anno 2, octobre 1926; "C. R. S. Biol., 96, t. 3, 1927.
(2) *M. C. Rubino.* "Sociedad de Derm. y Sifil. de Montevideo", Session Novembre 1926. Réaction sérologique dans la lèpre. "Revista médica del Uruguay", núms. 3-4, 1929.
(3) *Marchoux et Caro.* Ces "Annales", 42, mai 1928.
(4) *M. Peltier.* "De la valeur technique de la méthode de Rubino pour la recherche de la sédimentation globulaire chez les lépreux". "Bull. Soc. Path Ex.", année 21, n.° 10, 1928.
(5) *Monacelli.* "Giorn. Ital. de Dermat.", 69, 1928.
(1) *Markianos.* Réaction de sédimentation des globules de mouton formolés dans la lèpre. "Bull. Soc. Path. Ex.", n.° 5, 1929.
(2) *M. C. Rubino.* "Revista médica del Uruguay", Nos. 3-4, 1929.
(3) *A. P. de Figueiredo.* O diagnostico serologico da lepra pela reacção de Rubino Thèse de Doctorat, Rio de Janeiro, 1931.

mycose, leishmaniose, épithéliomatose, granulomatose, fracture, grossesse, sujets traités par des sérums thérapeutiques), il n'a pas trouvé une réaction positive. Il en conclut que la *réaction de Rubino* est pathognomonique de la lèpre et qu'elle est un precieux auxiliaire pour le diagnostic.

Dans ce travail, après avoir décrit en détail la technique, nous verrons que la réaction s'est montrée plus sensible et *les résultats positifs seulement avec les sérums de lépreux;* nous étudierons enfin les caractères différentiels des agglutinines déterminées de façon plus précise par leur absorption relative en présence des antigènes globulaires naturels ou formolés.

I. — TECHNIQUE DE LA RÉACTION.

Voici, minutieusement exposés, tous les détails du montage de la réaction; si certains peuvent paraître trop méticuleux, ils permettront en tout cas de reproduire sans confusion possible le protocole exact qui a servi pour toutes nos expériences.

A. — Préparation des globules.

On défibrine au moins 20 cent. cubes de sang de mouton que l'on répartit dans deux récipients stériles. Une partie est portée à la glacière où elle sera conservée à une température optima oscillant entre + 5° et + 9° jusqu'à son utilisation pour la préparation de la suspension de globules naturels. Le délai d'utilisation du sang de mouton ainsi conservé à la glacière ne doit pas dépasser trois jours.

La préparation des globules formolés se pratique de la façon suivante: après avoir fixé avec soin le volume du sang défibriné, on centrifuge, on retire le sérum, et on lave quatre fois à l'eau physiologique à 8,5 p. 1000. Après le dernier lavage, on ajoute une quantité d'eau physiologique telle que le volume primitif se trouve doublé. A cette dilution globulaire, on ajoute 10 p. 100 de son volume de formol (solution d'aldéhyde formique à 40 p. 100); on mélange *de suite intimement,* puis on laisse dix-huit à vingt-quatre heures à la température ordinaire. Dans ces conditions, les globules ainsi formolés sont fixés de telle sorte qu'ils ne sont plus hémolysables par l'eau distillée, ou même par un sérum hémolytique spécifique, et qu'ils donnent des suspensions très homogènes. Ils restent utilisables au moins pendant une dizaine de jours.

La préparation des suspensions globulaires utilisées pour chaque réaction doit être faite extemporanément de la façon suivante:

a) *Globules naturels:* Après quatre lavages succesifs, on fait dans de l'eau physiologique à 8,5 p. 1.000 une dilution au double

du volume primitif du sang que l'on a conservé à la glacière depuis son prélèvement.

b) *Globules formolés:* Pour bien enlever l'excès de formol, on lave à nouveau les globules à quatre reprises, en prenant soin de bien désagréger à la baguette de verre le culot pâteux qui se forme après chaque centrifugation, de façon à obtenir par agitation une suspension parfaitement homogène.

Lorsque durant la formolation une hémolyse légère s'est produite, les débris globulaires ainsi formés surnagent le culot. En règle générale, on agitera très légèrement les tubes avant de décanter le liquide surnageant de façon à entraîner avec ce liquide les résidus globulaires s'il y en a. On réajustera alors la dilution en eau physiologique à un volume égal à celui qui précédait ces derniers lavages.

Il importe durant tous les lavages de ne pas prélever de globules dans les pipettages successifs pour éviter de modifier la concentration globulaire.

La concentration des suspensions globulaires est d'ailleurs un des facteurs les plus importants de la bonne marche de la réaction. Nous employons la dilution à parties égales pour les moutons de laboratoire dont les fréquentes saignées abaissent le taux globulaire; mais pour utiliser le sang des moutons d'abattoir, il convient le plus souvent de diluer une partie de sang normal dans deux parties d'eau physiologique. En tous les cas, ces dilutions doivent correspondre à un taux voisin de 3.500.000 à 4.000.000 de globules par milimètre cube.

Avant chaque répartition, il importe de plus de rendre homogènes les suspensions par agitation et pipettages successifs.

B. — Préparation des sérums à examiner.

Un prélèvement de 10 à 15 cent. cubes de sang veineux suffit pour la réaction complète. Le sérum recueilli doit être parfaitement limpide, aussi évitera-t-on les manœuvres brutales destinées à décoller le caillot et mettant en suspension des globules; quand cet accident se produit, on n'utilise les sérums qu'après les avoir centrifugés.

Dès que la rétraction du caillot paraît suffisante, on prélève les sérums le plus tôt possible; puis, on les inactive par chauffage une demi-heure à 52-53° pour éviter l'action des hémolysines souvent présentes dans les sérums et susceptibles de troubler la réaction de contrôle des globules naturels.

Il y a toujours intérêt à se servir des sérums dans le plus bref délai; en tous les cas, un maximum de dix jours doit être fixé pour l'utilisation de la majorité des sérums conservés en tubes scellés.

C. — Distribution de la réaction.

La réaction se fait en six tubes. On utilise des tubes à hémolyse identiques, de 9 à 10 millimètres de diamètre intérieur. Ces tubes seront au préalable soigneusement lavés, rincés à l'acide, bien séchés, ou mieux encore stérilisés au four à flamber.

On répartit en premier lieu les sérums; puis, on égalise les volumes avec de l'eau physiologique que l'on mélange soigneusement par agitation. On ajoute *seulement alors* les suspensions globulaires.

Dès que les globules sont répartis, on agite longuement le portoir de façon à obtenir dans tous les tubes des suspensions absolument homogènes qui seront alors portées à l'étuve à 37°.

Lorsque l'on a de très nombreux sérums à examiner, il convient de répartir les suspensions globulaires, portoir par portoir, de façon à éviter qu'un laps de temps trop considérable ne sépare les différents stades de la réaction.

	1	2	3	4	5	6
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum	0,50	0,25	0,1	0,50	0,25	0,1
Eau physiologique	0,30	0,55	0,7	0,30	0,55	0,70
Suspension globules formolés	0,20	0,20	0,20			
Suspension globules naturels				0,20	0,20	0,20

A ce schéma qui suffit d'une manière générale, on peut dans quelques cas douteux ajouter un élément d'appréciation en utilisant un premier tube où l'on distribuera 0 cc. 75 de sérum, 0 cc. 05 d'eau physiologique, et 0 cc. 20 de suspension globulaire, et où la lecture des réactions faibles apparaitra plus nettement. Un tube de contrôle de globules naturels sera établi sur le même schéma. Si nous ne comprenons pas toujours ces deux premiers tubes dans notre schéma standard, c'est pour éviter les résultats douteux dûs aux hétéro-agglutinines qui apparaissent plus fréquemment à cette concentration, et en particulier dans les affections exotiques. Nous exposerons d'ailleurs plus loin un procédé d'absorption préalable des hétéro-agglutinines qui permet dans tous les cas de se débarrasser de ces éléments perturbateurs et de lire la réaction.

D. — Lecture et interprétation des résultats.

La lecture doit se faire dans la première heure qui suit la mise à l'étuve. Il est utile toutefois de suivre la marche de la réaction de façon à remarquer les réactions fortement positives qui ap-

paraissent dès le premier quart d'heure. Nous conseillons donc de faire une première lecture quinze minutes après la mise à l'étuve, une deuxième à la fin de la première demi-heure, et la dernière au bout d'une heure. Toute lecture qui sera faite passé ce délai ne peut être considérée comme certaine.

Une réaction positive se caractérise par un éclaircissement de la masse, uniforme, progressif et d'autant plus rapide que la réaction

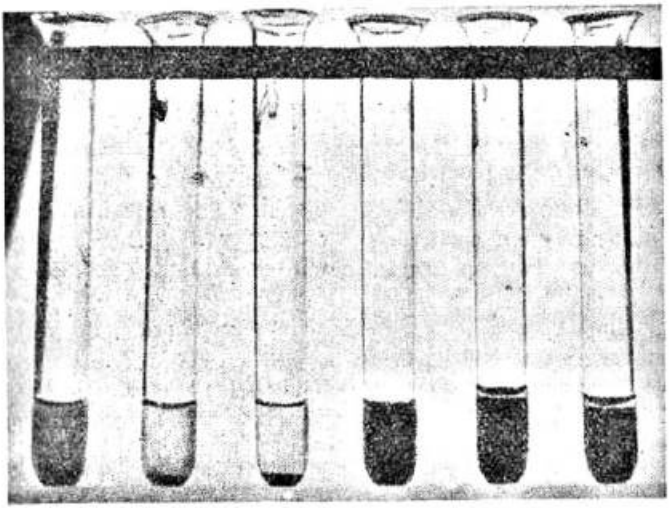


Fig. 1. — Réaction positive avec un sérum lépreux libre d'hétéro-agglutinines. Les trois tubes de gauche correspondent aux globules formolés; le tube 1 représente une agglutino-sédimentation avec culot très net et liquide surnageant un peu opaque; les tues 2 et 3 agglutino-sédimentation complète. Les trois derniers tubes sont les témoins dans lesquels les globules formolés ont été remplacés par des globules naturels; en 5 et 6 on aperçoit un commencement de précipitation des globules par la pesanteur.

est plus forte, en même temps que se ramasse dans le fond du tube un important culot contrastant très nettement avec le reste du milieu plus ou moins éclairci.

Deux phénomènes principaux peuvent donner lieu à une mauvaise interprétation des résultats; ces causes d'erreur, d'ailleurs, disparaissent rapidement dès que l'on s'accoutume à la lecture de la réaction. Nous allons les envisager ici:

Tout d'abord, il importe de ne pas confondre le phénomène

de la sédimentation spontanée des globules formolés ou naturels qui se produit normalement dans toutes les suspensions globulaires, qui es dû à la pesanteur, et qui es d'autant plus marqué que la concentration globulaire est plus faible. Ce phénomène apparait dans les réactions négatives au cours de la première heure, mais il ne laisse apercevoir au-dessus d'une masse uniformément opaque qu' une bande de sérum clair.

La pesanteur entraine aussi, *en une heure*, la formation d'un petit culot, uniforme dans tous les tubes. et que l'on peut mettre en évidence dans certaines conditions d'éclairage, mais qui ne peut être confondu avec le culot d'une réaction positive.

L'ensemble du phénomène, en définitive, ne correspond en rien à l'impression visuelle que l'on a eue, suivant l'évolution d'une réaction positive.

D'autre part, une agglutination accélérée des globules naturels peut apparaitre dans d'autres affections ou même dans quelques cas de lèpre. Le fait dû aux hétéro-agglutinines se présente sous deux aspects.

Dans certains cas, les plus habituels, l'agglutination se produit seulement dans les globules naturels, et la confusion paraî impossible.

Mais dans d'autres cas plus rares, l'agglutino-sédimentation se produit dans tous les tubes. Dans ces cas seulement, il y a lieu d'observer les taux d'agglutination respectifs des globules formolés et naturels et, en cas de doute, on doit recommencer la réaction après avoir réalisé l'absorption des hétéro-agglutinines dans les conditions que nous déterminerons plus loin.

En résumé, *la réaction est positive lorsque l'agglutino-sédimentation qui caractérise le phénomène se produit seulement dans les globules formolés ou quand elle y est nettement plus intense que dans les globules naturels.*

II. — DE L'INFLUENCE DE CERTAINS FACTEURS.

A. — Importance des suspensions globulaires.

a) Choix de l'espèce. — Dès nos premiers travaux sur la question, nous avons observé que les globules des différentes espèces animales ne se comportaient de la même manière à l'égard de la formolation et de la réaction.

Les globules de l'homme, du cobaye et du lapin son mal fixés par le formol; ceux du mouton, de la chèvre, du bœuf, du lama et du pigeon se fixent bien.

Certains globules humains se montrent très sensibles et spécifiques; avec d'autres les résultats sont moins heureux, particulière-

ment en ce qui concerne la spécificité de la réaction. Ce fait répond sûrement à la présence des iso-agglutinines qui dominent les rapports des groupements sanguins, et, pour avoir des globules toujours utilisables pour la réaction, il faudrait s'adresser exclusivement aux globules du groupement I (de Jansky, groupe IV de Moss) qui ne contiennent pas d'iso-agglutinogène.

Les globules du lama donnent d'assez bons résultats, mais vis-à-vis d'eux de nombreux sérums humains renferment des hétéro-agglutinines.

Les globules du bœuf sont peu sensibles, encore moins ceux de la chèvre avec lesquels aucune réaction positive n'a pu être obtenue; pour expliquer cette exception, nous pensons à l'influence que peut avoir la petitesse des globules rouges de cette espèce sur la stabilité de leurs suspensions.

Quant à ceux du cobaye, si, après formolation, ils sont agglutinés *seulement* par les sérums lépreux, il n'en est pas de même pour les globules à l'état naturel qui sont agglutinés par le plus grand nombre des sérums humains.

Les globules qui conviennent le mieux à la réaction sont les globules de mouton.

b) Choix de l'individu. — Le choix de chaque animal présente aussi une grande importance.

Tous les moutons ne fournissent pas du sang dont les globules se comportent d'une façon identique en face de nos différentes opérations. D'une part, la richesse globulaire influe sur la sensibilité de la réaction; d'autre part, la constitution biologique intime des globules peut, elle aussi, influer sur la sensibilité de la réaction; ce phénomène se rapproche d'ailleurs de ce qui se passe avec tous les antigènes dans les réactions du même ordre, par exemple l'importance des souches différentes dans les agglutinations microbiennes.

1.º Pour éviter l'action des facteurs individuels, on doit toujours utiliser pour chaque réaction des suspensions globulaires, naturelles et formolées, de même origine;

2.º Pour utiliser le sang des animaux d'abattoir, on doit préférer le mélange du sang de plusieurs animaux;

3.º Dans les laboratoires où l'on dispose de plusieurs moutons, il est préférable de sélectionner au préalable les animaux dont les globules se comportent le mieux au point de vue de la sensibilité de la réaction.

B. — Importance du formol et du degré de formolation

Les sérums lépreux mis en présence de globules naturels de mouton et de quantités variables de formol ne donnent pas la réaction. La production de celle-ci est strictement liée à l'action préala-

ble du formol employé en solution d'autant plus concentrée ou maintenu en présence des globules de mouton d'autant plus longtemps que ceux-ci sont plus nombreux. Il est curieux de noter que de petites quantités d'aldéhyde formique libre, comme celles qui peuvent persister après des lavages insuffisants, peuvent gêner la réaction, action empéchante qui est bien liée à la fonction aldéhyde puisqu'on la voit disparaître si on la neutralise par l'ammoniaque par exemple.

Plus le degré de formolation est intense, plus la réaction est sensible; il convient de se tenir seulement dans les limites de concentration et de durée qui permettent, après la formolation, d'obtenir des suspensions globulaires homogènes.

Les proportions que nous avons adoptées nous ont paru optima; elles permettent d'utiliser les globules jusqu'au dixième jour après leur formolation.

C. — Action de la température.

a) Sur les sérums. — D'après les expériences de Marchoux et Caro, un chauffage à 56° pendant une heure débarrasserait les sérums de leurs propriétés particulières nécessaires à la réaction. Suivant des expériences antérieures, nous savons qu'un chauffage à 55°-56° pendant trente minutes seulement n'altère pas visiblement la réaction. Mais depuis que, par le travail de Hohn (1), Kadisch (2) et Rubino (3), on sait qu'un chauffage à 52° pendant trente minutes suffit pour enlever aux *sérums humains* leur activité alexique, nous avons adopté maintenant cette température pour l'inactivation des sérums en expérience.

b) Sur les globules formolés. — La suspension globulaire traitée par le formol acquiert la propieté remarquable de rester homogène et indifférente à la chaleur, que celle-ci agisse en présence du formol ou seulement sur les globules formolés et lavés, ou même qu'elle soit poussée à 100°.

Un chauffage de trente minutes à 66-70° en particulier, en présence du formol, rend les globules encore plus sensibles à la réaction, ce qui se manifeste par l'accélération de la sédimentation et une plus forte intensité dans les réactions faibles.

e) Sur la marche de la réaction. — Il semble bien que la température de 37° soit la plus favorable. La réaction marche à des températures plus basses, mais à 56° elle s'arrête pour reprendre quand on ramène les tubes d'expérience à 37°.

(1) *Hohn.* "Münch. Med. Wochenschrift", 1929.
(2) *Kadisch,* Klin. Wochenschrift, N.° 45, 1929.
(3) *M. C. Rubino,* Ueber die Antihämolytischen Eigenschaften des Menschenserums, f. Bakt., 120, 1931.

Nous avons démontré ailleurs qu'il reste de l'agglutinine libre quand on a mis les globules formolés en présence de sérum, soit à 9° soit à 56°.

D. — Influence des proportions relatives des éléments de la réaction.

L'agglutino-sédimentation des globules formolés de mouton produite par les sérums lépreux est strictement conditionnée d'une part par la proportion des agglutinines dans les sérums, d'autre part par la richesse en globules des suspensions en expérience.

Dans une expérience où à des quantités fixes de sérum, on ajoute des quantités décroissantes de globules, la réaction augmente de sensibilité à mesure que la quantité des globules diminue. Dans une expérience où à des quantités fixes de globules, on ajoute des doses croissantes de sérum, la réaction augmente de sensibilité à mesure que les doses de sérum augmentent.

Pourtant la combinaison optima mesurée par la précocité de l'apparition du phénomène ne correspond ni à la dose la plus petite de la première expérience, ni à la dose la plus forte de la deuxième expérience. Il y a donc toujours pour chaque sérum et chaque suspension globulaire un point de sensibilité critique qui correspond à une proportion fixe entre les quantités d'agglutinines et de globules mis en présence. Un excès d'agglutinines, de même qu'un excès de globules, présente un certain effet empêchant sur la bonne marche de la réaction.

Il ressort donc clairement que ce phénomène suit les lois qui régissent les réactions biologiques des antigènes et des anticorps.

Il n'est pas douteux que la première phase, l'absorption des agglutinines par les globules, s'accomplit toujours rapidement. Quant à la deuxième phase, celle de l'agglutination, elle détermine la chute plus ou moins rapide de la suspension globulaire et c'est elle qui se trouve gênée par l'excès d'agglutinines ou de globules.

De tous ces faits il résulte:

1.° *Que le phénomène de l'agglutino-sédimentation des globules formolés par les sérums de lépreux ne peut être défini comme une simple sédimentation globulaire accélérée;*

2.° *Que la réussite de la réaction, malgré son apparente simplicité, demande des conditions précises et en particulier le réglage des suspensions globulaires.*

III. — ÉTUDE DE QUELQUES QUESTIONS CONCERNANT LA NATURE DE LA RÉACTION.

Nous compléterons dans l'exposé suivant les données qui ont déjà été observées par nous (1).

A. — Propriétés antigéniques des globules formolés

Étant données les modifications profondes causées par le formol sur le stroma globulaire, indépendamment d'autres transformations comme la formation de méthémoglobine, nous avons pensé que les qualités antigéniques globulaires doivent être, elles aussi, influencées par la formolation. Et nous avons été ainsi amené à étudier les variations apportées par la formolation aux capacités relatives de production et d'absorption des immun-agglutinines et des immun-hémolysines.

En préparant un certain nombre de lapins dans les mêmes conditions d'origine, de doses et de temps, par injections souscutanées intraveineuses ou intrapéritonéales de globules formolés et lavés ou de globules naturels de mouton, les faits suivants ont déjà été observés (2).

Ils concernent:

a) *La production des agglutinines.*

Pouvoir agglutinant moyen trouvé sur 6 animaux préparés par les globules naturels: *1/232.*

Pouvoir agglutinant moyen trouvé sur 7 animaux préparés par les globules formolés: *1/95.*

Les mesures de ces pouvoirs agglutinants ont été faites dans des conditions identiques en présence de globules naturels de mouton.

b) *L'agglutinabilité.*

L'agglutination des globules formolés aussi bien par les sérums d'animaux préparés avec les globules formolés que par les sérums d'animaux préparés avec les globules naturels, *a presque toujours été obtenue à des taux* inférieurs, rarement égaux, en aucun cas supérieurs *aux taux d'agglutination des globules naturels par les mêmes sérums.*

c) *Production des hémolysines.*

Sur ce point les globules formolés ou naturels ont présenté *des capacités égales.* En effet, le pouvoir hémolytique a atteint *1/960* en moyenne sur 5 animaux préparés avec des globules naturels et *1/970* chez 6 animaux préparés avec des globules formolés.

(1) *M. C. Rubino.* "Revista médica del Uruguay", Nos. 3-4, 1929.
(2) *M. C. Rubino* Untersuchungen zur Verwendung formol-fixierter Hammelblutkörperchen in der Serodiagnostik. "Cent. f. Bakt.", 120, 1931.

d) *La capacité d'absorption* des hémolysines s'est révélée au contraire très différente, puisque avec les globules formolés elle apparait *trois à quatre fois moins considérable.*

Somme toute, il est intéressant de constater que la capacité de production d'agglutinines et l'agglutinabilité sont les deux propriétés qui sont les plus modifiées par la formolation. Comme nous retrouverons à l'égard des hétéro-agglutinines des sérums humains des modifications analogues, l'observation de ces phénomènes nous permettra, en les caractérisant, de différencier ainsi facilement les hétéro-agglutinines non spécifiques des agglutinines spécifiques des sérums de lépreux.

B. — Les agglutinines spécifiques des sérums lépreux et les hétéro-agglutinines de divers sérums.

Dès l'origine de nos travaux sur la séro-réaction de la lèpre, nous avons remarqué que l'agglutino-sedimentation des globules formolés se produisait avec quelques sérums non lépreux. Mais ce phénomène était *toujours accompagné d'une semblable agglutino-sédimentation des globules naturels et d'une manière plus intense.*

La différence entre ce dernier phénomène et celui qui caractérise une réaction positive es suffisamment nette pour rendre évidente dans les sérums en question la présence d'un autre type d'anticorps; ce sont des hétéro-agglutinines.

Deicher(1), en 1926, a mis en évidence dès le septième ou huitième jour, chez les sujets ayant reçu des injections de sérum, des hétero-agglutinines très actives sur les globules rouges de certaines espèces (mouton et cheval en particulier) et dont la quantité semble atteindre un maximum vers le douzième ou treizième jour.

Ces hétéro-agglutinines persistaient longtemps et la présence a pu en être rétrospectivement décelée chez des malades ayant reçu des injections antérieures de sérum.

Elles existent aussi en dehors de tous les cas précédents, mais bien qu'elles ne soient caractéristiques d'aucune affection particulière, elles sont plus fréquentes dans certaines maladies. Dans nos dernières expériences nous les avons recontrées assez souvent dans les affections exotiques.

C. — La coexistence des agglutinines spécifiques et des hétéro-agglutinines dans les sérums lépreux; leur absorption par les globules formolés ou naturels.

Ces hétéro-agglutinines que nous venons de voir dans divers sérums peuvent parfois se rencontrer dans les sérums lépreux à côté des agglutinines spécifiques.

(1) *H. Deicher.* Ueber die Erzeugung heterospezifischer Hämagglutinine durch Injektion artfremden Serum. "Zeitschrift für Hygiene u. Inf. Krank.", 11 septembre 1926.

Si elles sont peu actives, ce qui est le cas général, elles ne troubleront pas la lecture de la réaction ou l'intensité d'agglutination des tubes de globules formolés sera beaucoup plus nette.

Dans certains cas plus rares, *et plus particulièrement remarqués chez les lépreux présentant une affection tropicale associée,* une forte action des hétéro-agglutinines peut gêner la lecture de la réaction au point de la rendre invisible.

Nous allons voir maintenant comment il est possible dans ces cas de se débarrasser des co-agglutinines non spécifiques et par conséquent d'utiliser la réaction en toutes circonstances.

Marchoux, Caro et nous, avons déjà prouvé que la réaction est due à une substance spécifique existant dans les sérums lépreux et à l'absorption de cette substance par les globules formolés.

Les expériences suivantes démontrent que les globules formolés ont *un pouvoir d'absorption électif pour cette substance qui ne peut pas se fixer sur les globules naturels dans les conditions de nos expériences.*

Nous verrons ainsi que les hétéro-agglutinines se comportent d'une façon très différente des agglutinines lépreuses. En effet, d'une part. elles sont aussi bien absorbées par les globules naturels que par les globules formolés, d'autre part, la température optima pour leur absorption oscille autour de 0°, alors que c'est la température de 37° qui s'est montrée la plus favorable pour l'absorption des agglutinines spécifiques des sérums lépreux.

EXPÉRIENCE I. — *Absorption élective des agglutinines spécifiques par les globules formolés.*

a) *Conditions d'expérience:*

1.° *Sérums lépreux inactivés à 52° pendant trente minutes.*

Sérum n° 217: faiblement positif.

Sérum n° 224: fortement positif.

2.° Suspensions globulaires:

a) Suspension de globules naturels de mouton lavés comme pour le Wassermann, puis dilués au double du volume originel du sang avec la solution physiologique.

b) Suspension de globules de mouton formolés suivant la méthode indiquée au chapitre de la technique, lavés et dilués au double du volume originel du sang avec la solution physiologique.

b) *Schéma d'absorption:*

	TUBE 1 (cent. cubes)	TUBE 2 (cent. cubes)
Sérum	1	1
Suspension globules formolés	1	
Suspension globules naturels		1

On mélange bien, puis on porte à l'étuve à 37° pendant une heure. Il est nécessaire d'agiter les suspensions deux ou trois fois pendant leur séjour à l'étuve.

A la sortie de l'étuve on centrifuge; ces centrifugations doivent être simultanées pour chaque sérum afin d'égaliser les temps d'absorption; après centrifugation, on prélève les sérums surnageant qui vont servir au montage de la réaction suivante:

c) *Schéma de la réaction n.° 1*

	SÉRUMS LÉPREUX			MÊMES SÉRUMS traités par globules formolés			MÊMES SÉRUMS traités par globules naturels		
Tubes	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	c. c.	c. c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c. c.	c. c.	c.c.
Sér. dilué de ½	0,75	0,5	0,25	0,75	0,5	0,25	0,75	0,50	0,25
Eau physiol. ..		0,25	0,50		0,25	0,50		0,25	0,50
Susp. gl. form.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve:									
Sérum 217 ...	++	++	—	—	—	—	++	++	—
Sérum 224 ...	++++	++++	++	—	—	—	++++	++++	++

Nous voyons d'après cette expérience que les agglutinines spécifiques ont été absorbées par les globules formolés et que les globules naturels les ont laissées parfaitement intactes.

EXPÉRIENCE II. — *Absorption indifférente des hétéro-agglutinines par les globules naturels ou formolés.*

Les conditions de l'expérience, la méthode d'absorption étaient exactement les mêmes que pour la première expérience; mais nous opérons sur le sérum n° 69 présentant des hétéro-agglutinines très actives et agissant sur es globules naturels et formolés.

L'absorption terminée, nous montons la réaction suivante:

Schéma de la réaction n° 2

	SÉRUMS lépreux		SÉRUMS préalablement traités par globules formolés		SÉRUMS préalablement traités par globules naturels	
Tubes	1	2	3	4	5	6
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum dilué de ½	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Susp. glob. formolés	0,25		0,25		0,25	
Susp. glob. naturels		0,25		0,25		0,25
Lecture du résultat après une heure d'étuve à 37°	+++	+++	—	—	—	—

Que le sérum ait été traité par les globules formolés (tubes 3 et 4) ou par les globules naturels (tubes 5 et 6) il a, dans les deux cas, perdu tout pouvoir agglutinant. Il ne s'agit donc pas ici de substance spécifique, mais d'hétéro-agglutinine.

EXPÉRIENCE III. — *Les hétéro-agglutinines d'un sérum fortement agglutinant peuvent ne pas être totalement fixées à 37°.*

Un sérum, n° 280, non lépreux, agglutine fortement, mais presque seulement les globules de mouton naturels. Nous profitâmes de cette circonstance pour étudier l'absorption relative de ces hétéro-agglutinines par les deux sortes de globules de mouton, formolés et naturels. Nous nous sommes maintenus dans des conditions de proportions, de temps et de température identiques à celles des expériences I et II.

Voir le résultat au tableau suivant.

Cette expérience prouve: 1.° que le sérum 280 agglutine presque exclusivement les globules naturels et n'exerce sur les globules formolés qu'une action insignifiante; 2.° qu'après une heure de contact à 37° avec des globules naturels ou formolés, on n'observe qu'une absorption des agglutinines partielle et égale pour les uns et les autres.

	TITRE AGGLUTINANT du sérum				TITRE AGGLUTINANT du même sérum après le traitement par			
					a) globules formolés		b) globules naturels	
Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.
Sérum pur	0,5	0,25	0,5	0,25				
Sérum dilué de ½					0,75	0,5	0,75	0,5
Solution physiologique ..	0,25	0,5	0,25	0,5		0,25		0,25
Suspension glob. formolés	0,25	0,25						
Suspension glob. naturels			0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve à 37°	+		++++	++++	+++	++	+++	++

Reste à voir comment les choses se passent à une autre température.

EXPÉRIENCE IV. — *Influence de la température sur l'absorption des hétéro-agglutinines.*

Toujours dans les mêmes conditions que pour les expériences I et II nous réalisons l'absorption des agglutinines à deux températures très différentes. Nous utilisons le sérum 280 qui est très fortement hétéro-agglutinant et nous opérons de la façon suivante:

Le *Tube A* (sérum: 0 c. c. 6 + suspension globules naturels: 0 c. c. 6) est placé *une* heure à l'étuve à 37°.

Le *Tube B* (sérum: 0 c. c. 6 + suspension globules naturels: 0 c. c. 6) est placé une heure à la glacière à 0°.

Pendant l'heure d'absorption les deux tubes sont agités 3 fois.

Avec les sérums ainsi traités nous montons la réaction suivante:

Schéma de la réaction n° 4

	SÉRUMS TRAITÉS par globules naturels à 0°		SÉRUMS TRAITÉS par globules naturels à 37°	
Tubes	1	2	3	4
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum dilué de ½	0,6	0,3	0,6	0,3
Solution physiologique	0,15	0,45	0,15	0,45
Suspension globules naturels	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve à 37°	+++	++	—	—

Nous voyons que les hétéro-agglutinines n'ont été totalement absorbées que dans les tubes contenant du sérum traité à 0°, ce qui indique que cette température est plus favorable.

EXPÉRIENCE V. — *Coexistence dans le même sérum des agglutinines lépreuses et des hétéro-agglutinines.*

Nous utilisons le sérum n.° 250 qui donne une forte agglutino-sédimentation des globules formolés et qui agglutine aussi nettement, mais avec moins d'intensité, les globules naturels: c'est une réaction positive avec présence simultanée d'hétéro-agglutinines.

L'absorption étant réalisée exactement dans les conditions de la première expérience, on monte la réaction suivante:

Schéma de la réaction n.° 5

	SÉRUMS lépreux		SÉRUMS TRAITÉS par globules formolés		SÉRUMS TRAITÉS par globules naturels	
Tubes	1	2	3	4	5	6
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum dilué de ½	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Susp. glob. formolés	0,25		0,25		0,25	
Susp. glob. naturels		0,25		0,25		0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve à 37°	++++	+++	—	—	++++	—

L'agglutination persistant dans le seul tube 5 à l'exclusion des tubes 3, 4 et 6 montre bien:

1° L'absorption indifférente des agglutinines spécifiques et des hétéro-agglutinines par les globules formolés (sérums épuisés;

2.° La persistance des agglutinines spécifiques de la lèpre après absorption des hétero-agglutinines par les globules naturels.

Nous avons réalisé toutes nos expériences dans les proportions exactes que nous venons d'indiquer. Ces proportions se sont montrées convenables, mais il est possible que pour d'autres sérums plus riches en agglutinines il soit nécessaire de les modifier pour obtenir des absorptions totales.

D. — Le phénomène d'agglutino-sédimentation propre au sérum lépreux est corrélatif du pouvoir agglutinant ou floculant de ces sérums par diverses autres suspensions.

Nous avons observé dans les sérums lépreux à réaction positive un pouvoir agglutinant ou floculant pour certains extraits d'organes ou certaines suspensions microbiennes. Les extraits de rate et de foie de cobaye, les extraits de globules de mouton et de cobaye ont été plus particulièrement sensibles.

Nous avons réalisé la préparation de ces extraits de la façon suivante: on place à 55° le mélange, organe frais ou culot de centrifugation globulaire, 1 p. 100 dans alcool à 95°, 10 cent. cubes. Au bout de quelques heures l'extraction est terminée; on évapore l'alcool et on reprend le résidu par l'eau physiologique.

Les suspensions de *Proteus* X19, qu'elles soient vivantes ou formolées et lavées, se sont montrées elles aussi particulièrement sensibles à l'agglutination par les sérums lépreux.

Voici quel a été *le schema général de ces réactions:*

	T. 1	T. 2
Suspension de l'antigène choisi, en centimètres cubes.	1	1
Sérum en examen, en centimètres cubes	0,1	0,2

Résultats des expériences ainsi faites.

16 sérums lépreux examinés.

Sur 11 sérums positifs aux globules formolés, 10 agglutinent très fortement les diverses suspensions, 1 faiblement.

5 sérums qui sont négatifs aux globules formolés ne donnent aucune floculation ou agglutination des diverses suspensions essayées.

E. — Les globules formolés épuisent les substances actives des sérums lépreux et la réaction ne se produit qu'en présence des électrolytes.

Nous avons déjà vu en détail que les globules formolés épuisent les agglutinines spécifiques des sérums lépreux qui se fixent sur eux d'une manière élective. Après cette action les sérums ainsi traités perdent la capacité de produire la réaction (exp. 1 de ce chapitre). Au contraire les globules sédimentés acquièrent, eux, la proprieté de reproduire la réaction, *mais seulement en présence d'électrolytes.*

En effet, après 3 ou 4 lavages à l'eau distillée, les globules d'un culot de centrifugation de réaction positive, mis en suspension dans plusieurs tubes contenant les uns de l'eau physiologique, les autres de l'eau distillée, reproduisirent le phénomène d'agglutino-sédimentation dans les seuls tubes d'eau physiologique.

F. — La sédimentation globulaire des réactions positives est essentiellement différente de la sédimentation spontanée.

Si nous disposons dans 3 éprouvettes de petit diamètre, ou mieux dans des sédimentimètres, les mélanges suivants à parties égales:

1. Sérum lépreux positif . . + globules formolés et lavés.
2. Sérum lépreux épuisé . . + globules formolés et lavés.
3. Sérum normal . . . . . + globules formolés et lavés,

après quelques heures, la sédimentation sera complète et nous pourrons voir que le culot de sédimentation le plus volumineux se trouve nettement dans le premier tube, c'est-à-dire celui du sérum lépreux non épuisé.

Enfin, si nous disposons les 3 combinaisons précédentes dans trois tubes à hémolyse ordinaire, nous voyons que par agitation modérée il est toujours facile d'émulsionner à nouveau le culot globulaire d'une réaction positive, alors que cette opération est beaucoup plus difficile pour les autres tubes.

G. — Nature de la réaction.

De l'ensemble des faits précédents il ressort, croyons-nous, que l'agglutino-sédimentation des globules formolés dans la lèpre est une réaction du même genre que les agglutinations microbiennes ou les sérofloculations. Elle est régie par les mêmes lois, répond aux mêmes exigences et nécessite la présence d'un élément spécifique produisant en premier lieu l'accolement des particules, suivi d'une

chute plus ou moins rapide des globules, entrainant la clarification plus ou moins complète des suspensions. C'est à la faculté d'agglutination du sérum à l'égard des globules formolés qu'est due la rapidité de la sédimentation comparée aux sédimentation spontanée.

IV. — RÉSULTATS OBTENUS AVEC QUELQUES SÉRUMS LÉPREUX OU NON LÉPREUX.

Voici les résultats que nous avons obtenus en examinant, avec la technique décrite plus haut, des sérums de différentes origines.

Nous avons fait la réaction sur 340 sérums parmi lesquels 36 appartenaient à des sujets porteurs cliniquement de lèpre, et 304 de diverses autres affections.

A. — Examen des sérums des sujets cliniquement lépreux.

Nous devons à l'obligeance de M. le professeur Gougerot et de MM. Delord de Valbonne, Markianos et Blanc, d'Athènes, d'avoir pu étudier un certain nombre de sérums lépreux (1), et nous tenons à les en remercier ici.

De ces sérums:

Ont été recueillis au laboratoire du professeur Marchoux. .	4
Sont venus de la clinique du professeur Gougerot	4
Proviennent du sanatorium de Valbonne (Gard)	10
Ont été envoyés par le docteur Markianos, d'Athènes . . .	7
Ont été expédiés par le docteur Blanc, directeur de l'Institut Pasteur d'Athènes	11

Sur 18 cas de lèpre tubéreuse: 16 cas positifs et 2 douteux.
Sur 10 cas de lèpre mixte: 8 cas positifs et 2 négatifs.
Sur 8 cas de lèpre nerveuse: 3 cas positifs et 5 négatifs.
Au total, sur 36 cas de lèpre: 27 cas positifs, 2 douteux et 7 négatifs.

Il convient de remarquer que les deux réactions comptées comme douteuses dans les cas de lèpre tubéreuse portaient sur des sérums où les hétéro-agglutinines ne nous permirent pas la lecture et dont nous n'avons pu nous procurer de nouvel échantillon pour réaliser l'absorption préalable des hétéro-agglutinines.

B. — Examen des sérums de controle d'origines diverses.

Sur 304 sérums examinés, nous avions:

33 sérums pris sur des malades venus à la consultation du pro-

(1) *M. C. Rubino. "Bull. Acad. Médécine", n.° 21, séance du 24 juin 1931.*

fesseur Marchoux et chez lesquels les diagnostics suivants ont été faits:

Paludisme	26 fois.
Filariose	1 —
Maladie du sommeil	3 —
Leucémie myéloïde	1 —
Gastro-entérite	1 —

Chez ces malades, paludisme, maladie du sommeil, filariose, sont parfois associés; dans un cas nous avons eu ces trois affections réunies.

45 sérums de l'Institut prophylactique Vernes, parmi lesquels:

27 sérums de syphilitiques à degrés photométriques élévés, oscillant entre 35 et 143.

18 sérums de tuberculeux à degré photometrique à la résorcine de 27 à 137.

226 sérums pris au service sérologique de l'Institut Pasteur et comprenant indifféremment des sérums positifs et négatifs au Bordet-Wassermann.

Sur ces 304 sérums examinés, un seulement fut trouvé positif (n.º 250). L'examen de ce malade décela une hypertrophie nette des nerfs cubitaux, plus marquée à droite, et, en plus, une sensation de fourmillement dans les deux derniers doigts de chaque main. Le malade nous déclara qu'au cours de trois séjours coloniaux précédemment faits sur la côte occidentale d'Afrique, il avait vécu, du fait de son travail, dans une certaine promiscuité avec les indigènes parmi lesquels il y avait des lépreux.

V. — ANALYSE DES RÉSULTATS.

Quels sont les enseignements que nous pouvons retirer de nos dernier résultats qui sont d'accord avec ceux déjà exposés par nous et avec la plupart de ceux publiés par d'autres expérimentateurs?

Tout d'abord nous croyons que les résultats discordants qui ont pu être trouvés sont dûs à une technique insuffisante.

La sensibilité de la réaction nous apparaît nettement.

Elle ne se montre jamais dans une autre affection que la lèpre.

Ce sont déjà là deux propriétés que l'on ne trouve guère aussi nettement dans la plupart des réactions sérologiques, surtout si on leur demande de répondre à toutes les formes cliniques de la maladie.

Nous avons remarqué que l'intensité des réactions positives n'est pas liée à l'ancienneté de la maladie.

Dans certains cas de lèpre tubéreuse très ancienne, nous n'avons

trouvé qu'une réaction faible, dans d'autres cas, frustes et récents, des réactions fortement positives.

Il nous semble que l'intensité de la réaction est plutôt en relation avec la forme clinique et le caractère évolutif de l'affection qu'avec l'ancienneté de l'infection. Il ne nous paraît pas impossible que le traitement modifie aussi les caractères humoraux des lépreux et leurs propriétés agglutinantes spécifiques. Enfin, dans la lèpre comme dans les autres affections expérimentales ou spontanées, il y a des sujets qui réagissent sérologiquement de façon toute différente, et nous croyons que ce facteur individuel vient s'ajouter à ceux que nous venons d'énumérer et qui sont susceptibles d'influencer l'intensité de la réaction.

La lèpre, d'autre part, est une maladie dont l'incubation peut être très longue; souvent des années s'écoulent entre le moment de la contagion et l'apparition des premiers symptômes cliniques. Nous ignorons si, au cours de cette longue incubation il ne se trouve pas un moment où les réactions sérologiques sont fortes. Dans cet ordre d'idées nous avons déjà quelques faits intéressants. Marchoux et Caro ont mentionné un cas de réaction positive chez un sujet non porteur de bacilles, mais présentant une hypertrophie du nerf cubital et des taches achromiques; un autre cas chez un malade provenant de régions tropicales où la lèpre est fréquente et qui présentait un ganglion épitrochléen volumineux.

Le Dr. Silva Araújo a relaté, au Congrès médical du centenaire de Montevideo, en 1930, le cas d'un sujet à réaction positive sans signe clinique mais qui, quelque temps après, présenta des symptômes caractéristiques de lèpre.

Enfin, nous-mêmes venons de noter un cas positif chez un malade dont l'origine et l'hypertrophie des cubitaux permettent de se poser anxieusement la question suivante.

Quelle valeur devons-nous donc accorder à une réaction positive dans le cas où la recherche du bacille, parfois si difficile, est négative, où les signes cliniques son nuls ou même insuffisants, mais où la contagion a été fort possible?

Nous ne pensons pas pouvoir affirmer la valeur diagnostique absolue de la réaction; mais nous croyons à une forte présomption et à la nécessité de surveiller le malade et de renouveler les examens.

Nous pensons aussi qu'il y aurait un intérêt considérable à entreprendre une grande expérimentation de la réaction dans un milieu où l'infection lépreuse est profonde; cela permettrait, croyons-nous, de répondre nettement à notre question par la confirmation de la valeur de la réaction dans le diagnostic de la lèpre et cela mettrait en évidence le profit qu'il est permis d'espérer de l'examen sérologique des sujets exposés à la contagion.

VI. — CONCLUSIONS.

1.º Il existe dans les sérums lépreux une substance spécifique qui se fixe électivement sur les globules de mouton formolés et en amène l'agglutination et la sédimentation rapides:

2.º Certains sérums humains, normaux ou pathologiques, possèdent aussi la propriété d'agglutiner et d'amener la sédimentation des globules de mouton;

3.º Ces hétéro-agglutinines peuvent s'attacher indifféremment sur les globules de mouton naturels ou formolés;

4.º On peut utiliser cette propriété pour les écarter en les fixant sur les globules de mouton naturels avant de faire agir les sérums lépreux sur les globules formolés;

5.º La réaction doit toujours se faire en présence des globules de mouton, formolés et naturels;

6.º La réaction doit être considérée comme positive quand elle se produit en moins d'une heure et que la sédimentation des globules formolés existe seule ou qu'elle est notablement plus marquée pour ceux-ci que pour les globules naturels;

7.º Elle est négative quand il n'y a pas d'agglutino-sédimentation ou quand la sédimentation est à peu près au même taux dans les deux séries de globules (naturels et formolés);

8.º Sur 36 cas de diverses formes de lèpre, la réaction a été positive 27 fois, négative 7 fois et 2 fois douteuse;

9.º Dans 304 sérums provenant de diverses maladies la réaction est restée négative, sauf dans un cas, chez un sujet qui ayant fait plusieurs séjours aux colonies, a été reconnu porteur de deux nerfs cubitaux volumineux et de fourmillement dans les doigts intéressés. Des examens ultérieurs éclaireront sur la réalité d'une contamination lépreuse dans ce cas.

LES ANTIGÈNES LIPOÏDIQUES D'ORGANES DANS LE SÉRO-DIAGNOSTIC. NOUVEL ANTIGÈNE DE SÉRO-FLOCULATION DANS LA LÈPRE

(Publicado en "Comptes rendus des séances de la Société de Biologie". Société de Biologie de Montevideo. — Séance du 12 juillet 1934 — Tome CXVII)

Nos recherches nous ont été suggérées par le fait prouvé par Landsteiner, Sachs, Klopstock et d'autres auteurs, que les lipoïdes peuvent être des antigènes complets en ce sens que, injectés à des animaux, accouplés avec des albuminoïdes, ils peuvent engendrer des anticorps, et aussi par l'hypothèse de Sachs et de ses collaborateurs, selon laquelle les réactions sérologiques de la syphilis, pratiquées avec des antigènes lipoïdes d'organes, seraient liées à la présence, dans les sérums des malades, d'anticorps anti-lipoïdes, engendrés par la formation, dans l'organisme syphilitique, de complexes lipoïdiques qui agiraient comme des antigènes, lesquels seraient dûs à l'action de l'agent infectieux sur les tissus.

Sur la base de ces faits et présomptions, nous formulons pour la lèpre l'hypothèse suivante: étant données la nature de l'infection hansénienne (infection prolongée) et l'étroite vie commune du Bacille de Hansen avec quelques éléments cellulaires, il pourrait se produire dans l'organisme lépreux des phénomènes analogues à ceux que l'on attribue à la syphilis, avec cette particularité, pour la lèpre, de la libération de multiples noyaux lipoïdes; ceci expliquerait la polyactivité ou polyénergie des sérums lépreux dans les réactions *in vitro* en présence d'antigènes multiples, pénétrant dans les zones sérologiques de la syphilis, de la tuberculose et d'autres maladies. Mais, à cause de la prédilection du Bacille de Hansen pour certains tissus, des complexes lipoïdes pourraient également se libérer et conserver une intime corrélation avec l'infection hansénienne, pouvant ainsi engendrer des anticorps de valeur diagnostique spécifique.

Nous pensons donc que, si cette hypothèse était vraie, on pourrait isoler de certains tissus d'animaux normaux, des substances, lipoïdes ou autres, qui se comporteraient comme des antigènes spécifiques en présence des sérums de lépreux, ce qui nous a poussé à essayer à ce point de vue, quelques extraits d'organes.

Préparation des extraits d'organes. — Nous employons des organes de Lapin, qui sont dépourvus d'antigènes hétéro-génétiques, et des globules formolés de Mouton, parce que c'est l'antigène de la

réaction que nous avons décrite pour le séro-diagnostic de la lèpre. Nous avons fait des extraits avec les organes suivants: rein, foie, cerveau et moelle épinière. Avec chaque organe, trois extraits ont été préparés, comme suit. A) Organe frais, coupé menu, auquel on ajoute autant de c. c. d'alcool à 96° qu'il y a de grammes d'organe, 7 jours à la température du laboratoire, en agitant fréquemment. B) Les organes de A, débarrassés de l'alcool, séchés et pulvérisés, sont extraits 2 fois au moyen d'un mélange d'alcool à 96°, 85 parties, et d'eau distillée, 15 parties (en volume), dans la proportion de 6 parties du mélange hydroalcoolique, en volume, pour une partie d'organe, en poids (calculé sur l'organe frais). Chaque extraction se fait en trois jours, à la température du laboratoire, et dans un bain-marie à 65°, pendant 3 heures, dans un ballon avec un tube à reflux. Le mélange des liquides des deux dernières extractions constitue l'extrait B. C) Les organes de B, débarrassés des liquides, sont traités par l'alcool à 96° dans les mêmes conditions et avec les mêmes proportions que l'on a employées pour obtenir les liquides B, mais une seule fois, et constituent l'extrait C.

Les globules formolés, préparés d'après la technique que nous avons décrite (1) sont lavés deux fois avec une solution physiologique pour enlever le formol, et, une fois la solution physiologique éliminée, on les traite avec un volume du mélange hydro-alcoolique égal à celui de la solution physiologique, deux fois succesivement et dans les mêmes conditions que pour l'extrait B des organes. Pour l'extrait C, les globules séparés du mélange hydro-alcoolique sont traités pendant trois jours avec de l'alcool à 96°, en proportion égale à celle employée pour l'extrait B.

Avec ces extraits, nous préparons diverses suspensions, soit en les mélangeant directement à la solution physiologique, en proportions différentes, ou en évaporant l'alcool des extraits et en suspendant ensuite les lipoïdes dans la solution physiologique, ou dans des mélanges de cette dernière avec l'alcool.

En étudiant ce qui se passe lorsque ces extraits sont mis en présence de sérums de lépreux, de syphilitiques et d'autres malades, nous avons pu vérifier que les extraits de reins ne floculaient pas en présence des sérums de lépreux. Au contraire, les extraits du type B des autres organes étaient floculés avec intensité, et ceux de cerveau étaient les moins sensibles.

Les extraits B de moelle épinière, de foie et de globules formolés, se montrent également sensibles à l'action floculante des sérums de lépreux, mais se comportent différemment en ce qui concerne la spécificité de ce phénomène quand on modifie la technique de la préparation des suspensions de leurs lipoïdes. Les suspensions

(1) *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. 47, p. 147.

préparées par évaporation préalable de l'alcool et l'incorporation des lipoïdes à la solution physiologique sont sensibles au même degré en présence des sérums de lépreux et sont spécifiques, car ils ne floculent pas avec les sérums de syphilitiques et d'autres malades. Au contraire, quand les suspensions sont préparées, soit en mélangeant directement l'extrait alcoolique à la solution physiologique, soit par évaporation préalable de l'alcool et suspension des lipoïdes en mélanges hydro-alcooliques, les lipoïdes de moelle épinière perdent totalement leur spécifité, ils floculent intensément avec les sérums syphilitiques; ceux de foie floculent à un degré inférieur, et les globules formolés conservent leur spécifité.

Ces faits paraissent démontrer que les sérums de lépreux, dans leur polyvalence pour différents antigènes, ont une action floculente spécifique sur un groupe de lipoïdes qui se trouvent dans les tissus animaux et probablement dans d'autres éléments cellulaires. Nous ne pouvons affirmer si ces lipoïdes se rencontrent dans tous les tissus ou seulement dans quelques-uns, mais nos expériences nous donnent des raisons de supposer qu'ils se présentent plus abondamment que d'autres dans certains de ces tissus, qui en contiennent une plus forte proportion par rapport à d'autres groupes de lipoïdes.

La non floculation de l'extrait B de rein peut s'expliquer par la carence du lipoïde sensible, tout aussi bien que par l'existence d'une faible proportion de ce dernier, alois que les autres lipoïdes seraient prépondérants. La sensibilité moindre de l'extrait de cerveau est probablement due à sa grande richesse en autres lipoïdes qui peuvent exercer une action stabilisatrice. L'attitude spéciale de l'extrait B de moelle épinière peut s'expliquer par la coexistence de lipoïdes syphilifloculables, qui augmentent sa sensibilité réactionnelle pour les sérums syphilitiques à cause d'une certaine quantité d'alcool, fait prouvé pour d'autres antigènes, spécialement pour celui de Kahn.

Pour obtenir les résultats mentionnés ci-dessus, il faut régler la concentration des lipoïdes dans les suspensions et leurs proportions avec les sérums en essai. Pour les extraits préparés par nous d'après la technique que nous avons exposée, nous procédons ainsi. Nous utilisons les extraits de moelle épinière, de foie et de globules formolés. Nous évaporons l'alcool dans des verres de montre ou des capsules, après quoi nous incorporons les lipoïdes à la solution physiologique dans les proportions de 2 cc. de solution physiologique pour 1 cc. d'extrait de moelle épinière, de 1 cc. de solution physiologique pour 1 cc. d'extrait de foie et de 1 cc. de solution physiologique pour 6 cc. d'extrait de globules; nous facilitons l'incorporation en remuant la couche de lipoïdes avec un petit bouchon de caoutchouc, d'abord en présence d'une petite quantité d'eau distillée ($1/10^e$ du volume de la solution à employer). Pour l'examen des

sérums, nous employons deux tubes avec 0,1 cc. de sérum chacun. Dans le premier, nous mettons 0,05 cc. et dans le second 0,025 de suspension d'antigène, nous agitons pendant 2 minutes, nous laissons à la température du laboratoire, puis nous faisons une première lecture 20 minutes après, une seconde 2 heures après, et parfois une dernière, 24 heures après.

Dans ces conditions, que l'on pourra modifier suivant la concentration des extraits en lipoïdes, nous avons observé un pourcentage élevé de réactions positives avec les sérums des lépreux, alors qu'elles restent négatives pour les sérums de la syphilis et d'autres maladies. Ces réactions positives coïncident avec les résultats, positifs aussi, de notre "réaction des globules formolés".

Nous ne sommes pas à même de pouvoir affirmer quel degré de spécifité et quelle valeur diagnostique correspondront à ces réactions de floculation, ceci exigera une plus ample expérimentation; d'autre part, il sera nécessaire aussi d'obtenir des lipoïdes plus purs.

(Institut de bactériologie du Département national d'hygiène, République argentine.)

LAS REACCIONES SEROLOGICAS EN LA LEPRA. SU ESTADO ACTUAL (*)

Publicado en la *Revista Argentina de Dermatosifilología*, Tomo XVIII, 2a. Parte, Año 1934.

Después que Wassermann, Neisser y Bruck, comunicaron la aplicación de la reacción de Bordet y Gengou para el diagnóstico de la sífilis, diversos investigadores trataron de aplicar los mismos principios al diagnóstico de las distintas enfermedades infecciosas.

Eitner, parece fué el primero en aplicar la técnica de fijación del complemento al diagnóstico de la lepra. En 1906 publicó su primera observación sobre un sujeto leproso de origen brasileño; utilizando como antígeno, un extracto acuoso de leproma. Posteriormente, el mismo Eitner, volvió a aplicar la reacción a otro sujeto, empleando como antígeno un extracto acuoso de corazón de cobayo.

En 1915, Jeanselme y Vernes, publicaron un trabajo, en que estudian el valor de las reacciones de Wassermann y de Eitner, llegando a la conclusión, que tanto una como otra daban resultados positivos en la sífilis y en la lepra, negándole a la reacción de Eitner valor específico.

Sería muy largo enumerar el sinnúmero de trabajos publicados sobre la aplicación de las diversas técnicas de la reacción de Wassermann al diagnóstico de la lepra. Casi todos los métodos o técnicas que fueron apareciendo para el diagnóstico de la sífilis, fueron ensayadas con los sueros de leprosos; dividiéndose en varias tendencias las opiniones sobre el valor de las reacciones positivas encontradas en esa enfermedad.

Unos investigadores atribuían valor diagnóstico a sus reacciones, otros atribuían las reacciones positivas a la coexistencia de la sífilis.

Lo mismo podemos decir de las reacciones de floculación.

Entre las reacciones que gozaron de mayor prestigio en cuanto a especificidad en el sentido de denunciar la coexistencia de sífilis en la lepra, fué la de Kolmer, entre las de fijación del complemento, y la de Kahn, entre las de floculación.

Pero creo que últimamente, el problema tiende a aclarar y por mi parte tengo la convicción, que esas reacciones, en la lepra, aunque pueden coincidir con la coexistencia de sífilis, no tienen nin-

(*) Trabajo presentado en la Sociedad Argentina de Dermatología y Sifilología. Sesión del 8 de agosto de 1934.

gún valor específico; y son debidas al poder polifijador o polienergético de los sueros leprosos.

La aplicación de la reacción de los glóbulos formolados descripta por nosotros, específica para la lepra, ha ofrecido un punto de apoyo para controlar el significado de las reacciones positivas de Wassermann y de floculación en la lepra.

Durante el curso de nuestras investigaciones pudimos comprobar que los sueros leprosos a reacción de Wassermann positiva, daban también una reacción positiva a los glóbulos formolados; aunque el porcentaje de positivas, de esta última, era superior al de la primera.

En los trabajos realizados últimamente en el Instituto Bacteriológico, pudimos comprobar con el Dr. Miravent, una coincidencia casi perfecta entre las reacciones positivas al Bordet Wassermann y a los glóbulos formolados; dependiendo el número de reacciones positivas de la técnica empleada.

Según mis observaciones, pienso como muy probable que en un suero leproso, una reacción de Wassermann positiva con reacción de los glóbulos formolados negativa, debe hacer pensar en la coexistencia de la sífilis.

Otra etapa en la serología de la lepra se inicia con la aplicación de las técnicas de fijación del complemento para el diagnóstico de la tuberculosis. El antígeno más utilizado, fué el preparado por el profesor Besredka. Todos los investigadores que aplicaron esta técnica pudieron comprobar, que con ese antígeno, los sueros de leprosos dan un alto porcentaje de reacciones positivas; y lo que es más interesante, ese porcentaje es mayor que con los sueros de sujetos solamente tuberculosos.

Uniendo al antígeno de Besredka, una técnica sensible, se llega a obtener en la lepra un número de reacciones positivas muy próximo al 100 %. Análogos resultados hemos obtenido con el antígeno de Klopstock, que es un extracto alcohólico de bacilos tuberculosos previamente tratados por epiclorhidrina para privarlos de las ceras y otras substancias grasas. Está demás decir que ninguna de las reacciones que tienen como fundamento el uso de antígenos a base del bacilo de Koch o sus extractos tienen valor específico; a parte que se dan en la tuberculosis, se observan reacciones positivas también con los sueros sifilíticos.

Siguiendo la misma orientación, se han creado técnicas utilizando como antígenos bacilos ácidorresistentes aislados de sujetos leprosos.

J. M. Gómez, en el Brasil, utiliza cultivos del estreptotrix de Deycke en caldo glicerinado y luego los desengrasa por la acción de la acetona y del aceite de oliva.

Según el autor, su técnica daría un porcentaje elevado de reacciones positivas en la lepra y sería específica.

En cambio, el Dr. G. Fleury da Silveira, en un trabajo presentado en la Asociación Paulista de Medicina (27 de febrero de 1933); en que hace un estudio comparado de la reacción de Gómez y la de los glóbulos formolados, llega a la conclusión que la primera es más sensible, pero no específica, y la segunda menos sensible, pero absolutamente específica.

G. Blanc, director del Instituto Pasteur de Atenas, en colaboración con Joannidés y Pangalos, utilizan como antígeno un extracto al alcohol metílico del bacilo de Kredrowsky, preparado según la técnica de Boquet y Négre.

Los autores refieren un porcentaje elevado de reacciones positivas en la lepra, pero aportan muy pocas observaciones, sobre todo de sueros controles que en total suman sólo 17.

No hay duda que la utilización de los antígenos a base de los bacilos acidorresistentes, por su similitud con el bacilo de Hansen, pueden ofrecer un interés considerable para los estudios del suerodiagnóstico de la lepra; ajustando los antígenos y la técnica para aprovechar el margen apreciable, que ofrecen los sueros leprosos por su mayor riqueza en anticuerpos, para esos antígenos; tanto comparados con los sueros tuberculosos como con los sifilíticos.

Pero, es necesario tener en cuenta, que un ajuste de los antígenos y de la técnica, en el sentido de obtener reacciones absolutamente específicas, hará perder marcadamente la sensibilidad de la reacción y por lo tanto su alcance práctico.

Nosotros pensamos que las reacciones de fijación con antígenos tuberculosos y de bacilos acidorresistentes, pueden prestar servicios más importantes de otro punto de vista, utilizando técnicas sensibilizadas, de manera que den con los sueros de sujetos clínicamente leprosos, en todas sus formas, resultados positivos aproximados al 100 % de los casos. En esta forma, frente a un caso dudoso, una reacción negativa tiende a afirmar la noción de la no existencia de lepra.

Por nuestra parte, con todos los sueros que nos son enviados para la reacción de los glóbulos formolados, investigamos también la fijación del complemento con antigeno tuberculoso e informamos el resultado.

Debemos agregar, por creerlo de interés, que Salminen, en un interesante trabajo sobre la reacción de Wassermann en el suero y en el liquido cefalorraquídeo de los leprosos, llega a la conclusión que esa reacción es siempre negativa en el último; hecho que también han confirmado otros investigadores y nosotros mismo en algunos casos examinados.

En resumen, los sueros leprosos dan reacciones de fijación y de floculación con los más variados antigenos, entrando en las zonas serológicas de la sífilis y de la tuberculosis; lo que probaría, po-

dríamos decir, el carácter polivalente o polienergético del suero leproso, en el sentido de mostrar propiedades atribuídas a los más variados anticuerpos, ya fijadores, ya floculantes de lipoides o aglutinantes de bacterias y células animales.

REACCION DE LOS GLOBULOS FORMOLADOS DE OVINOS. (Rubino)

La reacción descripta por nosotros tiene como base un antígeno completamente distinto, que se aparta de todos los utilizados en las otras reacciones serológicas.

Como ya lo he manifestado en publicaciones anteriores, tuvo origen en los trabajos que realizaba para despojar a los sueros humanos de su sistema hemolítico natural, a fin de practicar la reacción de Bordet Wassermann, con un sistema hemolítico bien medido y sin necesidad de recurrir a la inactivación por el calor para privarlos también del complemento. La idea tiene como fundamento, que los glóbulos de oveja en presencia de los sueros humanos fijarían las hemolisinas naturales y así sensibilizados por ese amboceptor, fijarían también el complemento del propio suero; dejando en éste solamente el amboceptor que se deseaba investigar; en este caso era la "reagine" sifilítica. Pero era necesario evitar la hemólisis de los glóbulos de oveja dentro del suero y para esto se hacía imprescindible fijar antes los glóbulos por una substancia, que a la vez que fuera buen fijador de los tejidos, respetara en éstos sus cualidades antígenas.

Fué así que elegí el formol como fijador, porque gozaba en bacteriología del crédito de un buen conservador de las suspensiones microbianas destinadas a las reacciones de aglutinación.

Realizando estas investigaciones, observé cierta vez, que, contrariamente a lo habitual, en un suero, los glóbulos no se mantenían en suspensión, sino que al cabo de pocos minutos, iban al fondo del tubo quedando el suero casi clarificado. Esta observación, hechas las averiguaciones clínicas, coincidió con un caso de lepra y pudimos comprobar luego, que se presentaba con mucha frecuencia en los sueros de esa enfermedad.

Nuestra primera comunicación a la Sociedad de Dermatología y Sifilografía de Montevideo, hecha en junio de 1926, tuvo por objeto sólo poner de relieve el hecho, de la frecuencia del fenómeno con los sueros de leprosos, sin asignarle ningún valor específico o diagnóstico.

Pudimos comprobar igualmente, que ese fenómeno era debido a la aglutinación globular, y que la sedimentación rápida era una consecuencia de ese hecho, que al igual de las floculaciones y aglutinaciones microbianas, son seguidas de una fase de clarificación del medio. Siendo regido el fenómeno de la sedimentación de los

glóbulos formolados por las mismas leyes de la aglutinación: agotamiento de los sueros por absorción; proporciones óptimas de antígeno y anticuerpos; fenómeno de zonas, influencia de los electrolitos y elucción de los anticuerpos por el calor.

Nuestros trabajos posteriores, pusieron de relieve que la aglutinosedimentación de los glóbulos formolados podía ser observada también en otros sueros fuera de la lepra; perdiendo así, aparentemente, su valor específico. Pero pudimos demostrar, que cuando eso ocurre fuera de la lepra, también son aglutinados los glóbulos de oveja al estado natural, con igual o mayor intensidad que los glóbulos formolados; haciéndose así muy fácil la diferenciación de los dos casos.

Fué después de estos trabajos realizados en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene de Buenos Aires, y comunicados a la Sociedad Argentina de Biología, que nosotros describimos nuestra técnica específica para el diagnóstico de la lepra.

En comunicaciones posteriores demostramos, además, que las aglutinaciones de los glóbulos formolados, fuera de la lepra, eran debidas a la existencia de una heteroaglutinina especial, completamente distinta de la aglutinina responsable de la reacción específica de los sueros de leprosos.

Esa heteroaglutinina puede presentarse en algunos sueros sola, pero puede también coexistir con la aglutinina específica en los sueros leprosos.

La heteroaglutinina no específica se caracteriza, por una parte, porque tiene una acción electiva sobre los glóbulos al estado natural y cuando alcanza a los glóbulos formolados, lo hace por extensión; contrariamente a las aglutininas de los sueros de leprosos, que tienen acción absolutamente electiva sobre los glóbulos formolados.

Por otra parte, es posible privar totalmente a los sueros de esas heteroaglutininas, tratándolos por los glóbulos de oveja al estado natural, siendo la temperatura más favorable para esta absorción entre 0º y 9º. En tales condiciones los sueros leprosos conservan únicamente sus aglutininas específicas, con acción exclusiva sobre los glóbulos formolados.

De manera, pues, que la reacción descripta por nosotros exige el uso simultáneo de dos sistemas de diluciones crecientes del suero en examen; uno con glóbulos formolados y otro con glóbulos al estado natural; caracterizándose las reacciones positivas por una aglutinación exclusiva de los glóbulos formolados, o manifestándose más intensa con éstos que con los glóbulos al estado natural.

Cuando en el examen de un suero se presenta en la serie de glóbulos al estado natural, una aglutinosedimentación de la misma intensidad que en la serie de los glóbulos formolados, antes de pro-

nunciarse por una reacción negativa, deberá pensarse en la posibilidad, que se presenta con cierta frecuencia aun en casos de lepra, de la coexistencia de heteroaglutininas no específicas, en cantidad elevada y deberá repetirse la reacción con el suero previamente tratado por glóbulos al estado natural, los que absorberán esas heteroaglutininas, permitiendo en muchos casos la lectura de una reacción específica que permanecía oculta.

En nuestro último trabajo, publicado en los "Anales del "Instituto Pasteur", tomo XLVII, de agosto de 1931, al referir nuevas investigaciones, puntualizamos bien las condiciones precisas de nuestra técnica, a fin de evitar los equívocos derivados del uso de técnicas defectuosas propaladas por algunas publicaciones.

TECNICA DE LA REACCION

Extractada de los "Annales de l'Institut Pasteur", (agosto, 1931, tomo XLVII, pág. 147)

El material destinado a la reacción se compone del suero a examinar, de una suspensión de glóbulos rojos de oveja formolados y de otra de glóbulos rojos también de oveja, pero sin formolar.

a) SUERO. — 10 a 15 c.c. de sangre son suficientes para obtener el suero necesario para una reacción. El suero debe ser límpido, sin glóbulos en suspensión y lo más frescamente extraído posible. Mientras no se utilice deberá ser conservado en la heladera; pero pierde su actividad en algunos días.

La reacción tiene lugar igualmente con suero fresco, sin inactivar; pero como la reacción completa comprende además una serie de tres tubos con glóbulos naturales (no fijados), será necesario inactivar el suero a 52° — 53°, treinta minutos, para evitar la hemolisis.

b) SUSPENSIONES GLOBULARES. — La sangre de oveja para obtener los glóbulos puede proceder de matadero o de sangría de oveja mantenida en el laboratorio; la primera siempre es más rica en glóbulos, pues las sangrías sucesivas a que son sometidos los animales, empobrecen marcadamente la sangre en glóbulos rojos; a esto y no a otra cosa deben atribuirse que algunos experimentadores hayan obtenido resultados más sensibles, utilizando sangre de animales frecuentemente sangrados.

Es menester también tener en cuenta las posibles diferencias individuales, tanto del punto de vista de la riqueza globular como de factores constitucionales, que pueden obrar sobre la sensibilidad de la reacción. Es conveniente, por lo tanto, que la sangre de matadero sea una mezcla de dos o más animales. Para que *los factores constitucionales no influyan sobre la especificidad de la reacción, deberá utilizarse cada vez la misma sangre, o sangre del mismo animal, para preparar las dos suspensiones globulares necesarias para montar la reacción.* Para preparar los glóbulos formolados, se coloca sangre desfibrinada en los tubos de centrifugación y se marca exactamente el volumen y se les lava cuatro veces con solución fisiológica al 8,5 ‰. Después

del último lavado, igualados los volúmenes con solución fisiológica, se lleva al doble volumen con la misma solución y se le agrega formalina (formol 40 %) a razón del 10 % del volumen resultante, agitando la suspensión a medida que se agrega la formalina. Una parte de sangre desfibrinada será conservada como tal en la heladera para preparar la suspensión de glóbulos naturales. Los glóbulos formolados se conservarán a la temperatura de laboratorio, siendo utilizables por lo menos 10 días. En cambio, la sangre desfibrinada no se conserva, aun en la heladera, por más de tres días.

Para los esquemas que expondremos, las suspensiones deberán tener una concentración globular de 3.500.000 a 4.000.000 por milímetro cúbico.

En la práctica se puede prescindir del contaje globular, llevando el volumen de las suspensiones, con suero fisiológico, a tres veces el volumen original de sangre, si la sangre procede de animales de matadero o de animales poco sangrados, y a dos veces, si los animales son sangrados frecuentemente.

Montaje de la reacción. — Tanto los glóbulos formolados como la sangre desfibrinada para preparar la suspensión de glóbulos naturales, serán lavados cuatro veces sucesivas con suero fisiológico, separando a éste por centrifugación.

En los glóbulos formolados, será necesario remover con una varilla de vidrio el "culot" pastoso que se forma después de cada centrifugación, a fin de incorporar los glóbulos al nuevo suero fisiológico, agitando bien el tubo hasta que formen una suspensión homogénea. Una vez lavados, se ajustan los volúmenes, teniendo en cuenta las indicaciones arriba formuladas, de manera que las suspensiones globulares tengan una concentración globular adecuada.

La reacción se hará en seis tubos de hemolisis, de un diámetro interior de 9 a 10 mm., tres tubos para glóbulos formolados y tres controles con glóbulos naturales. Se distribuirá primero el suero en examen, luego el suero fisiológico; se agitan los tubos para mezclar bien esos elementos y luego se agregan las suspensiones globulares según el siguiente esquema:

Tubos	1	2	3	4	5	6
Suero en examen	0 5	0 25	0 1	0 5	0 25	0 1
Solución fisiológica	0 3	0 55	0 7	0 3	0 55	0 7
Suspensión de glób. formolados	0 2	0 2	0 2	— —	— —	— —
" " " naturales .	— —	— —	— —	0 2	0 2	0 2

Se agitan bien los tubos y se ponen en la estufa a 37°

A este esquema se puede agregar en cada una de las dos series de glóbulos, un tubo más con 0.7 de suero; se podrá así tener algunos resultados positivos más y sobre todo reacciones más acentuadas para los sueros débilmente positivos. Pero esto no será posible para todos los sueros, porque a esa concentración es frecuente la observación de fenómenos de heteroaglutinación que dificultan la lectura de los resultados, siendo necesario recurrir entonces a la absorción previa de las heteroaglutininas, según la técnica que mencionaremos.

El esquema de reacción que dejamos mencionado es el que hemos utilizado desde varios años hasta la fecha, pero actualmente utilizamos otro que se presenta algo más sensible:

Tubos	1	2	3	4	5	6
Suero en examen	0 5	0 25	0 1	0 5	0 25	0 1
Solución fisiológica	0 2	0 45	0 6	0 2	0 45	0 6
Suspensión de glób. formolados	0 1	0 1	0 1	— —	— —	— —
" " " naturales .	— —	— —	— —	0 1	0 1	0 1

En este esquema la cantidad de glóbulos, para las mismas cantidades de sueros, es dos veces menor, y el volumen de reacción es también menor: 0.8 en lugar de 1 c.c.

Manifestamos acá, como lo hemos hecho otras veces, que las proporciones de suero, suspensiones globulares y volumen de reacción pueden ser modificados; obteniéndose reacciones más o menos sensibles; siendo sólo fundamental, para que los resultados sean específicos, utilizar dos series de dosis decrecientes de sueros, una con suspensión de glóbulos formolados y otra de glóbulos naturales debidamente preparados y procedentes ambos, para cada reacción, del mismo o de los mismos animales.

Lectura de los resultados. — Las reacciones positivas se caracterizan por un aclaramiento progresivo y más o menos rápido, según la intensidad de la reacción, al mismo tiempo que se constituye en el fondo del tubo un depósito o casquete globular que contrasta con el resto del medio más o menos aclarado. Se hará una primera lectura al cabo de 15 minutos, una segunda a los 30 minutos y la última al cabo de una hora. La reacción es positiva cuando la aglutinosedimentación se produce solamente en la serie de glóbulos formolados, o cuando ella es netamente más pronunciada en esta serie que en la de los glóbulos naturales. La reacción es negativa cuando no aparece aglutinosedimentación, o cuando ella se produce en las dos series globulares con intensidades sensiblemente iguales.

Como la aglutinosedimentación con igual intensidad en ambas suspensiones globulares indica la presencia de heteroaglutininas, las que pueden ocultar una reacción positiva, antes de pronunciarse en tal caso por una reacción negativa, será necesario repetir la reacción con el suero privado de sus heteroaglutininas por absorción de las mismas mediante una suspensión de glóbulos naturales.

Absorción de las heteroaglutininas no específicas

La absorción de las heteroaglutininas no específicas se funda en que ellas son absorbidas por los glóbulos de oveja al estado natural, contrariamente a las aglutininas específicas de la lepra, que sólo son absorbidas por los glóbulos formolados. Frente al calor tienen también un comportamiento desigual: las primeras son absorbidas más intensamente a baja temperatura; entre 0° y 9°; en cambio, las aglutininas leprosas son absorbidas mejor a 37°.

Técnica: Por cada c.c. de suero se agrega 0.5 c.c. de una suspensión de glóbulos de oveja lavados cuatro veces (como para la reacción) y lle-

vados con solución fisiológica *al volumen original de sangre*. Se mezcla bien agitando el tubo y se coloca en la heladera (tratándose de una heladera común, se coloca el tubo sobre el hielo) durante una hora, agitando la mezcla por lo menos tres veces, a fin de incorporar los glóbulos rojos que se depositan aglutinados en virtud de la aglutinina que han absorbido; se centrifugará inmediatamente de sacados de la heladera y se hará la reacción con el líquido decantado.

Como el suero quedará privado de sus heteroaglutininas, la reacción se podrá hacer con sólo dos tubos:

Tubos	1	2
Suero	0 8	0 8
Suspensión de glóbulos formolados ..	0 1	— —
" " " naturales ..	— —	0 1

Las suspensiones globulares indicadas en este esquema se prepararán exactamente como lo hemos indicado en la técnica de la reacción. El tubo 2 sirve de control para comprobar que las heteroaglutininas han sido absorbidas. Un suero demasiado rico en heteroaglutininas podrá exigir para la absorción total una mayor proporción de glóbulos rojos de oveja. En este caso será siempre más conveniente, para no diluir demasiado el suero, utilizar una suspensión globular más concentrada.

Para mayores detalles de técnica y estudio de la reacción recomendamos nuestro trabajo en los *"Annales de l'Institut Pasteur"*, tomo XLVII, agosto de 1931.

TRABAJOS Y OPINIONES PUBLICADAS EN EL EXTRANJERO

Referiremos en forma sintética los principales trabajos sobre nuestra reacción, publicados en el extranjero y que han llegado a nuestro conocimiento.

El primer trabajo importante fué el de Marchoux y Caro, del Instituto Pasteur de París ("Annales de l'Institut Pasteur", mayo de 1928, tomo XLII). Tomaron como base nuestra primera publicación, con una técnica aun insegura en cuanto a especificidad de la reacción, difundida por una revista italiana. Dado el justificado prestigio del Prof. Marchoux y la difusión de la revista en que publicó su trabajo, hizo que algunos investigadores utilizaran la misma técnica y obtuvieran resultados contradictorios.

Marchoux y Caro hacen un estudio minucioso de la reacción y llegan a las siguientes conclusiones: 1.º La reacción de sedimentación de los glóbulos rojos de oveja formolados, aplicada según la técnica descripta por Rubino, es decir, mezclando partes iguales de suero leproso y suspensión globular formolada, nos ha dado resultados positivos en la mitad de los casos de lepra que hemos estudiado. 2.º Esta

reacción ha permanecido constantemente negativa para todos los sueros fuera de la lepra. 3.º Mezclando el suero leproso y la suspensión formolada en las proporciones de cinco partes de suero para una de suspensión globular, hemos obtenido la sedimentación en la totalidad de los casos de lepra que hemos estudiado. 4.º Esta reacción es negativa para todo otro suero que el suero leproso, salvo para el suero de un enfermo atacado de filariosis, y que no está posiblemente indemne de contaminación leprosa. 5.º la reacción es función de dos substancias, de las cuales una, específica, se fija sólidamente sobre los glóbulos de oveja formolados y la otra es común a todos los sueros. 6.º Por calentamiento del suero durante una hora a 56º, el fijador resiste parcialmente, el complemento es destruído. 7.º la temperatura de 60º mantenida durante 30 minutos destruye las dos substancias a la vez.

Monacelli, en Italia, de la Clínica Dermosifilopática de la Universidad de Roma, publica un interesante trabajo, obteniendo doce reacciones positivas sobre trece enfermos de lepra y ninguna sobre 45 casos de otras enfermedades, declarando que la reacción es específica y útil para ayudar el diagnóstico de los casos dudosos.

M. Peltier publica un trabajo hecho con la primera técnica, muy poco sensible, y obtiene un reducido número de reacciones positivas, pero declara que es específica. J. Markiano, del Servicio de la Lepra, en Grecia, utilizando la primera técnica, obtiene igualmente un número bajo de resultados positivos, pero afirma también que la reacción es específica.

En 1930, en el Congreso Médico del Centenario, que tuvo lugar en Montevideo, el Dr. Silva Araújo hace mención a la aplicación de la reacción de Rubino en el Servicio de la Lepra de Río de Janeiro, relatando algunos casos en que la reacción pudo hacer presumir la enfermedad antes de la aparición de los síntomas clínicos, y confirma su especificidad. En el mismo sentido se manifiesta el Dr. Borzone, Jefe del Servicio de la Lepra en Rosario de Santa Fe.

El Dr. Armindo Pinto de Figueiredo, de Río de Janeiro, dedica su tesis de doctorado al estudio de la reacción de Rubino. Hace un estudio minucioso de la reacción, ajustándose a la técnica indicada por el autor. En tales condiciones, sobre 65 casos de lepra, obtiene 74 % de reacciones positivas en las formas tuberosa y mixta, y 26,6 % en las formas nerviosas puras, y llega a las siguientes conclusiones:

1.ª La reacción de Rubino es específica de la lepra.

2.ª Se presenta positiva en un 74 % de las formas tuberosa y mixta.

3.ª Es menos frecuente en las formas nerviosas y en las latentes de lepra.

4.ª Cuando es positiva es patognomónica de la lepra.

5.ª La reacción de Rubino es un valioso auxiliar para el diagnóstico de la lepra.

En 1931, con la asistencia del Dr. Monier, hacemos un estudio de contralor en el Servicio de Patología Exótica del Instituto Pasteur de Paris, bajo la dirección del Prof. Marchoux, y encontramos sobre 36 sueros de leprosos, 27 reacciones positivas, dos dudosas y siete negativas, y sobre 304 sueros de control, procedentes de las más diversas enfermedades, sólo encontramos una reacción positiva, que al examen clínico, el sujeto presenta los dos nervios cubitales fuertemente engrosados y procede de una colonia francesa donde ha convivido con leprosos.

El Dr. Alcivar Zevallos, del Ecuador, publica un importante trabajo sobre la reacción y no obstante, no ajustarse a la técnica específica, llega a conclusiones enteramente favorables. La reacción es positiva en el 79 % de los casos de lepra y se mostró negativa en numerosos casos de las más variadas de las enfermedades, habiendo encontrado algunas reacciones positivas fuera de la lepra en paludismo y pénfigo. Debemos acentuar que el Dr. Alcivar Zevallos no usó los tubos controles para eliminar los casos no específicos por heteroaglutininas; no obstante, sus observaciones le permiten llegar a las siguientes conclusiones: 1.ª La reacción de Rubino agregada a los signos clínicos y a las investigaciones bacteriológicas se ha mostrado un útil factor en el diagnóstico de la lepra; 2.ª La reacción ha sido encontrada en ciertos casos en que sólo los antecedentes familiares y ligeras manchas anestésicas, pudieran afirmar el diagnóstico de la lepra, hecho que la revelaría como un valioso medio de diagnóstico precoz. 3.ª Su sensibilidad o exactitud, que es de 79 % en el total de casos examinados, varía con las diversas formas clínicas de la enfermedad, ya que es de 100 % para la forma tuberculosa, de 96 % para la forma mixta y sólo de 53 % para la forma nerviosa.

El Dr. Valenzuela, de Ecuador, usa la reacción sistemáticamente en los enfermos que ingresan en el Hospital General de Guayaquil, y según su opinión, tiene un valor diagnóstico muy importante.

Max Adant, del Laboratorio D'Elisabeth-ville (Congo Belga), presentó a la Sociedad Belga de Biología dos comunicaciones muy interesantes. En su primera comunicación manifiesta haber encontrado dos reacciones positivas fuera de la lepra. Pero habiendo llamado nosotros la atención en una nota a la Sociedad de Patología Exótica, de que Max Adant, no había usado la técnica completa para eliminar las reacciones no específicas, el mismo investigador repite las experiencias y presenta su segunda comunicación en mayo de 1932 a la misma Sociedad, reconociendo que usando la técnica completa la reacción es totalmente específica.

Lepine, Markiano y Papayoannou hacen una comunicación a la Sociedad de Patología Exótica, en junio de 1932, manifestando que usando la técnica aconsejada por nosotros, la reacción es absolutamente específica, aunque no encuentran porcentaje elevado de reacciones positivas en la lepra.

Agostino Ambrogio publica un trabajo, en Patolhogica (abril de 1932), en que atribuye gran valor a la reacción.

El Dr. Montañez, del Instituto Nacional de Higiene de Madrid, publicó un extenso trabajo, en la "Revista de la Sanidad e Higiene Pública", enero de 1932. Hace un estudio completo de la reacción, pero es de lamentar que haya utilizado una técnica insuficiente, sin los tubos controles para eliminar las heteroaglutininas, lo que puede originar la aparición de reacciones no específicas. No obstante, he aquí las conclusiones a que llega el Dr. Montañez:

La reacción de Rubino es la que nos da más positividades en los sueros leprosos y la que da menos en los sueros no leprosos de cuantas reacciones serológicas diagnósticas han sido propuestas hasta hoy para el diagnóstico de la lepra. Esta reacción persiste en el 80 % de los casos clínica y bacteriológicamente curados, en lo que puede permitirse la vida social del enfermo "altas condicionales paroled". Todos estos resultados hablan en favor de la especificidad de la reacción de Rubino.

Los Dres. G. Fleury da Silveira y Mario P. Mesquita publicaron en la Revista de la Asociación Paulista un importante trabajo sobre el estudio comparado de las reacciones de Rubino y de Gómez, comprendiendo 113 casos de lepra y 38 de otras enfermedades.

Después de un examen minucioso, llegan a las siguientes conclusiones:

1.ª La reacción de Rubino es absolutamente específica, aunque el porcentaje de positivos no sea muy elevado, sobre todo en las formas nerviosas de la enfermedad.

2.ª La reacción de Gómez, cuando se hace aisladamente, no puede garantir un diagnóstico positivo.

3.ª Cuando la reacción de Rubino es negativa y la de Gómez positiva, sólo se puede considerar como caso sospechoso.

En un resumen últimamente aparecido sobre los progresos en la lepra, el Dr. Clemente Simón, del Hospital de San Lázaro de París refiere a propósito de nuestra reacción, los siguientes trabajos:

Del Dr. M. Hombría ("Actas Dermosifilográficas", año XXV, N.º 3, diciembre de 1932):

La reacción de Botelho carece de especificidad, la reacción de Eitner, bastante sensible, tiene el inconveniente de dar reacciones positivas con sueros sifilíticos.

La reacción de Rubino, menos sensible que las precedentes, es,

no obstante, de gran utilidad, porque es constantemente negativa en los individuos que no tienen lepra.

Del Dr. G. Benetazzo ("H. Dermosifilógrafo", año VII, N.º 5, mayo de 1933). Que la reacción de Rubino es positiva en un 55 % de los casos, teniendo entonces un buen valor diagnóstico, pero no lo tiene cuando es negativa.

F. Landeiro, en un trabajo del Instituto Cámara Pestana, de Lisboa, presentado a la Sociedad de Biología de Lisboa (sesión del 27 de febrero de 1934), titulado "La reacción de Rubino-Marchoux en los leprosos", estudia la reacción en 55 casos de distintas formas clínicas de lepra, y llega a las siguientes conclusiones: 1.º La reacción de Rubino-Marchoux es positiva en un 98 % de los sueros leprosos, ella es al contrario negativa en los individuos sanos o que sufren de otras enfermedades, y en los casos de lepra muy antigua. 2.ª La reacción es positiva solamente en presencia de glóbulos rojos tratados por el aldehido fórmico según el método de Rubino. 3.ª Para los sueros inactivados, es menester agregar una pequeña dosis de complemento, sea de suero normal, sea de suero del mismo enfermo.

Últimamente el Dr. O. Bier, del Instituto Biológico de San Pablo (Brasil), hizo el control de la reacción de Rubino sobre 1.000 sueros de otras enfermedades, incluyendo 50 casos de tuberculosis, y no pudo observar ninguna reacción positiva, concluyendo así en el valor específico de la reacción.

Debemos mencionar el trabajo del Dr. Spaneda publicado en la "Revista Sudamericana de Endocronología, Inmunología y Quimioterapia", que se aparta completamente en cuanto a sus resultados de los ya mencionados, negándole toda especificidad a la reacción; pero la explicación resulta de la lectura del propio trabajo, en el que el autor ha empleado en la reacción, glóbulos aglutinados por el propio formol, lo que es una contraindicación absoluta para su empleo; de manera que no es posible tomar en consideración las conclusiones de su trabajo.

VALOR ESPECIFICO. VALOR DIAGNOSTICO. SU SIGNIFICADO

Según nuestras investigaciones y la de los investigadores que se han ajustado a la técnica precisa descripta por nosotros, la reacción de los glóbulos formolados tiene un alto valor específico; que va más allá del asignado a numerosas reacciones serológicas que disfrutan de un tal crédito.

Pero aun más, nuestras investigaciones hasta la fecha, no nos han permitido encontrar ninguna reacción positiva seguramente fuera de la lepra.

Yo debo señalar particularmente a este respecto dos series de hechos:

1.º Los trabajos realizados en el Instituto Pasteur de París, en el Servicio de Patología Exótica, a cargo del Prof. Marchoux, a principios de 1931.

En este Servicio el Prof. Marchoux convino en hacer un control de la reacción, y designó al Dr. Monier para que siguiera mis trabajos. Los sueros eran recibidos numerados y el diagnóstico clínico era conocido sólo después de leídas las reacciones. En tales condiciones se hizo el examen de 340 sueros, de los cuales 36 procedentes de sujetos leprosos y el resto así distribuídos:

36 sueros de enfermedades exóticas, comprendiendo paludismo, filariosis, enfermedad del sueño, coexistiendo una vez leucemia mieloide.

45 sueros del Instituto Profiláctico, que dirige el Dr. Vernes, comprendiendo 27 sueros sifilíticos de grado fotométricos elevados y 18 sueros de sujetos tuberculosos de índice a la resorcina elevado.

226 sueros tomados del Servicio Serológico del Instituto Pasteur, que dirige el Prof. Mutermilch, comprendiendo indistintamente sueros positivos y negativos al *Bordet Wassermann.*

Sobre los 36 sueros de sujetos leprosos, se encontraron 27 reacciones positivas, dos dudosas y siete negativas. Sobre los otros 304 sueros, sólo en un caso se presentó una reacción positiva. El examen de ese sujeto, hecho por el Prof. Marchoux y Dr. Monier, reveló: hipertrofia neta de los dos nervios cubitales, más marcada del lado derecho, y sensación de hormigueo en los dos últimos dedos de cada mano. Además, el enfermo declaró que en el curso de su permanencia en el Africa Occidental, por razones de su servicio, había vivido en cierta promiscuidad con los indígenas, entre los cuales había leprosos.

La segunda serie de hechos se refiere a nuestros últimos trabajos realizados en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene Argentino.

Todos los sueros me fueron entregados numerados por el Servicio de Serología, que dirige el Dr. Miravent. Sobre 169 sueros examinados, 126 eran de lepra; de éstos, 78 dieron reacciones positivas, una dudosa y 47 negativas. De los 39 sueros restantes, de diversas enfermedades de la piel, entre ellos la mayoría a *Bordet Wassermann* positivos, todos fueron negativos.

Estos sueros procedían de los Servicios del Hospital Muñiz, a cargo de los Dres. J. J. Puente y Etcheverry, y de las Clínicas del Prof. Baliña, remitidos por el Dr. G. Basombrío, a quienes agradezco sinceramente la colaboración prestada.

El otro punto importante a considerar es el grado de positi-

vidad en las distintas formas de la enfermedad y en sus diversos períodos de evolución.

La mayoría de los trabajos coinciden en que la reacción se presenta más frecuentemente positiva en la forma tuberosa, luego en la mixta y por último en la nerviosa pura. También es más frecuentemente positiva en las formas avanzadas que en las clínicamente incipientes.

Sin embargo, frente a estos hechos, hay un grupo de observaciones que demuestran que la reacción suele presentarse en casos incipientes y mismo en casos en que la enfermedad fué visible clínicamente después de varios meses de una reacción positiva.

El Dr. Silva Araújo en el Congreso Médico del Centenario del Uruguay (1930), hizo mención precisamente a casos de esa naturaleza. El Dr. Alcivar Zeballos, del Ecuador, en un documentado trabajo, en una de sus conclusiones, que ya hemos leído, manifiesta que ha encontrado la reacción positiva en ciertos casos en que sólo los antecedentes familiares y ligeras manchas anestésicas, pudieron afirmar el diagnóstico de lepra.

Al referir nuestros trabajos realizados en el Instituto Pasteur, hemos mencionado el caso de un sujeto que una reacción positiva hizo practicar un examen minucioso y comprobar la hipertrofia de los nervios cubitales. No es posible afirmar que este caso sea de lepra; pero los resultados obtenidos hasta la fecha sobre la especificidad de la reacción, unido a la circunstancia de haber vivido en cierta promiscuidad con enfermos de lepra, hacen recaer una fuerte sospecha.

Últimamente investigamos serológicamente los miembros de una familia en que había un caso de lepra; se obtuvo una reacción positiva, en otro de ellos que un examen cuidadoso señaló la presencia de una pequeña mancha anestésica.

Creo que por el momento es difícil sacar una conclusión absoluta de la correlación entre la reacción y el grado de evolución de la lepra; ignoramos a qué factores se debe una reacción positiva, y sólo una experimentación amplia, en un medio infectado, investigando serológicamente no solamente los casos clínicamente diagnosticables, sino también los convivientes aparentemente sanos, podrá informarnos sobre su alcance para despistar los casos larvados o incipientes de esa enfermedad.

EL PROBLEMA DE LA CONTAGIOSIDAD DE LAS CARNES PROCEDENTES DE ANIMALES CON AFTOSA

(EN COLABORACION CON EL DR. PEDRO SEOANE)

Publicado en la Revista de Medicina Veterinaria, Tomo II, Año X, N.º 30, 1927

Hasta hace muy poco tiempo, era universalmente aceptado que las carnes procedentes de animales con aftosa, salvo casos especialmente determinados, podían ser libradas al consumo público, sin ningún riesgo para la alimentación humana y sin ningún riesgo, también, para la propagación natural de esa enfermedad a los animales susceptibles de contraerla.

Es así que, basadas en esta creencia y en lo que aconsejan eminentes tratadistas en materia de inspección de carnes, nuestros servicios veterinarios en los frigoríficos y mataderos —al igual que organizaciones similares de otras partes del mundo— han adoptado, frente a esas carnes, un criterio de cierta tolerancia que lo lleva hasta permitir la utilización de todas aquellas partes que no presenten un estado manifiestamente febril y cuyas lesiones aftósicas mantienen un carácter de franca localización.

Es decir, pues, que siguiendo las enseñanzas de Rennes, Pautet, Ostertag, Martel-Loverdo y Mallet, Arán, etc., y lo dispuesto, en su espíritu, por el Reglamento de Inspección Oficial de Carnes, nuestros veterinarios, en los mataderos se han limitado siempre, frente a un caso de fiebre aftosa sin manifestaciones febriles en la carne, a decomisar las partes afectadas de lesiones vesiculosas, permitiendo el libre comercio de lo restante del animal, sin que hasta el presente se haya registrado un solo caso concreto, al menos en nuestro país que demostrara los inconvenientes o los peligros de la técnica seguida.

Pero hechos nuevos, que podríamos calificar de recientes, traducidos en ciertas medidas de carácter restrictivo y de finalidad aparentemente sanitaria tomadas por Inglaterra y los Estados Unidos de Norte América, con respecto al tránsito de las carnes procedentes del extranjero, como medio de defenderse mejor contra el desarrollo e introducción de la fiebre aftosa en sus respectivos territorios, ha puesto sobre el tapete de la discusión, la técnica hasta el presente adoptada, iniciándose a la vez experimentaciones de índole diversa, tendientes a aclarar debidamente el grado de contagiosidad que pueden ofrecer las carnes procedentes de animales atacados de esa enfermedad.

Nuestro país, que tiene cimentado gran parte de su bienestar económico en el comercio exterior de las carnes conservadas y que tiene especial interés en mantener el crédito de todos sus productos ganaderos así como también de la seriedad de sus servicios sanitarios, no podía mirar con indiferencia esos nuevos conceptos de la ciencia, que atribuían a las carnes, aun mismo a las congeladas, peligros eminentes en la trasmisión de la fiebre aftosa, y creyó de conveniencia, también, realizar estudios sobre el particular, contribuyendo así, al esclarecimiento de un problema de gran interés para la economía nacional y para el comercio de nuestra producción pecuaria.

Fué así, como el Comité Ejecutivo de las Conferencias de Policía Veterinaria a iniciativa de la Sección Industria Animal resolvió encomendar al Jefe de la misma, Dr. Pedro Seoane y al Dr. Miguel C. Rubino, la tarea de estudiar el problema planteado con los nuevos conceptos de trasmisibilidad de la aftosa, especialmente en lo que se refiere a las carnes congeladas y enfriadas, dándoseles amplias facultades para proceder en consecuencia y designándoseles miembros relatores del tema respectivo ante la V Conferencia Anual de Policía Veterinaria.

Así, pues, que, dando cumplimiento a este mandato, venimos a informar a Uds. del estado en que se encuentra el problema a que se ha hecho referencia y de la labor que como contribución a su esclarecimiento, hasta el presente, hemos realizado.

Dividiremos esta exposición, para su mejor y más fácil interpretación, en tres partes principales, a saber:

1.º Antecedentes relacionados con las medidas dictadas el año último, por Inglaterra y Norte América, contra la libre importación de carnes a sus respectivos territorios, como medio de impedir la introducción de la fiebre aftosa.

2.º Informaciones y experiencias producidas sobre el rol de las carnes en la trasmisibilidad de la aftosa por diversos países interesados en el esclarecimiento de la cuestión.

3.º Experiencias realizadas en nuestro país, como contribución al estudio de la contagiosidad atribuída a las carnes frías y congeladas.

1.º Antecedentes relacionados con las medidas dictadas el año último por Inglaterra y Norte América contra la libre importación de carnes a sus respectivos territorios como medio de defenderse contra la fiebre aftosa.

La evolución experimentada por la ciencia, en materia de trasmisibilidad de la fiebre aftosa, ha dado lugar, en diversos países fuertemente castigados por la presencia de esa enfermedad, a la adopción de medidas restrictivas, más o menos severas y más o menos

concordantes con el concepto técnico en el momento de su aplicación, tendientes, siempre, a limitar o impedir su diseminación.

Es sabido que, hasta hace unos 9 o 10 años, las ideas de contagio o trasmisión de la fiebre aftosa estaban basadas en las noticias de la época sobre que el virus residía, principalmente al nivel de las aftas y regiones circunvecinas; de manera que todas las medidas de profilaxia tendían a evitar el movimiento y comercio de animales con esas lesiones. Posteriormente, los trabajos de Cosco y Aguzzi, confirmados por numerosos experimentadores, demostrando la virulencia constante de la sangre, en los sujetos con aftosa en los períodos ascensionales térmicos y principalmente en pre-eruptivo, los trabajos de Lebailly, Vallée y otros, revelando que al igual que la sangre, la leche y la orina eran virulentas en el período inicial de la enfermedad antes que las aftas aparecieran y que, la saliva dejaba de ser virulenta a los cuatro días de evolución de las aftas, etc., pusieron de manifiesto conceptos distintos respecto a la contagiosidad y abrieron el campo a la adopción de nuevas medidas tendientes a evitar la diseminación de la enfermedad.

Estas nuevas adquisiciones llevaron lógicamente a pensar que el mayor peligro de contagio reside en los animales en período inicial de la enfermedad y que es en este momento, cuando la temperatura alta señala el período pre-eruptivo, que la contagiosidad ofrece su más ancho campo para obrar; además, la marcada virulencia de la sangre en este período induce a considerar la de los órganos y la posibilidad de conservarse en aquellos que, como la médula ósea, escapan por muchos días a los procesos de la putrefacción y de autolisis.

Es, posiblemente, teniendo en cuenta estos conceptos y los otros que derivan del conocimiento corriente que se tiene de la contagiosidad de esa enfermedad que, desde hace muchos años, Inglaterra, prohibe la importación de ganado en pie a su territorio como recurso defensivo contra posibles infecciones de fiebre aftosa en sus haciendas, sin que diversas tentativas realizadas en determinadas épocas para modificar esa situación, hayan encontrado en las autoridades sanitarias de ese país la más mínima perspectiva de cristalización.

Esta prohibición, dictada por Inglaterra, que significa un serio trastorno comercial para la exportación de animales procedentes del Continente europeo, hizo que algunos interesados, entre los cuales se encontraban elementos de nuestro país, buscaran una solución a ese problema y dispusieran al efecto, la matanza de ganado, en diversos puntos de la costa europea, cercanos a las islas Británicas, el transporte de las reses sacrificadas, por medios rápidos, especialmente, por "ferryboats", hasta los mercados de consumo de este país. Entre otros, el matadero establecido en el pueblo belga de Zeebruge, donde se sacrificaban animales en pie llevados del Uruguay y de la

Argentina, alcanzó una singular importancia hasta hace muy poco tiempo.

La entrada de esas carnes frescas promovió, desde el principio, protestas de los ganaderos escoceses y de los vendedores de carnes frigorificadas en Inglaterra, y tal oposición arreció en momentos en que la tendencia proteccionista fué puesta en auge, por la reunión de la Conferencia de los dominios Británicos.

A estos factores se agregó en Junio del año ppdo. una circunstancia de carácter sanitario, por la que, el Ministro de Agricultura de Inglaterra dispuso el cierre de los puertos ingleses a las carnes frescas procedentes de los mataderos situados en la costa europea del Continente, fundando la medida en la razón de que las carnes introducidas en ese estado, particularmente la carne de cerdo, podían ser vehículo de enfermedades infecciosas como la fiebre aftosa y constituir, por consiguiente, un constante y real peligro para sus ganados.

Esta decisión fué ampliamente comentada en nuestro país y en la Argentina. "La Prensa" de Buenos Aires, por ejemplo, haciéndose intérprete del sentir de las clases productoras, trató extensamente y con mucho acierto este asunto, manifestando en uno de sus editoriales del mes de Marzo último que el cierre de los puertos ingleses si bien afectó indirectamente y de un modo casi insignificante a los países del Río de la Plata ya que, como se ha dicho, en algunos de esos mataderos de la costa europea se carneaban animales procedentes de los referidos países, hubo de tener consecuencias más serias, si se tiene presente que, simultáneamente con la campaña contra los mataderos continentales, se hizo sentir, en la misma Inglaterra, una recia propaganda tendiente a sostener que las carnes de frigoríficos, también, ofrecían peligros de infección y debía adoptarse contra ellas, sobre todo con las procedentes del extranjero, medidas semejantes a las tomadas con respecto a las carnes frescas.

Es así que, un mes después de estos acontecimientos, es decir, en Julio del año último, los diputados laboristas llevaron el asunto mencionado a la Cámara de los Comunes e interpelaron al señor Ministro de Agricultura con objeto de que manifestara: "cuáles eran los motivos porque la prohibición de importar carne fresca del Continente europeo, no se extendía a la de frigorífico procedente del Río de la Plata", planteando de este modo una cuestión sumamente delicada, de alta trascendencia económica para los países exportadores y mismo para el importador, que fué hábilmente orillada por el referido Ministro en el Departamento de Agricultura, quién contestó a esa interpelación, diciendo únicamente que, "no se habían encontrado gérmenes de aftosa en las carnes frías del Río de la Plata pero que si se llegaran a encontrar, se dispondría la inmediata clausura de los puertos, en defensa de la ganadería inglesa".

Así, pues, que las autoridades de ese país, procediendo sabia-

mente y con el alto criterio práctico que ponen en todas sus decisiones, sin dejarse sugestionar por ninguna de las dos teorías contrarias que respecto a la posible trasmisibilidad de la aftosa por las carnes frigorificadas, en esos momentos se disputaban el carácter de premisa científica, resolvieron mantener la prohibición para la entrada de carnes frescas, adoptando un criterio de espectativa frente a las carnes frías y congeladas procedentes de los países del Río de la Plata y efectuar serias investigaciones para establecer debidamente los riesgos a que estas últimas pudieren dar lugar.

Entre los países europeos exportadores de carnes frescas a Inglaterra, Holanda, protestó por las medidas dictadas en contra de su producción y por la sospecha que se insinuaba de que la fiebre aftosa declarada en Escocia había sido introducida por las carnes procedentes de su país, invitando a la vez, a los representantes del Ministerio de Agricultura británico a celebrar una conferencia con los inspectores veterinarios holandeses para aclarar, en forma conveniente, tan discutida cuestión. De esta conferencia que se realizó en oportunidad, no se sacó nada en limpio pues si bien los representantes británicos declararon hallarse satisfechos de la forma en que se inspeccionaban las carnes para la exportación en Holanda, insistieron en que no había un sistema práctico por medio del cual se pudiera evitar el peligro de trasmisión del germen en estado de incubación; en cuanto a los inspectores holandeses, manifestaron su discrepancia con la teoría de los representantes británicos y resolvieron iniciar de inmediato experiencias complementarias para robustecer los puntos de vista en que se colocaban.

Por lo que se refiere a la actitud de los Estados Unidos de Norte América, frente a los peligros que a las carnes frigoríficas se les atribuía, fué más radical, pues se manifestó por la adopción de medidas francamente prohibitivas a la importación de ese producto, dictando al efecto un decreto por el que se cerraba sus puertos a la producción respectiva procedentes de países donde reinara en forma endémica la fiebre aftosa, e incluyendo expresamente entre éstos, al Uruguay y a la Argentina.

Fué en Noviembre del año ppdo. que la Legación de los Estados Unidos de Norte América en el Uruguay, comunicó a nuestras autoridades, que el Ministro de Agricultura de aquel país, había resuelto prohibir desde el 1.º de Enero del corriente, la importación de carne de animales vacunos, ovinos y porcinos, procedentes de 16 Estados, entre los cuales se encontraba el nuestro, a consecuencia de existir en ellos la fiebre aftosa y ser esta enfermedad posible de trasmitirse por medio de ese producto.

En esta primera comunicación oficial hubo un error por parte

de las autoridades norteamericanas, al calificar la enfermedad contra la cual deseaban prevenirse y que se daba como existente en nuestro país, error que fué debidamente puesto en claro por la Inspección Nacional de Policía Sanitaria Animal.

La Sección Industria Animal, a la que fué pasada para su estudio e informe el comunicado de la referencia, ateniéndose al estado de la ciencia en esos momentos, produjo su criterio al respecto, por medio de una información en la que, entre otras cosas decía: "Las medidas dictadas por los Estados Unidos de Norte América, prohibiendo la introducción a ese país de las carnes frías y congeladas procedentes del Uruguay, como medio de evitar la introducción del contagio de la fiebre aftosa, debe ser considerado bajo un doble punto de vista; el que se relaciona con los intereses de la economía nacional y el relativo a las posibilidades del contagio que se invoca".

"En cuanto se refiere a los intereses de la economía nacional, puedo afirmar que éstos no se encontrarán mayormente afectados con la implantación de esa medida".

"La carne congelada que se exporta a los Estados Unidos, con relación a la cifra total de las exportaciones y mismo con relación a la que acusan cualquiera de los mercados europeos que consumen nuestros productos, es insignificante, limitándose la mayor parte, a trozos de carne vacuna congelada, la que una vez prohibida la introducción en aquel país, tendrá fácil salida para otros pueblos del Continente europeo. (Se hace a continuación una estadística cuantitativa y cualitativa de los productos cárneos exportados desde nuestro país a Norte América y se llega a la demostración de que tal prohibición no afecta mayormente a la comuna nacional).

"Además, la carne congelada en trozos, es tomada, por lo general, de cuartos que se destinan al mercado inglés o a la conserva y que muy bien pueden ser utilizado a cualquiera de esos dos fines, dado que esa colocación en trozos no responde a una necesidad de la industria sino más bien al deseo de atender la demanda de una región de Pensilvania que encuentra conveniencia en proveerse de esos trozos en los establecimientos suramericanos.

"Bajo el otro punto de vista, es decir, del que se relaciona con las razones invocadas por los Estados Unidos de Norte América para decretar el cierre de sus puertos a nuestras carnes congeladas, debo decir, concretamente, que en el estado actual de la ciencia, la medida no se encuentra debidamente justificada.

"Se sabe que un Comité Internacional de Bacteriología que llevó a cabo los estudios sobre la fiebre aftosa en Strasburgo, ha anunciado la publicidad de sus investigaciones; se sabe que en Inglaterra se están realizando experiencias serias que parecen llevar a la confirmación o por lo menos a la justificación de los puntos de vista en que ese país, al respecto, se ha colocado; se sabe que en

Holanda, Francia, Alemania, Dinamarca, etc., se ha trabajado sobre esta cuestión y se han producido algunos informes en los que se llegan a muy contradictorias conclusiones. Pero, todo eso, que ha llegado hasta nosotros por medios de comunicaciones de la prensa diaria y en forma incompleta, no puede invocarse, hasta el momento, como una demostración de lo que se pretende, desde ya, sentar como un principio indiscutible".

"Voy, a referirme, pues, sin darle otro carácter que el ilustrativo a dos comunicaciones concretas que, sobre el particular, han llegado a mi conocimiento: las investigaciones hechas por Schlogel en los Laboratorios Nacionales de Reims, estudiando lo referente a prevención, resistencia y destrucción del virus de la aftosa en los músculos de cobayos enfermos y, las hechas por el Dr. Laurens, Director del Instituto Serológico de Roterdam".

Los detalles de ambas investigaciones fueron trascritos en el informe a que me vengo refiriendo, quedando las conclusiones, concebidas en los siguientes términos:

a) Que el virus de la fiebre aftosa es particularmente sensible al ácido que se forma durante el proceso de maduración de la carne.

b) Que la carne de animales faenados en el período de la incubación de la enfermedad, no es causa de peligro para la propagación de la aftosa, aún cuando los animales sean muertos en el período eruptivo de la enfermedad.

c) Que no es posible infectar otros animales con la carne de sujetos enfermos, 48 horas después que han sido muertos.

d) Que el virus de la fiebre aftosa muere, seguramente, dentro de las 24 horas in vitro, cuando se mezcla con jugo de carne.

"En razón de estas experiencias, uno de los autores afirma que, está seguro, de la innocuidad de la carne, en la propagación de la aftosa, aún mismo cuando los animales fueran accidentalmente faenados en el período eruptivo o de incubación de esa enfermedad".

"Hasta aquí, las referencias de esos dos experimentadores que justifican las reservas hechas precedentemente por la Sección Industria Animal y que contradicen, en cierto modo, las razones invocadas por los Estados Unidos al tomar las medidas que se vienen comentando".

"Si a esto agregamos, que la carne exportada por nuestro país, procede de animales prolijamente inspeccionados, antes y después del sacrificio; que son mantenidas en cámaras frigoríficas a temperaturas de 12 a 15 grados, durante meses, en muchas ocasiones, antes

de ser libradas al consumidor y, relacionamos estos antecedentes con los puntos de vista que presentan los investigadores recientemente citados, es fácil deducir, que el peligro invocado por los Estados Unidos, no puede ser la razón fundamental que lo ha llevado a tomar tan radical determinación, salvo que investigaciones recientes desconocidas aun por nosotros, hayan probado que reviste realmente peligro de trasmisión de la enfermedad por intermedio de las carnes congeladas, como se afirma".

Es esto, lo que la Sección Industria Animal, basada en conceptos vigentes de la ciencia, manifestó en ese entonces y lo que va a tener que rectificar, en parte, de acuerdo con nuevas investigaciones hechas sobre el particular, entre las cuales se encuentran las efectuadas por nosotros, con la ayuda muy importante, del Encargado de Servicio en el Frigorífico Swift, Dr. E. Chelle.

Este cierre de puertos norteamericanos a nuestras carnes, fué debidamente considerado por los Representantes Diplomáticos del Uruguay y de la Argentina en los Estados Unidos, los que hicieron notar en su reclamación, de una manera especial, las condiciones sanitarias de los ganados faenados para la exportación en sus respectivos países, las severas medidas tomadas por la inspección veterinaria para asegurar el estado salubre de las carnes y la ausencia de conclusiones científicas definitivas así como también de orden práctico, que justificaran de un modo satisfactorio, tan radicales disposiciones.

A su vez, en este caso como en el planteado por Inglaterra, la prensa de ambas orillas del Plata, haciéndose eco del sentir general, comentó ampliamente la actitud de los Estados Unidos, atribuyéndola, lisa y llanamente, a factores de otro orden que los invocados por las autoridades de este país.

Así, uno de los más importantes rotativos sudamericanos, "La Nación" de Buenos Aires, en uno de los varios artículos de fondo que dedicó a esta cuestión, decía, que era posible afirmar que el desenlace dado por Norte América al nuevo problema sanitario planteado a las carnes frigorificadas, no ha sorprendido a nadie que haya analizado con algún detenimiento los diversos factores en juego, pues todo se reduce a una extensión de la política proteccionista ya evidenciada, sino expresada, en muchos otros aspectos de las relaciones comerciales con ese país. Se agregaba por otra parte, que la información recibida del representante argentino en Nueva York aclara cualquier duda que al respecto pudiere existir y lo que es más importante todavía, arroja nueva luz sobre el asunto poniendo en evidencia la situación del partido gobernante norteamericano frente a determinado veto opuesto a una ley de subsidios, el que parece era necesario atenuar o reparar, con tiempo, para borrar la mala impresión dejada en cierto grupo que actúa influyentemente

en la vida de ese país. De ahí, se dice, la prohibición de importar carnes de países donde haya fiebre aftosa, puesto que esa medida iba a complacer a los "fermers", que acaso vieron concretarse la amenaza de una competencia exterior, por la virtud de la creciente insuficiencia de los rebaños nacionales para abastecer el consumo interno.

Estos y parecidos comentarios eran repetidos y compartidos por cierto número de personas interesadas en la solución de este asunto, llegándose a la conclusión de que fuera esa política consecuencia del estado creado con motivo de actitudes inconvenientes, o, efecto de las nuevas doctrinas económicas imperantes en casi todo el mundo y adoptadas en primer término por los Estados Unidos de Norte América, el caso no cambia de aspecto, a lo menos desde el punto de vista de los intereses de los países del Río de la Plata.

Estas hipótesis y varias otras, más o menos fundadas, fueron hechas públicamente en los primeros momentos, notándose una marcada resistencia a aceptar como valedera la teoría que daba un peligro real y eminente a la trasmisión natural de la fiebre aftosa por el movimiento corriente de las carnes congeladas procedentes de países que, como el nuestro, mantienen un régimen severo de inspección veterinaria.

El cierre de los puertos norteamericanos a nuestras carnes, no fué, sin embargo, cumplido, al vencimiento del plazo que primeramente se había estipulado, pues como un acto de deferencia hacia los países platenses, según se dijo, el gobierno de los Estados Unidos, aplazó hasta el 1.º de marzo del año en curso la aplicación estricta de la medida mencionada.

Más tarde, al vencimiento de este nuevo plazo, como consecuencia de las gestiones realizadas por los Ministros del Uruguay y de la Argentina, se dictaron nuevas disposiciones sobre el particular levantando definitivamente el cierre de puertos, primitivamente decretado, mediante condición de que nuestro país garantizara por medio de un certificado especial de exportación que las carnes de animales sacrificados en los frigoríficos, no proceden de regiones donde reina la fiebre aftosa, que fueron faenados sin encontrarse atacados de esa enfermedad y que ese producto no pudo haber sido infectado durante su manipulación. Es así que satisfaciendo estas exigencias, nuestra Oficina ha tomado algunas medidas tendientes a garantizar a los mercados consumidores de nuestras carnes, y especialmente a los Estados Unidos, las condiciones absolutamente sanitarias de ese producto, entregando al efecto, conjuntamente con la mercadería a exportarse un certificado especial que llena la finalidad perseguida por las autoridades de ese país consumidor.

En resumen, pues, podemos decir: que Inglaterra no ha tomado medidas restrictivas de ningún género contra las carnes fri-

gorificadas procedentes del Río de la Plata a pesar de admitir como posible el contagio de la aftosa por esas carnes, pero sí, contra las carnes frescas faenadas en los países limítrofes a su territorio y que, los Estados Unidos después de haber decretado el cierre de sus puertos a las carnes de frigorífico procedentes de 16 países, entre los cuales se encontraba el nuestro, ha terminado, derogando esa medida y exigiendo en su lugar, garantías sanitarias especiales de las carnes producidas para la exportación a dicho país. Tanto Inglaterra como Norte América, han hecho experiencias que llegan a conclusiones científicas absolutamente iguales, con respecto al problema de la trasmisión de la aftosa por las carnes de frigorífico, pero ambos, teniendo en cuenta posiblemente factores económicos de importancia, han adoptado disposiciones al respecto, que si no difieren fundamentalmente, demuestran la inexistencia de los peligros reales y eminente, que se han venido anunciando.

Entraremos ahora, como complemento de lo expuesto a la segunda parte de esta comunicación haciendo una sucinta reseña bibliográfica de las experiencias realizadas y dadas a conocer últimamente, por algunos de los países interesados en el debido esclarecimiento del problema.

Las informaciones que van a transcribirse, han sido trasmitidas por nuestros representantes en el extranjero, quienes atendiendo un pedido hecho por la Sección Industria Animal por intermedio del Ministerio de Relaciones Exteriores se han apresurado a remitir lo que sobre el particular se ha producido en cada uno de los países donde actúa.

Vamos a pasar revista, pues, de los informes trasmitidos desde Hamburgo, Francia, Rotterdam, Norte América e Inglaterra, deteniéndonos especialmente en este último por ser el más completo que hasta el presente hemos recibido.

2.º *Informaciones y experiencia producidas sobre el rol de las carnes en la trasmisibilidad de la aftosa por diversos países interesados en el esclarecimiento de tan importante cuestión.*

Informe producido por el Dr. Laurens, Director del Instituto Serológico de Rotterdam que nos fué gentilmente remitido por el Jefe de los Servicios Veterinarios de Frigoríficos en la Argentina, Dr. N. Suárez.

Dice el Dr. Laurens, en el informe de la referencia:

¿Es la carne de animales sospechosos de estar infectados por fiebre aftosa una fuente de peligro de propagación del virus?

Sabemos, agrega, que la carne de un animal recién sacrificado es de reacción alcalina y se vuelve ácida en tiempo variable, según

la temperatura del ambiente, debido a la formación de ácido láctico muscular y ácidos grasos volátiles.

El virus aftoso es muy poco resistente y particularmente sensible a los ácidos. El virus mezclado con leche agria inmediatamente antes de inyectarse no produce la enfermedad.

De ahí se puede inferir teóricamente, que en una carne infectada, el virus permanece vivo muy poco tiempo.

En Holanda se faenaron animales sospechosos y animales enfermos de fiebre aftosa, la carne fué siempre vendida para consumo y no fueron, jamás así, causados nuevos casos de enfermedad, lo que demuestra, prácticamente, que el virus perece pronto en la res.

A pesar de esta creencia se efectuaron experiencias en chanchos para determinar:

1.º Durante cuanto tiempo está vivo el virus en la carne de animales, en el período de incubación y consecutivamente a una infección natural.

2.º Durante cuanto tiempo el virus está vivo en la carne de animales en el período eruptivo y consecutivamente a una infección natural.

3.º Durante cuanto tiempo el virus permanece vivo en la carne de animales enfermos.

4.º Si el virus de la fiebre aftosa, el cual in vitro es mezclado durante 24 horas con jugo de carne de un animal en estado normal de ser faenado, es todavía capaz de causar infección.

Como resultado de estas experiencias, se llega a las siguientes conclusiones:

Que el virus de la fiebre aftosa es particularmente sensible al ácido que se forma durante el proceso de maduración de la carne.

Que la carne de animales faenados en el período de incubación de la enfermedad no es causa de peligro para la propagación de la fiebre aftosa como tampoco lo es en el caso de que los animales sean muertos en el período eruptivo de la enfermedad.

Que no es posible infectar otros animales con la carne de animales enfermos, cuarenta y ocho horas después que éstos han sido muertos.

Que el virus de la aftosa muere seguramente dentro de 24 horas in vitro cuando es mezclado con jugo de carne.

Por todo esto, dice el autor, estoy seguro que no existe peligro para la propagación del virus por la carne de animales que vienen de lugares donde existe fiebre aftosa, aun cuando estos animales fueran accidentalmente faenados en el período de incubación o de erupción de dicha enfermedad.

Como se ve, el profesor Laurens, ha partido de la base en que naturalmente se hace el manipuleo y consumo de la carne, es decir, del músculo propiamente dicho, sin analizar la virulencia de la

sangre en las partes donde ésta no pudiera ser alterada mayormente por la formación del ácido láctico así como tampoco de ciertas partes, como la médula ósea, donde parece no obrar esa circunstancia desfavorable de la vida del virus.

Investigaciones hechas por Schlogel, en los laboratorios nacionales de Reims para estudiar la prevención, resistencia y destrucción del virus aftoso en los músculos de cobayos enfermos.

Schlogel, según la información que se nos ha pasado, usó carne de nueve cobayos infectados con virus de setecientos pasajes en animales de esa especie.

De treinta y tres cobayos infectados no se enfermaron más que seis que lo fueron con carne tomada enseguida, seis y doce horas después de muertos los animales infestados.

La causa de esta esterilización es la formación de ácido láctico durante las 24 horas siguientes a la muerte, y lo prueba, agregando a un suero virulento, una cierta cantidad de ácido láctico. Inoculada esta mezcla, no es patógena.

El autor llega en su trabajo a las siguientes conclusiones:

Que el virus aftoso puede estar presente en la carne de cobayos enfermos.

Que por formación de ácido láctico muere el virus dentro de las 18 horas.

Que desde el punto de vista práctico el virus aftoso no puede ser propagado por la carne de animales enfermos.

Información trasmitida desde Hamburgo por el Consulado General del Uruguay en la que se hace conocer un estudio del profesor Kaller sobre el rol de las carnes en el contagio de la aftosa.

El Consulado de la referencia, en comunicación fechada en Hamburgo en 13 de abril de 1927 dice: Que se ha entrevistado con el veterinario Dr. Kaller, sabio que puede considerarse como el más competente en asuntos de carne congelada, en Alemania, quien entregó un estudio que había hecho referente a la cuestión precitada. Agrega, que dicho veterinario ha elucubrado obras interesantísimas sobre método de congelar y descongelar carnes, como fruto de experimentos hechos en los depósitos frigoríficos de Hamburgo.

Dice el profesor Kaller, en la comunicación referida: ¿Se puede trasmitir la fiebre aftosa por intermedio de las carnes congeladas?

Al indagar este problema, se encuentran tres posibilidades de que la fiebre aftosa pueda ser introducida por intermedio de las carnes congeladas; pero, esas posibilidades pueden existir sólo en teoría. Si también pudiesen haber en la práctica tales casos se tendría que averiguar, considerando el carácter de la enfermedad, el virus y la forma de congelar.

Primera posibilidad: la carne congelada procede de animales infectados de fiebre aftosa. El bacilo, un microbio invisible se encuentra durante la fiebre que inicia la erupción de la enfermedad en la sangre y, por consiguiente, en todo el cuerpo del animal, es decir, también en la carne.

Se pueden infectar animales sanos con la sangre de los que padecen la fiebre aftosa. La fiebre se manifiesta por unos cuantos días con mayor o menor intensidad, luego aparecen las llagas sobre la membrana mucosa de la boca y la piel de las pezuñas. Con estas lesiones, desaparecen los microbios de la sangre y se acumulan en el contenido de las llagas. Por consiguiente, el bacilo se elimina del cuerpo del animal y queda aislado en el contenido de las llagas, las que pronto revientan y se curan. Claro está que se pueden contagiar otros animales con el contenido de las llagas.

Los animales que se sacrifican en los frigoríficos ultramarinos quedan sometidos desde el momento de su llegada a esos establecimientos a una vigilancia severa ejercida por veterinarios oficiales con el fin de eliminar los animales enfermos. Es incomprensible que con esta vigilancia puedan matarse y preparar animales enfermos, cuyos síntomas estén a la vista. En caso de que excepcionalmente se mate un animal enfermo, el reconocimiento veterinario profundo que se realiza en el cuerpo del animal después de carneado, cuida de que no se exporte una res que denuncie en su carne las características alteraciones provocadas por la fiebre aftosa.

Además, hay que considerar que las partes infectadas, a saber: la membrana mucosa de la boca, lengua, garras, etc., se separan siempre del cuerpo y se les da otro destino, pudiéndose considerar la carne misma, como libre del microbio de esa enfermedad.

Existe, pues, la ínfima posibilidad de que un animal, estando en el período de fiebre se le escape a la inspección veterinaria al reconocer el animal en pie y también al examinarse la carne una vez sacrificado aquél, llegando así a ser exportada. Ahora bien, se sabe que el bacilo de la fiebre aftosa no muere, como lo demostraron experimentos a ese respecto, a consecuencia del frío que se aplica al congelarse la carne y después al transportarla y almacenarla de manera que el estado de contagio de la carne continúa manteniéndose en su forma de congelación. Sin embargo, para que la fiebre aftosa se pueda introducir por tal camino, la condición sine qua non tendría que ser que dicha carne infectada llegue a tener contacto,

directo o indirecto, con animales susceptibles como vacunos, ovinos y porcinos y, que este contacto sea tan intenso que pueda resultar un contagio eficaz. Pero, para ello no hay generalmente ocasión alguna durante el tiempo del transporte desde el frigorífico hasta el consumidor; de manera que esta posibilidad no tendrá lugar en la práctica.

Segunda posibilidad: la carne congelada procede de animales que salieron de la enfermedad pero que todavía son portadores del microbio.

Se ha comprobado por numerosas observaciones que los animales que salieron de la fiebre aftosa siguen llevando consigo, unos cuantos meses, la materia infectiva, pudiendo contagiar en ocasiones a otros animales. En estos casos, el microbio se encuentra en llagas existentes debajo de las pezuñas y que aparecen al crecer o cortarse las garras.

Tales animales pasarían por sanos al ser inspeccionados veterinariamente como también su carne. Pero, aquí hay que considerar en estos casos, como se ha comprobado que el microbio se halla sólo en las mencionadas llagas de las pezuñas y éstas se separan del cuerpo al carnearse el animal, mientras que las demás partes de ese mismo cuerpo, hay que considerarlas libres de la materia infectante.

Tercera posibilidad: la carne congelada está contaminada con material infeccioso. Se puede suponer todavía que la materia infecciosa llegue como suciedad sobre la carne de animales sanos o el material. Es notorio que la fiebre aftosa se puede trasmitir por medio de cuerpos vivos o muertos. Pero como esta forma de trasmisión en el caso especial de la carne congelada, tendrá difícilmente lugar en la práctica, pues la inspección rigurosa que se efectúa antes de la matanza evita que animales enfermos sean carneados; además durante esta operación y las que se realizan posteriormente en el manipuleo del producto se practican rigurosas medidas higiénicas que impiden toda contaminación. Fuera de esto, se sabe que el microbio de la fiebre aftosa no resiste el secamiento alrededor de unas diez semanas. Así, pues, se puede suponer con toda seguridad que si hubiera material infeccioso sobre la carne congelada o el material de embalaje, aquel moriría a causa del secamiento antes de llegar al punto de destino.

En virtud de las consideraciones hechas se llega a la conclusión que la trasmisión de la fiebre aftosa por intermedio de las carnes congeladas es casi imposible en la práctica, que toda medida que se tome contra la introducción de la carne congelada, bajo la base de un argumento tal, carece de razón y no se ajusta a la verdad de los hechos.

Además, dice el profesor Kaller, las experiencias que durante

muchos años se han hecho en otros países importadores de carnes congeladas, especialmente en la Gran Bretaña, justifican completamente este punto de vista, nunca se ha comprobado con exactitud un solo caso de la fiebre aftosa que fuera trasmitido por intermedio de la carne congelada. Inglaterra, sobre todo, cuida rigurosamente que no se introduzca la fiebre aftosa en su país, sin embargo, importa cantidades gigantescas de carne congelada, lo que es una prueba indiscutible de que dicha carne puede ser considerada exenta de toda posibilidad de ser vehículo de la fiebre aftosa.

Información trasmitida por la Legación norteamericana, haciendo conocer la respuesta del Secretario de Agricultura estadounidense con respecto a la trasmisión de la aftosa por medio de las carnes.

La Legación norteamericana comunica con fecha 28 de marzo ppdo., que trasmitido al Departamento de Estado de su país, el deseo de nuestras autoridades por el cual se solicitaban informaciones respecto de experiencias que establecieran la posibilidad de trasmisión de la fiebre aftosa por las carnes, se hace saber lo siguiente: "Que el Secretario de Agricultura norteamericano con fecha 3 de febrero último, informa que se ha establecido definitivamente en un número considerable de casos que el contagio de la fiebre aftosa se produjo en los Estados Unidos por medio de los desperdicios de animales. Que cuando la peste de 1914 la fuente de contagio de 22 tropas fué por intermedio del alimento infectado o desperdicios siendo estos últimos el vehículo por el cual se trasmitió la enfermedad en la mayor parte de esos casos. Esa es también la prueba, se agrega, de que el contagio de la enfermedad fué introducido en los Estados Unidos, por medio de la carne congelada".

Los primeros animales, que se encontraron contagiados fueron los cerdos de una granja, en el Estado Michigán que habían sido alimentados con restos de carne que se obtuvieron de una carnicería que se aprovisionaba de una gran proveeduría. Los registros de este proveedor demostraron que habían sido enviados a esa carnicería varios cientos de libras de carne congelada importada de países sudamericanos donde existía la fiebre aftosa; esta enfermedad, apareció primeramente en California, en 1924, en cerdos que habían sido alimentados con desperdicios del Arsenal de Marc Island. Varios buques de ese Arsenal se habían aprovisionado en puertos extranjeros del Oriente. Los desperdicios que tiraban esos buques los comían los cerdos y poco tiempo después manifestaban los síntomas de la enfermedad. Durante la peste en California en los cerdos, por lo menos en tres grandes establecimientos de desperdicios en la parte sur de ese Estado. Se descubrió el virus de la

aftosa en esos desperdicios, los cuales contenían restos de animales muertos durante el período de la enfermedad. El hecho de que la sangre de los animales en el período incubativo de la aftosa sea contagiosa y pueda retener su virulencia durante varios meses, está demostrado por la aparición de la enfermedad de los Estados Unidos en cerdos tratados con suero anticolérico. El suero en este caso había sido obtenido de cerdos que no tenían síntomas aparentes. Fué conservado de cinco décimos de 1 % de ácido carbónico y mantenido en cámaras frigoríficas durante ocho meses.

La legación adjunta además diversos folletos en los que se trata de una manera amplia este importante asunto sobre los cuales no podemos entrar en mayores detalles por impedirlo su extensión y la índole de este trabajo. Además se agrega, como confirmación de la tesis sustentada en Norte América, que en Inglaterra se han hecho publicaciones en Febrero último por las que se informa que el Comité Británico de Investigaciones, al estudiar la vitalidad del virus, había determinado que éste permanece activo en la carne 24 horas, en la sangre 30 a 40 días y en la médula de los huesos 76 días después de carneado el animal.

Sobre esta prueba, que se refiere a la información británica, daremos otros detalles al tratar la comunicación respectiva.

Información trasmitida por el Consulado General del Uruguay en Inglaterra sobre los trabajos realizados al respecto en este país y varias de las conclusiones que establece el Laboratorio del Ministerio Británico en sus interesantísimos folletos: "Premier and Second Report of the Foot ad Mouth Disease Research Committe".

Con fecha 11 de mayo de 1927, el Consulado del Uruguay en Inglaterra comunica, a nuestro requerimiento, el asunto relacionado con la trasmisión de la aftosa, por intermedio de las carnes de frigorífico, que ha sido recién ahora estudiado en este país y que la única publicación que existe es el informe que precedentemente se hace referencia.

De la traducción hecha en una parte de esos folletos, es decir, de la que se relaciona de un modo más directo con el punto que estamos tratando, se desprende lo siguiente:

Dicho trabajo, realizado por las autoridades técnicas del Ministerio de Agricultura inglés, se divide en tres secciones principales: en la primera, la Estación Experimental de Peirbright estudia los diferentes tipos de virus admitiendo en lo que se hace relación con la aftosa, la existencia de dos tipos clasificados por Vallée y Carré; la segunda, se refiere a los experimentos hechos en el laboratorio Ministry's de Veterinaria de New How, en los que se estudia la adaptación y modo de obrar del virus en determinadas cir-

cunstancias, la actividad del mismo en los filtrados, las condiciones favorables para su supervivencia, las variaciones que sufre bajo la tensión de oxígeno, el uso e influencia de los absorbentes, la vitalidad del virus en los cuerpos muertos de cobayos, influencias de las salmueras sobre el virus, vitalidad de éste en los cuerpos enterrados, supervivencia en el cuerpo de los animales de consumo, en la carne fresca, congelada y enfriada, en la médula de los huesos, etc., etc., y, en la tercera, lo que se relaciona con los estudios hechos por el Laboratorio del Instituto de Lister de Medicina Preventiva (Londres), sobre la resistencia del virus frente a diferentes agentes físicos y químicos.

Nosotros, vamos a pasar por alto lo tratado en la primera y en la tercera sección y vamos a detenernos, solamente, en una parte de la segunda, es decir, sobre aquella que guarda una íntima relación en el problema de la contagiosidad de la aftosa por medio de las carnes procedentes de animales atacados de esa enfermedad.

Así, pues, y entre esas numerosas experiencias, destacaremos las que se refieren a la supervivencia del virus en las carnes frescas, congeladas y enfriadas.

Sumario de las observaciones sobre cuerpos de chanchos de Guinea. — "El período de supervivencia del virus en experiencias de esta naturaleza depende, en cierto modo, de la cantidad del virus presente. En casi todos los experimentos sumariados más abajo, la concentración del virus en los tejidos examinados fué indeterminado, pues la labor y los gastos involucrados, lo rendían impracticable.

A la temperatura de dos grados a siete grados C. en cuerpos sangrados, la sangre de los tejidos de alrededor del cuello se encontró que era virulenta después de 21 días y la médula del hueso por período de 21 a 87 días. El tejido muscular era positivo en tres de doce cuerpos, inmediatamente después de la muerte, y en un caso la efectividad se retuvo por espacio de 7 días. El tejido del riñón se encontró que era virulento, en un caso, 54 días después de la muerte.

En cuerpos no sangrados, a temperatura de cámara fría, la sangre permaneció virulenta de 30 a 46 días en tres casos mientras que la médula de los huesos se encontró que era infectiva a varios intervalos hasta los 96 días, y riñones, a períodos distintos que oscilaban de 20 a 53 días. En cuatro de ocho cuerpos no sangrados inmediatamente después de muertos los animales, el tejido muscular era infectivo y en un caso permaneció así por espacio de 31 días. Los detalles dados demuestran que la efectividad del tejido muscular depende, principalmente, sobre la cantidad de sangre retenida en él.

La médula del hueso se encontró que permanecía infectiva por períodos más largos, que en los otros tejidos examinados. Posible-

mente esto se debe al hecho de que, siendo menor la sangría completa, la médula retiene más virus al tiempo de la faena.

Lesiones generalizadas frescas, dejadas en el cuerpo, permanecen virulentas por un largo período, en la cámara fría; por lo menos 102 días en un caso. Lesiones en las pezuñas, sacadas del cuerpo y selladas permanecieron virulentas en el frío, por lo menos 90 días.

A pesar de la putrefacción avanzada, la sangre, retuvo su virulencia a 19-20 grados; por lo menos, siete días, en tres casos y, la médula, por lo menos 8 días, en cuatro casos.

Se ha investigado el efecto producido en el virus, por la acción de diversas mezclas de salmuera, sólidas y liquidas.

El jugo prensado de músculos de chanchos de Guinea, cuando es mezclado con virus y salini es rápidamente destruído a temperaturas de laboratorio.

En cuerpos de chanchos de Guinea, enterrados sin cal viva, la sangre del corazón retuvo su infectividad de 9 a 10 días y la médula del hueso de 10 a 18 días. La sangre de cuerpos enterrados en cal viva, era infectiva, por lo menos de cuatro a siete días en dos casos, por lo menos 25 días en un tercero, mientras que la médula del hueso era infestiva después de diez y de diez y ocho días. En cuatro cuerpos, la médula del hueso permaneció infestiva por más tiempo que en la sangre: solamente en un caso, se encontró lo contrario. La indicación, por lo tanto, es de que el virus permanece por más tiempo vivo en la médula del hueso que en la sangre del corazón.

La supervivencia del virus en cuerpos enterrados, en ningún caso alcanzó al mes, pero, la temperatura invernal, es muy posible que aquélla pudiera ser más prolongada.

Supervivencia del virus en cuerpos muertos, experimentada en animales grandes. — Durante el período de máximas temperaturas, es decir, cuando la sangre se presumía más contagiosa, se sacrificaron varios animales bovinos y porcinos, los que fueron inmediatamente sangrados y preparados por un carnicero.

Se comprobó la existencia del virus, en la sangre de esos animales en el momento de la matanza, luego, se procedió con las carcases, del modo siguiente: las carcases bovinas y porcinas, con sus respectivos pulmones, corazón e hígados, fueron colocados en cámaras frigoríficas a la temperatura usual en el comercio (de 10 a 15 grados F.) y en cámara refrigerante (chilleng) de 28 a 30 grados F. A intervalos diferentes se tomaron pedazos de las carcases, de donde se extrajo material para inocular a bovinos, cerdos y cobayos, alimentándose a la vez, con otros trozos a cerdos de tres meses de edad, a fin de comprobar si el virus era todavía infectivo.

Pruebas con carcases bovinas a temperaturas de congelación.

— Un pedazo de médula extraída de un gran hueso, contagió a un buey, por inoculación después de once días de cámara; otra porción retirada después de 42 días, no contagió; sin embargo, una tercera sacada después de 76 días infectó un buey por inoculación. Unos huesos largos fueron molidos con su respectiva médula y se alimentaron con ellos a dos cerdos, después de once y cuarenta y dos días de cámara, respectivamente, sin que se produjera contagio. (A este respecto se verá más adelante que hay otras experiencias, donde se llega a la conclusión de que en esos casos, la infección sólo puede producirse cuando el alimento que contiene virus lastima la mucosa de la boca, especialmente las encías). Después de 11 días, el jugo extraído de un medio kilogramo de músculo, por inoculación, no contagió a un tercero. Después de 42 días, la sangre del corazón, infectó a un buey.

Pruebas con carcases bovinas a temperaturas de enfriamiento (Chilling). — Un pedazo de médula de un hueso largo, fué infecciosa para un buey, después de 11 y 42 días de cámara, pero no después de 76 días. Se dió a comer a varios cerdos, huesos largos molidos con su contenido de médula, después de los mismos períodos de cámara, sin que se produjera infección. Después de 11 días el jugo extraído de medio kilo de músculo, no infectó a un tercero.

Prueba con carne porcina a temperatura de congelación. — Después de 42 días de cámara, la médula extraída de un hueso largo por inoculación infectó a un cerdo, pero huesos molidos con sus respectivas médulas que se dieron a comer a dos cerdos, no los contagiaron. Después de 43 días el hueso con su respectiva médula era infecciosa para un cerdo por inoculación, y los huesos molidos dados a comer a dos cerdos, los infestaron. Otra porción de médula fué infecciosa a los 76 días. A los 12 días, el jugo exprimido de medio kilogramo de músculo, no infestó a un cerdo, por inoculación y a los 43 días también se comprobó que el tejido del hígado no era infeccioso, al ser inoculado a un cerdo. A los 34 días, la sangre del corazón infectó un cobayo.

Prueba con carcases porcinas a temperaturas de enfriamiento. — La médula de un hueso largo infectó a varios cerdos por inoculación así como por vía bucal mezclada a huesos molidos, después de 12 días y de 42 días de cámara. A los 12 días, el jugo muscular, no infectó un cerdo por inoculación a los 43 días, el tejido del hígado demostró igualmente no ser infeccioso.

Luego siguen las experiencias sobre el tocino salado, en seco y mojado, etc., llegando, sobre el punto concreto que estamos tratando, a la siguiente conclusión: "Como era de esperar, no pudo extraerse el virus de la carne debidamente preparada en razón del considerable desarrollo de la acidez".

La sangre, sin embargo, ya hubiera sido congelada o enfriada,

en las carcases era infecciosa durante 30 o 40 dias y, la médula de los huesos, durante un período más largo; pues en dos casos, alcanzó a 76 dias. La enfermedad, se agrega por último, fué trasmitida fácilmente a cerdos, dándoseles de comer huesos molidos, con médulas, extraídas de carcases congeladas".

Otras comunicaciones ha recibido la Sección Industria Animal sobre el problema en cuestión, pero ellas se limitan a exteriorizar el criterio personal de quienes los emiten basados en los antecedentes conocidos o en deducciones más o menos lógicas, que no aportan mayor contribución al estudio del asunto. Por ello, los omitiremos y entraremos de lleno a la tercera parte de esa exposición, o sea a la que trata de las experiencias que personalmente hemos realizado.

3.º Experiencias realizadas en el Uruguay, por los doctores Miguel C. Rubino y Pedro Seoane, con la colaboración del doctor Edelmiro Chelle, como contribución al estudio del problema que plantea la posible trasmisión de la aftosa por medio de las carnes frigorificadas.

Experiencias personales. — El 11 de febrero ppdo. iniciamos nuestras primeras experiencias, contando con el apoyo de algunos establecimientos industriales que nos permitieron disponer de los animales necesarios para ello y realizar las demás condiciones deseadas, principalmente del punto de vista de las temperaturas de conservación de los sujetos sacrificados.

Es obvio manifestar las enormes dificultades que se presentan para realizar las condiciones óptimas de experiencias, en materia de fiebre aftosa, a fin de obtener resultados regularmente valederos. No hay duda que actualmente se conocen mejor las diversas formas de contagio, lo que hace más fácil tomar disposiciones de aislamientos eficaces, pero ello importa para la realización de experiencias múltiples y en series repetidas, comodidades de alojamientos apropiados y personal suficiente e instruído, que harían elevar el costo de las experiencias a grandes sumas de dinero, como han dispuesto y disponen las comisiones que se han ocupado o se ocupan, en otros países, de asuntos de igual naturaleza.

Nuestras experiencias han sido hechas sin exigir ninguna contribución extraordinaria al Estado y luchando contra todos los inconvenientes que presentan la falta de los más elementales recursos especiales, lo que si no importa un mérito, ni como tal lo mencionamos, es de tenerse en cuenta para valorar el esfuerzo realizado.

Nuestra primera orientación fué, a pesar de algunos ensayos preliminares en cobayos, utilizar como animales de experiencia los naturalmente receptivos, y entre éstos especialmente los bovinos, a fin de que los resultados obtenidos tuvieran el alcance práctico que se deseaban; esto ha contribuído a aumentar las dificultades y a limitar el número de experiencias concluyentes que íbamos bus-

cando, pero los resultados son directamente aplicables, en sus consecuencias, a nuestro comercio actual de carnes.

Como es de presumir, por el tiempo transcurrido, nuestro trabajo no está aún terminado, pues comprende sólo las partes relativas a las carnes frescas y enfriadas, quedando aun mismo sobre éstas, algunos estudios complementarios que realizar; nos limitaremos, pues, en esta primera comunicación, a exponer los resultados obtenidos hasta la fecha, de una manera sucinta, dejando los protocolos y la discusión definitiva de los resultados para la presentación del trabajo completo, estando dispuestos, sin embargo, a documentar nuestras conclusiones o ampliar los datos, toda vez que nos sean solicitados.

Condiciones de las experiencias. — Animales utilizados. — Se utilizaron terneros, de un año aproximadamente de edad, en buen estado fisiológico y de razas diferentes. Además, hay dos experiencias con lotes de 6 cerdos cada una, teniendo éstos alrededor de unos tres meses de edad.

Virus empleados. — Los virus utilizados son de origen bovino. obtenidos de las aftas naturalmente adquiridas; más tarde se utilizaron algunos virus de pasajes por bovinos que sirvieron para las mismas experiencias.

Condiciones y forma de sacrificio de los animales. — Los terneros destinados al sacrificio, eran infectados experimentalmente y sacrificados en momentos de temperaturas altas, algunos sin lesiones aftósicas visibles, otros con lesiones incipientes y los restantes con lesiones en evolución. Se sacrificaron en total 7 terneros y se experimentó sobre 63 animales de la misma especie. El sacrificio se hizo por golpe de maza en la cabeza, tratando de que los cadáveres retuvieran la mayor cantidad de sangre posible, a fin de aumentar la infecciosidad de la carne y la médula ósea. Inmediatamente de sacrificados, fueron faenados y luego colocados en cámaras de enfriamiento. La temperatura usada para la preparación del "chilled beef". En algunos animales se comprobó la infecciosidad en el momento del sacrificio, inyectando a otros terneros sangre desfibrinada obtenida en ese momento; en otros se estuvo a los resultados que se obtuvieren posteriormente con las inoculaciones de productos muscular y médula ósea.

Dosis empleadas. — Este fué uno de los puntos más difíciles de resolver; en efecto, en el momento de iniciar nuestras experiencias, no teníamos ningún dato, ni siquiera aproximado, de las cantidades de músculo y médula ósea con los cuales fuera posible pronunciarnos por la no infecciosidad. Las primeras dosis utilizadas por nosotros, fueron más bien pequeñas, 5 a 10 c.c. del macerado de unos 50 gramos de músculo o de médula ósea. Los constantes resultados negativos, obtenidos en las primeras experiencias, nos hizo

pensar y tomar en consideración además de otros factores, la posibilidad de haber utilizado dosis demasiado chicas. Por esta consideración, posteriormente, utilizamos dosis mucho mayores, con lo cual los resultados fueron distintos, es decir, que para las pruebas con músculo utilizamos el jugo extraído por el prensado de ½ kilo de carne previamente cortada en trozos pequeños y, para las pruebas con médula, el contenido total de un hueso largo emulsionado en agua esterilizada o suero fisiológico estéril, como dosis para un ternero. Las inyecciones fueron siempre subcutáneas, en los puntos de elección.

Con estas dosis se obtuvieron los resultados positivos que se detallarán a continuación:

Esquema de las experiencias. — En general se utilizaron lotes de tres a seis animales para cada experiencia, los que eran estabulados con algunos días de anticipación, haciéndose en ese intervalo el examen de la boca para eliminar los que pudieran presentar indicios de lesiones aftósicas, tomas de temperaturas previas a fin de asegurarse del buen estado fisiológico. De cada lote, una parte era inoculada con el material en examen y otra quedaba como testigo; en esta forma se podían despistar las contaminaciones de otro origen que el de la inoculación. Los resultados se dan como valederos. solamente, cuando los testigos han permanecido indemnes de la enfermedad. La posibilidad de un estado refractario de los testigos o en los inoculados con resultados negativos fué siempre, descartada por inoculaciones posteriores en prueba de receptividad de la enfermedad. En resumen, pues, los resultados que se dan como negativos, corresponden a lotes en que, además inoculados y testigos se han mostrado receptivos a pruebas de cohabitación con enfermos o inoculación virulenta y los resultados que se dan como positivos corresponden a lotes en que los inoculados se han infectado y los testigos no, pero éstos se han mostrado receptivos a inoculaciones virulentas posteriores o prueba de cohabitación con enfermos.

RESULTADOS OBTENIDOS

A) Resistencia del virus de las aftas (lengua y paladar), observación incidental. — Ternero N.º 6, sacrificado el dia 7 de marzo. Conservado en la Cámara fria. El material de raspado de las aftas era muy virulento en esa fecha. El raspado de las mismas aftas y epitelio, el dia 12 de abril, es decir, a los 36 días de cámara no infectó por inoculación sub-cutánea al ternero N.º 17 el que, sin embargo, se mostró muy receptivo a un virus fresco.

B) Resistencia de la virulencia de las carnes. Carnes procedentes del ternero N.º 17, sacrificado al segundo dia de inoculado, con 41 grados 4 de temperatura. Sangre probada virulenta.

(Experiencia 8) Ternero N.º 19, inoculado con 5 c.c. de macerado de 50 gramos de músculo, obtenido el mismo día de su empleo. Resultado negativo.

(Experiencia 10), mayo 11; 90 c.c. de jugo del prensado de un kilo de carne estacionada en cámara fría durante 16 días e inoculada a un ternero, el N.º 23 receptivo a prueba posterior de contralor, fué negativa.

(Experiencia 11), mayo 21: Dos terneros receptivos, los números 24 y 25 inoculados con el jugo del prensado de un kilo de carne (100 c.c.) la cual estuvo estacionada en cámara durante 26 días, fué negativa.

(Experiencia 13), mayo 31: La inoculación de jugo (100 c.c.) del prensado de un kilo de carne, la cual estuvo estacionada en cámara durante 36 días, practicada en dos terneros, los números 30 y 31 receptivos ambos a la prueba posterior de contralor, fué negativa.

(Experiencia realizada con las carnes procedentes de los terneros números 36, 39 y 41) Condición de los terneros referidos.

Ternero N.º 36. — Aftosa por la inoculación experimental, sacrificado a marrón en junio 21 sin sangría a las 68 horas de inoculado, primer momento de temperatura alta (40 grados 4) y varias aftas formadas en la boca y paladar, depositado en cámara fría (0 grado).

Ternero 39. — Aftosa por inoculación experimental, sacrificado a marrón en junio 22 sin sangría a las 96 horas de inoculado, primer momento de temperatura alta (40 grados 1), aftas en formación. Depositado en cámara fría.

Ternero 41. — Aftosa por inyección de jugo muscular del ternero N.º 36, sacrificado el 23 de junio con temperatura de 40 grados 5, sin lesiones de aftosa. Depositado en la cámara fría.

Con la carne de estos animales se realizó la

Experiencia 17. — En junio 29 se inocularon tres terneros, los números 44, 45 y 47 receptivos todos ellos con el jugo del prensado de dos kilos y ½ de carne estacionada de seis a ocho días en cámara fría, dando el siguiente resultado negativo en dos terneros de los inyectados y positivo en uno (el N.º 45). El ternero testigo quedó indemne y fué receptivo a inoculación experimental posterior.

C) Resistencia de la virulencia en la médula ósea.

Experiencia 9. — Practicada en mayo 7 con material del ternero N.º 17 la inoculación del macerado obtenido de la médula total de un hueso largo, estacionado en cámaras frigoríficas durante 12 días, practicada en el ternero N.º 22 da resultado positivo, haciendo aftosa entre las 48 y 72 horas.

Experiencia 12. — Practicada en mayo 23 con material del

ternero N.º 17. La inoculación del macerado obtenido de la médula total de dos huesos largos, con estacionamiento de 28 días de cámara fría, practicada a dos terneros, los números 28 y 29, fué negativa. (Estos dos terneros, conjuntamente con el N.º 27 testigo, fueron receptivos a una inoculación de virus).

Experiencia 14. — Practicada en junio 1.º con material del ternero N.º 17. La inoculación del total del macerado de dos médulas de huesos largos, con 37 días de estacionamiento en cámara fría practicada a dos terneros, los Nos. 34 y 35 dió resultado negativo. (Estos dos terneros conjuntamente con el N.º 33, testigo, fueron receptivos a la inoculación del virus).

Experiencias practicadas con médula ósea de los terneros 36, 39 y 41.

Experiencia 19. — Julio 20. La inoculación a tres terneros de la maceración de médula de tres huesos largos con 27 y 29 días de cámara fría, dió resultado positivo en dos terneros, los números 55 y 57. Los tres testigos quedaron indemnes demostrando más tarde, a una inoculación de virus, que eran receptivos.

Experiencia 20. — Agosto 1.º La inoculación a tres terneros, los números 59, 60 y 62, con la maceración de médula de tres huesos largos estacionados en cámara fría durante 40 y 42 días, dió resultado positivo, haciendo aftosa al segundo y tercer día de inyectados. Los testigos, señalados con los números 58, 61 y 63 quedaron indemnes demostrando más tarde a una inoculación de virus que eran receptivos.

D) Experiencias con cerdos. — Iniciada el 13 de julio. — Un lote de seis lechones de tres meses aproximadamente de edad, dividido en tres grupos de a dos cada uno, fueron los que se utilizaron para la primera experiencia.

El grupo N.º 1 recibió durante tres días como alimentación, además de la común, el contenido de dos huesos largos con sus respectivas médulas, para lo cual se machacó la parte dura y se cortó en trozos pequeños la blanda, mezclando el todo con un poco de afrechillo.

El grupo N.º 2, recibió igualmente, durante tres días, como alimentación, además de la común, un kilo de carne finamente cortada y mezclada con afrechillo. Los huesos y la carne procedían de los terneros números 36, 39 y 41 cuyas condiciones fueron relatadas en la parte B) demostrándose su virulencia.

No obstante las excelentes condiciones en que se realizó esta experiencia el resultado fué negativo, es decir, ninguno de los animales enfermó.

A los 7 días después de iniciada la experiencia, fué aprobada la receptividad de los animales referidos (excepto de uno que se

retiró por fractura de un miembro), obteniéndose por inoculación con virus del mismo origen, resultado positivo.

Esta experiencia fué repetida con otros animales, utilizando médula y carne de sujetos de la misma especie muertos en período eruptivo de la enfermedad con resultado igualmente negativo.

CONCLUSIONES RELATIVAS A LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

1.º El virus de la fiebre aftosa puede conservarse virulento por períodos relativamente largos (que precisaremos en experiencias complementarias) en algunos órganos de los animales sacrificados y conservados en el frío artificial, a temperaturas vecinas de grado 0.

2.º En el tejido muscular la supervivencia es relativamente más breve: sólo en un caso se tuvo resultado positivo, con carne mantenida en cámara durante siete días y preparada, expresamente, sin sangrar el animal de donde procedía. Así, pues, que prácticamente los peligros de infecciosidad, por la carne propiamente dicha no interesa a los efectos del comercio exterior de carnes enfriadas.

3.º En la médula ósea, la supervivencia del virus alcanza un período, por lo menos de 40 días. Se continúan las experiencias, sobre este particular, para llegar a establecer el límite medio de la duración del poder infectante.

4.º Nuestros trabajos corroboran, pues, los resultados obtenidos por otros experimentadores, especialmente los dados a conocer por el Ministerio de Agricultura de Inglaterra.

5.º Dadas nuestras dos experiencias negativas sobre la trasmisión de la aftosa por ingestión de material procedente de animales atacados de esa enfermedad, a dos lotes de cerdos, nos queda aún por determinar de un modo preciso las condiciones en que las reses enfriadas puedan constituir un peligro real para la introducción de la aftosa a los países importadores de nuestras carnes.

Como consecuencia de todo lo expuesto, que nos lleva a aceptar los nuevos conceptos de trasmisibilidad de la aftosa por medio de las carnes y restos de animales, aun cuando los peligros no sean en la práctica tan reales como se afirman, creemos deben dictarse nuevas disposiciones sanitarias que den a los países importadores de nuestras carnes las garantías de ese orden que últimamente han solicitado.

Así, pues, proponemos, hacer un llamado general a las sociedades rurales y a los ganaderos sobre la responsabilidad que implica para el crédito de nuestras carnes y para el comercio de las mismas en el extranjero, la existencia de fiebre aftosa en los ganados que

concurren a la tablada; dictar disposiciones especiales para contralorear y reprimir esa enfermedad en la estancia, en los mercados de ganado de pie y en los establecimientos elaboradores de carne.

Estas disposiciones deberían quedar redactadas en los siguientes términos:

1.º Ningún propietario encargado de establecimiento ganadero, podrá movilizar o autorizar la movilización de animales con aftosa en evolución; en caso de dudas o que haya razones de orden general para indeterminar el estado sanitario de las haciendas, deberá recabar la presencia de un médico veterinario.

2.º Toda tropa que a su llegada a la Tablada o en cualquier otro mercado de ganado en pie presente síntomas de fiebre aftosa será declarada infectada en su totalidad por la inspección veterinaria, respectiva no pudiendo movilizarse del sitio donde se encuentre sin autorización expresa de esa autoridad técnica, la que en cada caso determinará el destino a dársele.

3.º Toda tropa o todo animal, que en la inspección de ganado en pie practicada en los frigoríficos y demás establecimientos elaboradores de carnes destinadas a la exportación, presenten síntomas de fiebre aftosa, serán aislados de inmediato, no pudiendo sacrificarse ningún animal sin autorización expresa de la inspección veterinaria destacada en el establecimiento. Ninguno de los animales pertenecientes a esa tropa, ni los que han estado en contacto con ella, podrán ser destinados a la preparación de carnes frigorificadas. pudiendo sólo ser empleados para la elaboración de conservas, extractos o cualquier otro procedimiento en que medie la esterilización por el calor.

Los que infrinjan estas disposiciones, serán castigados con la pena máxima que determina la ley 13 de abril de 1910 en su artículo 42, sin perjuicio de que la Inspección Nacional de Policía Sanitaria Animal haga recaer sobre los infractores las erogaciones que el fiel cumplimiento de esas medidas exigiera dictadas en salvaguardia de los intereses del país y del comercio exterior de la carne conservada.

LA FIEBRE AFTOSA

Resumen de la Conferencia pronunciada en Melo, bajo los auspicios de la *Sociedad Agropecuaria de Cerro Largo*, el día 25 de Octubre de 1936, en oportunidad de la Exposición Rural, celebrada en esa fecha

Folleto publicado en 1936

La Fiebre Aftosa, tema elegido por la Sociedad Agropecuaria de Cerro Largo, para esta disertación, es un problema trascendental para la ganadería mundial y para la de nuestro país, sólo es de lamentar que por el momento no podamos ofrecer soluciones completas, pero hay un conjunto de nuevas conquistas científicas, las que además de brindarnos nuevas esperanzas de éxito, su aplicación racional nos permite disminuir sensiblemente las pérdidas que produce la enfermedad.

El estudio de la Fiebre Aftosa, ha merecido la preocupación de numerosos países, especialmente los Europeos, encontrándose en primera línea: Alemania, Francia, Inglaterra e Italia; es que los perjuicios causados por esa enfermedad son enormes y más aún en Europa, en que existe una forma maligna que felizmente nosotros no la conocemos en nuestro continente. Es muy probable que esa forma maligna se deba al ambiente creado por la población ganadera en que se desarrolla, pues si se tratara de un virus especial muy probablemente debía existir entre nosotros dado el intercambio ganadero, sobre todo la importación de reproductores.

CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD

Se puede definir la F. Aftosa como una enfermedad infecciosa, contagiosa, es decir, producida por un germen vivo, actualmente invisible, que pasa de un animal a otro, produciendo aftas o llagas en la boca, en las mamas, en las patas y dotada de un gran poder de contagio.

Ataca a varias especies de animales, pero más especialmente a los vacunos, porcinos y lanares, y a veces al hombre. La especie que paga mayor tributo es sin duda alguna la bovina y luego le sigue la porcina. Sin embargo, mismo en nuestro país, a veces, en algunos años se ha difundido mucho en los lanares.

Lo que caracteriza a la F. Aftosa, además de los síntomas que hemos mencionado brevemente, es su gran poder de contagio; basta

a veces la aparición de un solo caso en un rodeo, para que se extienda a la mayoría de los animales, de un tal poder de contagio sólo es comparable a la Grippe humana cuando toma el carácter de una pandemia como la de 1918.

COMO SE DESARROLLA EL CONTAGIO — DISTINTAS MODALIDADES

El contagio de la F. Aftosa, además de su enorme poder y velocidad de difusión ofrece algunas particularidades interesantes. En efecto, muchas veces no se realiza el contagio paso a paso, como ocurre con la peste bovina que también es una enfermedad muy contagiosa, sino que a veces salta de un rodeo a otros rodeos distantes dejando a otros más próximos sin infectarlos. Lo mismo puede ocurrir con los establecimientos, existe por ejemplo F. Aftosa en un establecimiento A, y en lugar de pasar el contagio a otro B lindero, la enfermedad aparece en uno C, traslindero.

Otras veces aparece la infección en forma simultánea en varios establecimientos distantes unos de otros. Realmente la marcha del contagio suele ser desconcertante.

Se puede suponer que la infección pueda ser transportada a distancia por aves; también que animales de distintos rodeos o establecimientos hayan sido infectados en focos comunes simultáneamente; también puede considerarse la posibilidad de transporte por animales salvajes, etc.

Pero si el contagio de la F. Aftosa tiene a veces el carácter invasor que hemos señalado, otras en cambio, mismo actualmente, en algunos establecimientos sigue una marcha perezosa, lenta, diríamos como arrastrándose pesadamente e infectando sólo cierto número de animales —a veces un número reducido. Las distintas formas de manifestarse el contagio, se debe a las distintas condiciones en que se encuentran los animales. Cuando la F. Aftosa se inicia después de algunos años de silencio, la mayoría de los animales son susceptibles de contraer la enfermedad y el contagio adquiere el poder invasor de las grandes epizootias, recorriendo el país de un extremo al otro en poco tiempo.

En cambio, cuando la F. Aftosa ha reinado en los años anteriores próximos muchos animales se mantienen resistentes a la enfermedad, están como se dice inmunizados, como las personas que han tenido Difteria o Tifoidea — otros en cambio están aún sensibles, porque no tuvieron la enfermedad o porque tuvieron enfermedad muy benigna, que les dejó una inmunidad o resistencia pequeña que desapareció muy pronto. La F. Aftosa entonces ataca algunos animales y respeta a otros, que a su vez vuelven a ser atacados en otro avance posterior. Hasta en esto tiene un comportamiento análgo a la Grippe humana. Todos recordarán la Pandemia

de la Grippe que se inició en 1918 y que se extendió al mundo entero con la velocidad de un rayo. Las epidemias posteriores fueron cada vez menos invasoras hasta que perdió el carácter invasor atacando aisladamente a los sujetos.

MATERIAL INFECTANTE — LA FIEBRE AFTOSA ES CONTAGIOSA ANTES DE HACERSE VISIBLE

Hasta hace algunos años se pensó que el material infectante estaba representado solamente por la baja de los animales con Aftosa o llagas y por las membranas de las llagas, que ensuciaban las pasturas y las aguadas. Ese material es realmente infectante, tanto la linfa o líquido de las llagas, como las membranas de las mismas y la saliva. Pero los trabajos de estos últimos años han demostrado un hecho de una importancia extraordinaria — y es que de un modo regular, los animales que se infectan de F. Aftosa, son a su vez muy infectantes antes de que la enfermedad se haga visible, de que aparezcan las llagas en la boca o patas.

Esto se debe a que el virus de la enfermedad circula en la sangre ya cuando el animal hace fiebre y de la sangre pasa a la orina y en las hembras también a la leche.

Recién después de haber hecho fiebre aparecen las llagas, pero el animal ya ha estado infectando a su alrededor a otros animales y las vacas a sus terneros. Se explica así la mortandad de terneros mamones que reciben abundantemente el virus por la leche materna y que a veces se notan enfermos y mismo mueren cuando las madres recién se notan con llagas, a veces mismo antes de ninguna manifestación visible. Estas circunstancias del contagio, que no lo son exclusivas, constituyen una seria dificultad para la lucha contra la enfermedad, porque es difícil hacer aislamiento, dado que el contagio se realiza muy tempranamente.

LOS PORTADORES DE VIRUS — EL ESTALLIDO DE LA F. AFTOSA EN LAS EXPOSICIONES Y FERIAS

Otro hecho de suma importancia en la F. Aftosa, lo constituye la circunstancia que contrariamente a otras enfermedades infecciosas, los animales después de haber pasado la enfermedad quedan a veces por tiempo muy largo, varios meses, portadores del virus, del germen, de la infección y pueden contagiar a otros animales. Está perfectamente demostrado que rodeos de ganados se han infectado por la introducción de animales completamente sanos, pero que han tenido varios meses antes la enfermedad.

Se explica, lo que sucede frecuentemente en nuestras exposiciones, en que los animales no obstante ser solo introducidos previa

inspección veterinaria rigurosa, comprobando que están sanos; en el correr de la misma exposición estalla la F. Aftosa con el asombro de todos. Ocurre que efectivamente los animales han estado sanos, pero que los del establecimiento A, por ejemplo, han tenido la F. Aftosa algunos meses antes y conviven con los animales del establecimiento B, que son receptivos y adquieren la enfermedad; el foco se enciende así, recobra fuerza, virulencia como se dice, y pueden enfermar también nuevamente animales de A. — A veces la corta permanencia de los animales en la exposición no da lugar a la aparición de la F. Aftosa dentro del mismo local y la enfermedad aparece en la estancia o cabaña de destino. De un modo general la aglomeración de ganados de distintas producciones facilita el estallido de lotes de F. Aftosa, cuando la enfermedad es endémica en el país.

POSIBILIDAD DEL CONTAGIO A DISTANCIA

La F. Aftosa ofrece también la particularidad de que el germen que la produce puede conservarse vivo y virulento en algunas partes de los animales enfermos sacrificados, cuando son conservados a baja temperatura, por ejemplo, en las reses conservadas o enfriadas que se envían a Europa.

El hecho fué descubierto en la siguiente forma. En Inglaterra la F. Aftosa ha producido grandes perjuicios y se combate contra ella tenazmente; por procedimientos radicales que cuestan grandes sumas de dinero. No obstante la extinción de las epizootias que aparecen y las medidas tomadas para evitar la entrada de la infección del exterior, lo que aparentemente sería fácil dada la condición de islas del país, suelen aparecer epizootias — y parece alguna vez se habría iniciado en los cerdos.

Se pensó así si las carnes que se importan de Sud América a aquel país procedentes de animales enfermos de Aftosa, podrían constituir un peligro de contagio a pesar del tiempo que exige la travesía del Atlántico. Una Comisión nombrada para el estudio de la F. Aftosa comprobó que el virus se puede conservar vivo en la médula de los huesos hasta 70 o más días.

Dado el interés que tenía esa cuestión para nuestro país, con el Dr. Seoane y la colaboración del Dr. Chelle, realizamos una serie de experiencias y pudimos comprobar los mismos hechos que la Comisión Inglesa. Efectivamente, el germen de la F. Aftosa se conserva en la médula de los huesos más de 40 días, no así en la carne, donde desaparece rápidamente.

Era fundado, pues, el temor de que pueda trasmitirse la F. Aftosa por esa vía, por ejemplo si se dieran a comer a cerdos huesos virulentos crudos; pero según nuestros ensayos esa forma de contagio

no parece realizarse con mucha facilidad, aunque debe considerarse como posible.

De todos modos, dadas las precauciones que toma el mercado inglés contra esa posibilidad, constituye un nuevo motivo para que nos preocupemos de la lucha contra la F. Aftosa.

LA FIEBRE AFTOSA REPITE VARIAS VECES EN EL MISMO RODEO

La F. Aftosa también goza de la particularidad de repetir en un mismo animal varias veces en corto plazo.

Sabido es que la mayoría de las enfermedades infecciosas, cuando un sujeto ha pasado la enfermedad queda inmune o resistente a ella; es el caso por ejemplo de la Difteria, de la F. Tifoidea y muchas otras enfermedades en el hombre y en los animales.

Se pensó antes que la F. Aftosa no dejara tras de sí ninguna inmunidad, ninguna resistencia para una nueva infección. Pero no es así. Está perfectamente probado, que por lo menos la casi totalidad de los animales atacados quedan inmunes o resistentes a una nueva infección; eso si la inmunidad es desigual en los distintos animales, algunos quedan resistentes por varios años, otros solamente por pocos meses y algunos aún por un más breve plazo.

Por otra parte, parece que en algunos casos, la enfermedad en lugar de dejar una mayor resistencia a una nueva infección dejara sensibilizado al organismo, el que se infectará luego con suma facilidad.

Se explica así como a veces la enfermedad ha repetido en los mismos animales hasta cinco veces en un período de un año. Y esos casos curiosos que a veces se observan, de un animal, que casi seguidamente hace varias infecciones de Aftosa.

Existe además otro factor muy importante que no sabemos aún si desempeña algún rol en el Uruguay — se ha comprobado en Europa, primeramente por Vallée y después por Waldmann y otros investigadores — que la F. Aftosa en aquel continente puede ser producida por tres clases de gérmenes o virus distintos que se distinguen con las letras A. O. y C. Estos tres virus producen exactamente la misma enfermedad, pero el animal queda resistente solo para la clase de virus que la ha producido, así por ejemplo; cuando la F. Aftosa es producida en un animal por el virus A., el animal no queda resistente para los O. y C. y lo mismo a la inversa. Es fácil pues concebir, que en un país en que están en juego los tres virus, un animal puede contraer la F. Aftosa tres veces seguidas. Este punto se está estudiando actualmente en el Uruguay.

PERJUICIOS OCASIONADOS POR LA F. AFTOSA. — LA ENFERMEDAD EN EL HOMBRE

La F. Aftosa produce enormes perjuicios en la ganadería mundial; en Francia, en Alemania, en Inglaterra y demás países europeos se pueden calcular en centenares de millares de francos lo que cuesta a cada uno una epizootia de Aftosa.

La F. Aftosa, no es por ejemplo, más grave que el carbunclo, puesto que un animal atacado de esta enfermedad sólo excepcionalmente puede salvar. Sin embargo los daños que produce el Carbunclo son menores que los que provoca la F. Aftosa.

Los grandes perjuicios de la F. Aftosa derivan de su enorme poder de contagio, de que ataca la casi totalidad de los animales de un rodeo, produciendo a veces la muerte de numerosos animales, especialmente de terneros mamones, el aborto de las hembras preñadas, la disminución de la producción de leche en los tambos y serios perjuicios en la salud de los animales, que además de la muerte que provoca, produce de un modo general la pérdida de engorde y taras orgánicas irreparables, tales como los llamados "animales asoleados" característicos por su pelambre largo en verano y por el estado de fatiga en las épocas calurosas. Esta enfermedad es debida a alteraciones en el corazón y en las grandes arterias que salen del mismo.

Debemos igualmente considerar los perjuicios a la salud pública por su contagio al hombre. La F. Aftosa es en efecto contagiosa al hombre, especialmente al niño, — aunque es muy probable que se haya exagerado ese peligro. Hay casos bien comprobados de F. Aftosa en el hombre, demostrada por su inoculación a animales. Pero en muchos se trata de estomatitis de otros orígenes.

El hombre puede adquirirla por su contacto con animales enfermos o por su alimentación con leche cruda de vacas enfermas. Ya hemos hecho resaltar bien la riqueza infecciosa de la leche. El peligro de la leche es mayor en los niños, por el mayor uso como alimento y por su mayor sensibilidad. Debemos hacer constar sin embargo que la leche hervida está exenta de peligro porque los gérmenes de la F. Aftosa son muy sensibles al calor. Tiene a veces mucha importancia la crema y la manteca, porque estos productos se consumen generalmente crudos sobre todo en campaña; pero la crema ácida y la manteca procedentes de las cremas ácidas están libres del virus, que se muestra muy sensible a los ácidos.

MEDIOS DE QUE DISPONEMOS PARA LUCHAR CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. — a) MEDIDAS SANITARIAS

Las mayorías de las enfermedades infecciosas de los animales pueden ser combatidas con éxito por medidas sanitarias, tales que aislamiento de los focos, prohibición de trasladar animales, etc. Mismo la peste bovina, enfermedad muy grave y muy contagiosa puede ser detenida en su avance y extinguida "in situ", con un simple cordel que separe la zona infectada del resto del ganado. Esto ha ocurrido en el estado de São Paulo, Brasil, hace algunos años, de lo cual fuí testigo presencial.

En cuanto a la F. Aftosa, por su gran poder de contagio y sobre todo por sus modalidades tan variadas del mismo, muchas de cuyas condiciones nos son desconocidas, hacen casi imposible el éxito, por lo menos completo, de las medidas sanitarias. Podíamos decir, que la Fiebre Aftosa salta por arriba de las barreras sanitarias que se le oponen.

Sólo en algunos países se ha obtenido éxito con medidas sanitarias contra la F. Aftosa, entre ellos Inglaterra y Estados Unidos de N.A. En esos países se han utilizado procedimientos radicales, tales que el sacrificio de todos los animales enfermos y los que han estado en contacto directo o indirecto con los mismos. Pero en nuestro país y en los demás sudamericanos, y mismo en la mayoría de los europeos, un tal sistema no tendría éxito y ocasionaría gastos insoportables.

Nos queda pues como recurso apelar a los elementos con los cuales podemos solamente aminorar los perjuicios de la enfermedad.

b) DOS PALABRAS SOBRE LOS ESPECIFICOS QUIMICOS SECRETOS — ERRORES COMETIDOS — NECESIDAD DEL METODO COMPARATIVO EN LAS ESTANCIAS.

En nuestro país, como en todos los países en que existe la F. Aftosa, se ofrecen un sinnúmero de específicos contra esa enfermedad, la casi totalidad fórmulas secretas.

Esos específicos han sido preparados a veces con fines deshonestos, puramente comerciales, otros probablemente la mayoría no han respondido a un propósito de engaño, pero han tenido como origen una observación aislada, erróneamente apreciada.

La F. Aftosa, por ser enfermedad muy variable, que a veces evoluciona en forma benigna, se presta muy bien para inducir a error. A estos errores no han sido llevados solamente los preparadores de

los específicos, sino también muchos hacendados que han otorgado certificados de eficacia.

La experimentación en F. Aftosa es muy delicada. Es necesario cada vez que se pretenda ensayar un específico, formar dos lotes de animales, iguales en número y semejantes en las condiciones: edad de los animales, grado de enfermedad, etc.; un lote será tratado y el otro quedará sin tratamiento alguno, como testigo, para comparar los resultados. Para que el ensayo tenga valor. Los lotes deberán comprender un crecido número de animales, por lo menos 20 o más cada lote.

Si los resultados fueran aparentemente favorables, antes de afirmarlos, será conveniente repetirlos dos o más veces. Solo procediendo en esa forma podremos aproximarnos a la verdad. Un ensayo hecho mismo sobre 1.000 o más animales, pero sin testigos, no tiene valor, tales son las dificultades que se presentan en la experimentación con la F. Aftosa.

c) METODOS BIOLOGICOS DE LUCHA. — SUERO DE LOEFFLER. — HEMO-PREVENCION. — HEMO-AFTIZACION.

Desde hace muchos años se comprobó que los animales que han pasado la F. Aftosa, quedan resistentes a la enfermedad y que la inyección a los mismos animales de grandes cantidades de virus, no solamente aumenta la resistencia de ellos, sino que su sangre, o el suero de su sangre adquiere la propiedad de proteger a los animales cuando les es inyectado en cantidad suficiente. Este suero así preparado se conoce con el nombre de suero de Loeffler o de Riems, nombre del sabio alemán el primero y del paraje de Alemania donde se preparó actualmente el segundo. Es de lamentar que la protección conferida por ese suero dure solamente de 10 a 15 días, siendo necesario repetir la inyección, varias veces lo que además de la incomodidad hace muy caro el procedimiento. Sin embargo acá en el Uruguay muchos cabañeros lo han utilizado para defender a sus productos en las Exposiciones.

Hemo-prevención. — Felizmente en estos últimos años se ha comprobado, que la sangre de los animales que se encuentran en el periodo de convalecencia de F. Aftosa, cuando es inyectada a otros animales, en dosis suficiente, posee la misma propiedad que el suero de Loeffler es decir, de protegerlos contra la enfermedad. Para obtener ese resultado es necesario llenar ciertas condiciones: 1.ª La sangre deberá ser extraida entre los 10 y 15 días después de la aparición de las llagas; 2.ª Deberá ser aplicada en la dosis 1 c.c. por cada kilo de peso vivo. Usada en estas condiciones, protege seguramente a los animales durante 10 o 15 dias. Este procedimiento puede pres-

tar grandes servicios para salvar reproductores de mérito y muy especialmente los terneros mamones, que en ciertas épocas están condenados a la muerte en gran porcentaje. Para los terneros, basta inyectarles 100 c.c. Las inyecciones se harán debajo de la piel, ya sea detrás de las paletas o a ambos lados del pescuezo, donde la piel sea floja pudiendo y siendo aún conveniente distribuir la dosis en dos o más puntos cuando la cantidad de sangre a inyectar sea elevada.

La sangre de los animales convalecientes tiene sólo valor preventivo, es decir, que es impotente para detener la evolución de la enfermedad ya iniciada, pero puede influir favorablemente haciendo más benigna sus consecuencias. La inmunidad conferida dura sólo de 10 a 15 días, pero a su amparo, en animales expuestos al contagio puede establecerse una inmunidad más duradera. Las inyecciones podrán ser repetidas una o más veces, cada 10 o 15 días, a fin de asegurar la continuidad de la protección.

Dada la diferencia de unos animales a otros en el poder preventivo de la sangre será siempre conveniente mezclar la de varios animales con lo que se asegurará una mayor regularidad en los resultados. Colocada en lugar fresco y al abrigo de la luz, la sangre conserva sus propiedades por algún tiempo, pero para utilizarla sin peligro, si no se hubieren tomado las mayores precauciones de asepsia, convendrá agregarle para conservarla, ácido fénico que resulte en la sangre en una proporción de 0,5 %.

MODO DE EXTRAER Y ACONDICIONAR LA SANGRE PARA LA HEMO-PREVENCION

La extracción de la sangre se hará de las venas yugulares (del pescuezo) y se procederá en la siguiente forma: Un peón pasará una cuerda o un lazo por la base del pescuezo, y tirará hacia atrás tratando de comprimirlo fuertemente; entonces aparecerán las venas repletas de sangre en forma de un cordón saliente que se dibuja uno a cada lado del pescuezo cerca del borde anterior, en la especie de hendidura o gotera, muy visible en los animales flacos, que se extiende desde la quijada hasta la entrada del pecho o degolladero. Para asegurarse que se trata de la vena, se tantea con los dedos el cordón aparente para ver si es elástico y mientras se hace esto se ordena al peón que afloje momentáneamente la cuerda del pescuezo, si es realmente la vena, la sangre se irá y el cordón desaparecerá. Se ordenará entonces hacer nuevamente la compresión de la base del pescuezo, y sobre la vena, en punto ubicado en el límite aproximado entre los dos tercios inferiores con el tercio superior del pescuezo se cortará el pelo con tijera, se frotará la piel con algodón empapado en alcohol iodado y luego con una aguja de san-

gría de unos 5 a 6 centímetros de largo y de uno y medio a dos milímetros de diámetro (o más), previamente desinfectada en agua hirviendo, se puncionará primero la piel, tomándola con los dedos y haciendo un pliegue; luego de haber atravesado la piel se dirige la aguja en posición de atravesar la vena de un lado a otro y se da un golpe firme, si la aguja ha entrado bastante (los dos tercios por lo menos) y no saliera sangre, se retirará un poco por si la punta hubiera entrado en la pared opuesta de la vena. Una vez hecha la extracción de sangre. Antes de retirar la aguja deberá ordenarse aflojar la cuerda del pescuezo para evitar el derrame de sangre debajo de la piel.

Cuando se deba extraer sangre a varios animales sucesivamente, es necesario disponer de varias agujas, que se mantendrán en agua hirviendo; si esto no se hiciera, es esencial que una aguja usada, antes de volverla a usar para otro animal, sea bien lavada, lo más cómodo con una jeringa de agua hervida. A falta de agujas o trocart se podrá obtener la sangre por una pequeña punción de la vena hecha con un bisturí u otro instrumento que lo substituya teniendo cuidado de cerrar después los labios de la herida con un punto de sotura o un alfiler.

La sangre se recibirá en botellas esterilizadas o en su defecto en pequeñas damajuanas y aún mismo en los tarros estañados de uso para el transporte de leche; se entiende previamente desinfectados por contacto prolongado con agua hirviendo o con una solución de ácido fénico al 5 %. En las botellas o tarros destinados a recibir la sangre, se habrá colocado antes una solución de citrato de sodio al 10 % en agua, razón de 50 c.c. de solución por cada litro de sangre a recibir, agitando el recipiente a medida que se recibe la sangre, a fin de que se mezclen en la solución y no coagule.

Importante. — Por la inyección de sangre se puede trasmitir la "Tristeza" de un animal a otro y por lo tanto en las zonas limpias de garrapata o donde la garrapata no es permanente, es necesario extraer la sangre a animales convalescientes que nunca hayan tenido garrapata, debiendo preferirse los nacidos en el establecimiento, aún cuando los adquiridos, si los hubiere, hubieren sido garantizados de no haber sido nunca garrapateados.

Aftización-hemo-aftización. — Se ha comprobado que la F. Aftosa provocada por contagio artificial en determinadas condiciones, es generalmente más benigna que la enfermedad natural. Este contagio provocado se conoce con el nombre de Aftización. En nuestro país se ha puesto en práctica desde hace muchos años, un procedimiento que consiste, en tomar con un trapo la baba de un animal infectado y frotarlo en los labios de otros animales para provocar la enfermedad. Esto se ha hecho con el fin de infectar todos los ani-

males y hacer pasar rápidamente la enfermedad por el rodeo. Este modo de proceder tiene varios inconvenientes; en primer lugar la baba puede no ser infectante y no provocar por lo tanto la enfermedad; segundo, puede provocar a veces casos severos y graves.

En estos últimos años, se ha aprovechado, de la circunstancia que ya hemos señalado, de que la sangre de los animales enfermos de Fiebre Aftosa cuando tienen fiebre y aún no han aparecido las llagas, es regularmente infecciosa. La inyección debajo de la piel de 1 c.c. de esa sangre a otro animal, trasmite una enfermedad muy benigna, a veces casi inaparente y los animales quedan resistentes a la enfermedad. Este procedimiento se conoce con el nombre de *Hemo-Aftización.*

Para su aplicación se hace necesario, por lo tanto, disponer de un animal que recién inicie la enfermedad, lo que es fácil conseguir cuando la F. Aftosa existe en el propio establecimiento o en un establecimiento próximo, únicos casos por otra parte en que está indicada la Hemo-Aftización. Para elegir el animal adecuado deberán preferirse los animales mansos, vacas lecheras, toros de galpón o terneros mansos, a los cuales se les tomará la temperatura rectal dos veces al día. La sangre se extraerá de aquellos animales que marquen una temperatura de 40°5 o más, prefiriendo aquellos que no tengan llagas aparentes. Siempre será más conveniente, para mayor seguridad extraer sangre de 2 o más animales, se entiende que llenen las condiciones indicadas, y mezclarlas.

La sangre será inyectada debajo de la piel, detrás de las paletas, o en los costados del pescuezo, con las precauciones habituales, es decir, desinfección de la piel con alcohol iodado, y utilizando una jeringa esterilizada por el agua hirviendo, dejándola enfriar bien (no con alcohol ni desinfectantes porque mataría el virus que se desea inyectar). Las dosis serán de ½ c.c. para terneros menores del año y de 1 c.c. para los de más edad.

Modo de extraer y acondicionar la sangre para la hemo-aftización. — La sangre se extraerá de las venas del pescuezo como para la Hemo-prevención, usando exactamente la misma técnica y precauciones, pero se recibirá en frascos de ¼ o ½ litro, prefiriendo con tapa de vidrio esmerilado, conteniendo en lugar de solución de citrato de sodio, ⅕ de su volumen de perlas de vidrio (pequeñas bolillas de vidrio o en su defecto pequeños pedazos de vidrio), bien lavados y esterilizado todo en agua hirviendo no con desinfectantes. Se dejará enfriar el frasco y se recibirá la sangre en él, dejando un pequeño espacio sin llenar, agitando una vez de bien tapado, suavemente durante unos 10 minutos, a fin de separar la fibrina, con lo cual la sangre permanecerá siempre líquida.

Importante. — Como por este procedimiento puede igualmente trasmitirse la "Tristeza", para la elección de animales deberá tenerse presente lo indicado al respecto en nota del mismo carácter en la Hemo-prevención.

VIRUS STANDARDIZADO DEL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES DE LA DIRECCION DE GANADERIA

El procedimiento de Hemo-Aftización que hemos descripto, supone, se sobreentiende, la existencia de F. Aftosa en el establecimiento o en un establecimiento vecino, de donde puede proveerse de sangre virulenta. Teniendo en cuenta esta circunstancia y además la conveniencia de utilizar un virus de propiedades conocidas, que trasmita seguramente la infección y no pueda provocar formas graves por circunstancias ignoradas; el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, a mi cargo, prepara un virus Standardizado para ser usado en las Hemo-Aftizaciones.

Su empleo hecho por nosotros, por los distinguidos técnicos Dres. Humberto Badano y Alfonso Gaggero, Jefes respectivamente de las Inspecciones Veterinarias Regionales de Canelones y Pando, nos permiten esperar resultados satisfactorios.

CIRCUNSTANCIAS EN QUE DEBERAN SER UTILIZADOS LOS DIVERSOS PROCEDIMIENTOS MENCIONADOS

a) Concurrencias a las exposiciones y ferias. — Cuando se desee proteger los reproductores de valor que deban concurrir a las exposiciones y ferias, corresponderá la aplicación del suero de Loeffler o la Hemo-prevención con sangre de animales convalecientes de F. Aftosa.

Las dosis pueden estimarse para el primero en ½ c.c. (o algo menos para los adultos) y para la segunda 1 c.c., por kilogramo de peso vivo. Se deberá tener presente, que la protección conferida dura sólo de 10 a 15 días y que si desea protegerlos por mayor tiempo será necesario repetir las dosis cada 10 días.

Si los animales hubieran tenido Aftosa pocos meses antes no será necesario recurrir a la aplicación de suero o sangre, lo mismo si hubieran sido Aftizados con éxito.

b) Establecimientos donde aún no exista la enfermedad, pero en eminencia de contagio por infección en los linderos. — En estos casos sobre todo en las épocas en que la F. Aftosa tiene carácter epizoótico, se puede considerar como segura la aparición de la enfermedad y corresponderá como más apropiado la Hemo-Aftización, pudiendo para ello procurarse los animales surtidores de virus, en

la misma zona según lo hemos descripto, o solicitar virus standardizado al Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, pedido que deberá ser hecho con la mayor anticipación posible, indicando el número de terneros y de animales mayores a Aftizar.

c) *Establecimientos donde recién haya comenzado la fiebre aftosa.* — En estos establecimientos se podrá también intentar la aftización, sobre todo en los potreros aún libres de enfermedad, pero dado el gran poder de difusión de la enfermedad, podrá ser limitado el número de animales que beneficien de esa operación, y no se deberán imputar a la aftización los casos graves que se produjeren.

Estos establecimientos beneficiarán más de la Hemo-prevención, especialmente para aminorar la pérdida de terneros y para defender algunos reproductores de mérito.

d) *Establecimientos en que la enfermedad ha invadido ya la mayoría o la totalidad de los potreros.* — En estos casos queda absolutamente excluido el uso de la Hemo-Aftización y deberá recurrirse a la Hemo-prevención, con sangre de animales convalecientes, a fin de esforzarse por salvar los terneros, sobre todo los mamones, y reproductores de mérito, aunque los resultados útiles, serán dudosos, dado que en tales circunstancias la casi totalidad de los animales habrán sido víctima de la infección.

"LA FIEBRE AFTOSA". ESTADO ACTUAL DE LOS CONOCIMIENTOS SOBRE SU PROFILAXIS BIOLOGICA

Conferencia leída en el aula Wenceslao Escalante de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires, el día 14 de setiembre de 1939.

Folleto publicado en 1939

Felizmente para la humanidad, un gran número de enfermedades infecciosas del hombre y de los animales han tenido una solución satisfactoria del punto de vista de la profilaxia. A pesar de la angustia que nos provoca la impotencia de la medicina, cuando una enfermedad cruel e incurable golpea a nuestro alrededor y nos arranca para siempre a un ser querido, debemos convenir que los progresos realizados por la medicina tanto en el orden humano como de las enfermedades de los animales que más económicamente nos interesan son enormes.

Esos progresos alcanzados en los últimos tiempos, son los que han permitido sobrevivir a las densas aglomeraciones humanas de las grandes ciudades de nuestros tiempos, defendiéndolas del cólera, de la fiebre amarilla, de la peste, del paludismo, de la fiebre tifoidea, que en otras épocas la diezmaban. Igualmente en el orden veterinario de las pestes animales, del muermo, peri-neumonía, fiebres carbunclosas, etc.

No obstante estos progresos alcanzados por los métodos experimentales puestos en rigor recién en la segunda mitad del siglo pasado, algunas enfermedades parecían escapar al poder de estos métodos. Es que las doctrinas pasteurianas y los métodos instituídos, habían hecho sus armas en un grupo de enfermedades, podríamos decir, con excepción de la rabia, que tenían como causa un agente microbiano visible fácilmente cultivable en los laboratorios.

Quedaba otro grupo de enfermedades que escapaba a esos métodos, y aunque no se dudaba de su naturaleza corpuscular, por lo menos para la mayoría de ellas, sus agentes no eran rec[illegible]ocibles por los procedimientos habituales y se comportaban o parecían comportarse de un modo distinto en cuanto a sus condiciones vitales y reacciones de inmunidad. Dentro de ese grupo que actualmente se distingue con la denominación genérica de *Ultra Virus* se encuentra incluída la fiebre aftosa, cuyo conocimiento ha beneficiado de los progresos alcanzados en estos últimos años en los métodos de estudio de los Ultra Virus.

SOBRE EL CONTAGIO E INMUNIDAD ANTI-AFTOSO

De los puntos de vista del contagio y de la inmunidad, la fiebre aftosa era considerada como la enfermedad paradojal, que se apartaba al parecer de las demás enfermedades de su tipo. En efecto, en cuanto al contagio se le había asignado y con razón siempre, un gran poder de difusión, que no admite comparación con ninguna otra enfermedad, solamente con la gripe humana con la cual tiene alguna semejanza de ese punto de vista.

Además de su poder de difusión la forma aparentemente irregular de realizarse, pues en las pestes animales, también muy contagiosas, el contagio se extiende, podríamos decir, por continuidad, palmo a palmo y puede ser detenido por una simple línea divisoria cuando se evitan eficientemente el traslado de animales y el transporte mecánico de la infección. En cambio en la fiebre aftosa, por una parte, la aparición de un animal enfermo en un rodeo supone la contaminación de todo el rodeo y, por otra, no siempre se realiza el contagio por continuidad sino que a veces salta un potrero, mismo un establecimiento lindero.

Debemos señalar la aparición repentina y simultánea de la enfermedad en localidades distantes unas de otras y a veces de una localidad continental con animales ya embarcados, como si factores de orden meteorológico, como han sido invocados para la gripe, hubieran tenido alguna intervención.

Estos hechos, observados en todos los países, han desconcertado durante muchos años a los investigadores, pero han recibido una parcial explicación por las conquistas realizadas en los últimos años.

En primer lugar, en la fiebre aftosa, al igual que en muchas enfermedades a ultra virus, existe un período septicémico que precede al período eruptivo, hecho comprobado primeramente por Hecker y luego estudiado magistralmente por los investigadores italianos Aguzzi y Cosco.

Ese período septicémico produce, por la difusibilidad del virus aftoso un derrame del mismo por todos los emuntorios y un momento altamente contagífero provocando la extensión del contagio antes que la enfermedad sea visible por sus síntomas exteriores en el propio animal infectado; así se explican las muertes repentinas de los terneros mamones por miocarditis, terneros que habían amamantado en vacas que apenas hacía 24 horas, y aún menos, que se habían notado enfermas. Así se pueden explicar algunas observaciones sobre la aparición simultánea de la enfermedad en lugares relativamente distantes, pero en que un contacto anterior próximo había tenido lugar.

Los portadores de virus. — Conceptos anteriores. — Conceptos actuales. — La enfermedad inaparente (Ch. Nicolle).—*Trabajos de Waldmann, Trautwein y Pyl*

Debe entrar también en consideración en cuanto al comportamiento particular en el contagio, la noción de los "portadores de virus", es decir de sujetos que habiendo pasado la enfermedad, llevan consigo por un largo tiempo el germen de la infección y pueden ser así el punto de partida de un nuevo foco. Este concepto de "portadores de virus" que es admitido sin reservas para muchas enfermedades del hombre y de los animales, lo es también para la fiebre aftosa, y a esos portadores se les ha hecho y justamente, responsables de los estallidos de las epizootias que ocurren frecuentemente en los países como los nuestros, en que reinando la enfermedad en forma enzoótica, se producen con las aglomeraciones de animales de distintos orígenes, tales que en los mercados de ganado, y muy frecuentemente en las exposiciones y ferias, sobre todo en las grandes exposiciones que concentran animales de muy diversos puntos del país.

Pero hasta hace algunos años especialmente en la fiebre aftosa, se tenía un concepto "estático" podríamos decir, de los portadores de virus. Se les concebía como causa de un transporte puramente mecánico del germen sobre el cuerpo del animal. Tal fué la opinión muy difundida del profesor Zschokke, de la Escuela de Zürich, quien hacía residir el virus en restos de lesiones ungueales. Esta noción muy arraigada en Suiza, fué limitada en su alcance práctico por las experiencias de Vallée, de la Comisión Norte Americana y por los investigadores de la Isla de Riems, quienes establecieron que muy rara vez era posible comprobar experimentalmente tales afirmaciones.

Pero en los últimos años, sobre todo después de los trabajos de Ch. Nicolle, quien demostró la existencia de las llamadas "infecciones inaparentes", se desarrolló un nuevo concepto de los portadores de gérmenes, en el sentido activo, es decir de la permanencia en los animales de una verdadera infección, tanto en las enfermedades a bacterias como a virus, en que el sujeto, hombre o animal, continúa siendo el asiento de la multiplicación de los gérmenes que difunde en el medio que lo rodea, sin que ningún trastorno aparente los denuncie.

A ese respecto voy a mencionar sumariamente los trabajos de Waldmann. Trautwein y Pyl (1). Estos investigadores estudiaron la suerte del virus de la fiebre aftosa en animales infectados experimentalmente, después de una o de varias infecciones y mismo en

(1) Die Resistenz des Maul und Klauenseuchenvirus im Körper durchseuchter Tiere und seine Ausscheidung. Zeit. für Bakt. und Inf. Krank. Bd. 121-1931.

animales hiperinmunes. Para poner de relieve la persistencia de cantidades pequeñas de virus en la sangre y en los tejidos, recurrieron a procedimientos de enriquecimiento, cuya técnica especificamos a continuación:

a) "Técnica para el suero". — 100 c.c. de suero son mezclados con 100 c.c. de solución salina fisiológica y luego se le agregan 67 c.c. de acetona.

La acetona produce un precipitado de albúminas que arrastra consigo al virus (en tal concentración la acetona no tendría acción sobre el virus).

b) (Para la orina). — Se le mezcla con carbón activo que absorbe el virus difundido en la masa líquida.

c) (Para los órganos). — Después de retirados asépticamente, son molidos y suspendidos en solución púfer de fosfatos a p.H. 7,6. A los 30 minutos se centrifuga para separar la parte gruesa no dispersada y luego el líquido es tratado por acetona en las mismas proporciones que para los sueros. El precipitado producido que ha arrastrado el virus es separado por centrifugación.

Las verificaciones sobre la presencia de virus en los líquidos y órganos de los animales inyectados se hicieron por inoculaciones en la cara plantar del tarso de cobayos. Las experiencia de infección experimental se hicieron en cobayos y bovinos con los siguientes resultados:

A) "Experiencias en cobayos". — Sobre un lote de 98 cobayos, en 7 se comprobó la persistencia del virus en "suero sanguíneo" en 7 y 24 días después de la infección.

Sobre 569, en 7 se comprobó el virus entre 7 y 94 días.

B) "Experiencias en bovinos".

a) "En el suero sanguíneo".

Sobre 48 animales inmunes, en cuatro se comprobó el virus, máximum 33 días después de la última infección.

Sobre 500 animales, de los cuales 236 con una sola infección y 264 con 2 o más infecciones, en 13 se comprobó el virus, máximo 58 días.

b) "Riñones y orina".

Sobre 44 animales, en la orina de 3 se comprobó el virus, máximo 33 días.

Sobre 8 animales (inmunes a los 3 virus) en 6 se comprobó el virus entre 18 y 246 días.

Es evidente pues que el virus de la fiebre aftosa, en un cierto número de animales, persiste por muchos días en el organismo que ha pasado la infección, llegando esa permanencia hasta más de 200

días, y lo más importante es que ese virus se difunde al exterior por la orina.

He aquí pues la explicación de muchos hechos relacionados con la forma de aparición de los surtos epizoóticos de la fiebre aftosa. Por ejemplo cuando animales portadores de virus son dispersados en varios establecimientos después de una Exposición feria, o liquidaciones de establecimientos rurales, pueden dar lugar a la aparición simultánea de la enfermedad en varios puntos del país, distantes unos de otros.

Debe interpretarse, que al atribuirle a tales portadores de virus un rol en el origen de algunos surtos epizoóticos y aparentes irregularidades del contagio, con ello no se pretende excluir la intervención de otros factores.

DE LA INMUNIDAD ANTI-AFTOSA

Si en lo que respecta al contagio han sido señaladas numerosas particularidades, no menos y aun de mayor trascendencia han sido señaladas para la inmunidad anti-aftosa.

Loeffler fué el primero que introdujo la noción experimental de la inmunidad anti-aftosa, habiendo comprobado, sin embargo, que en algunos casos era débil y efímera. Hecker encontró en sus experiencias, que un 99 % de los animales que habían pasado un primer ataque de la enfermedad quedaban con un estado sólido de resistencia a la reinfección.

No obstante muchos hechos parecían oponerse a los resultados de esas comprobaciones, dejando una profunda duda. Nos referimos, principalmente, a las observaciones hechas por muchos investigadores y profesionales de que la fiebre aftosa repite a breve plazo sobre los mismos animales dando así la sensación de una inmunidad irregular y de corta duración.

Para aclarar este punto, Vallée realizó varias experiencias y llegó a la conclusión de que en la mayoría de los animales que sufren un primer ataque se establece una inmunidad sólida y de una duración para sus experiencias, de 265 a 450 días. Resultaba pues indudable, que en la enfermedad provocada y en las pruebas experimentales de esa inmunidad, la fiebre aftosa se comporta al igual que las demás enfermedades infecciosas, de un modo regular, en cuanto a que deja tras de sí una inmunidad firme y relativamente prolongada. No obstante, esos hechos no podían invalidar en manera alguna las observaciones rigurosamente hechas en el contagio natural, sobre todo en las grandes epizootias, de la repetición de la enfermedad, en plazos reducidos que parecían demostrar lo contrario.

¿Qué factores o elementos distintos podían intervenir en uno

u otro caso, que fueran los responsables de resultados tan paradojales?

Dejando de lado la desigual severidad de una infección experimentalmente provocada, frente al contagio natural, diferencia que no podía ser invocada para todas las experiencias, se hizo entrar en consideración el hecho de que en las pruebas experimentales frecuentemente se utilizaba para la comprobación del estado de inmunidad, el mismo virus que había servido para provocar la enfermedad.

Bajo tales circunstancias y consideraciones Vallée y Carré emitieron en 1921 la feliz hipótesis, para explicar esas discordancias, de la posibilidad de que en las epizootias a repetición intervinieran distintas modalidades del virus aftoso. Fué así que después de varios años de investigaciones con tal fin pudieron comprobar que, efectivamente, había por lo menos dos modalidades del virus aftoso que se comportaban como dos virus distintos frente a la inmunidad, en el sentido de que los animales que habían pasado un ataque de la enfermedad producida por uno de los virus, solamente quedaban resistentes al mismo virus, pero no al otro, y vice-versa. Uno de los virus, de origen francés, del Oise, fué llamado O, y el otro, de origen alemán, virus A. Más tarde los investigadores de la Isla de Riems encontraron un tercer virus que denominaron C.

No obstante, el fundamental descubrimiento de la existencia de por lo menos tres virus, no pudo considerarse como suficiente para aclarar todos los casos de repetición de la enfermedad.

En efecto, por una parte, en muchos casos no fué posible aislar sino un solo virus y otras veces, la frecuencia de las repeticiones en algunos rodeos, tres, cuatro a más veces en breves plazos, tampoco podía ser explicada por la comprobación de dos virus y mismo de los tres virus conocidos.

Estos hechos parecían pues contradecir seriamente las experiencias probatorias de la inmunidad Anti-Aftosa o llevaban a la hipótesis poco aceptable de una gran multiplicidad de virus.

¿Qué causas podrían ser invocadas para explicar hechos tan contradictorios? Terni primero, y luego Ligniéres, emitieron la hipótesis de que los animales que habían pasado un primer ataque de fiebre aftosa, cuando se encontraban expuestos nuevamente al contagio, en determinadas condiciones, podían en lugar de aumentar su estado de inmunidad, ser sensibilizados para nuevas infecciones. Vallée creyó interesante estudiar experimentalmente la posibilidad de esos hechos, llegando a la plena confirmación de aquella hipótesis.

En efecto, una vaca que había pasado una forma severa de la infección por virus O, recibió después en término de unos dos meses, cuatro inoculaciones intravenosas de epitelio virulento de virus O, en total 34 gramos. Después de seis meses fué expuesta al contagio

de un animal enfermo con el mismo virus O, y contrariamente a lo esperado, hizo una recidiva grave de fiebre aftosa.

Una segunda observación, trata de un ternera naturalmente refractaria al virus O, la cual recibe en término de 65 días cuatro inoculaciones virulentas de linfa y epitelio de virus O. Esta ternera, 50 días después de la inoculación es aftizada por vía bucal, con virus O, y hace una fiebre aftosa grave. Muy importantes a ese respecto son también las experiencias de Dietsch E. (Inaugural-Dissertation, Berlín, 1922). Operó sobre 108 animales, llegando a las siguientes conclusiones:

1.º Una inmunidad conferida por una infección mediana puede ser deprimida por una super infección.

2.º Una fuerte infección seguida de una relativamente fuerte infección, así como una débil infección o medianamente fuerte infección cuando son seguidas en corto plazo de una nueva infección, pueden sumarse.

Estos hechos unidos a la persistencia del virus aftoso, en forma activa en los animales, por tiempo prolongado, tienen una extraordinaria importancia, tanto del punto de vista de los fenómenos generales de la inmunidad como de la profilaxis en particular de la fiebre aftosa.

Pero no obstante esos hechos no deben desanimarnos, no deben desalentarnos en la prosecución de los trabajos para la obtención de procedimientos eficaces de vacunación anti-aftosa. Pues a pesar de todas las contingencias señaladas, está probada para una gran mayoría de los animales, la existencia de una inmunidad relativamente sólida, tanto en la enfermedad experimental como en la enfermedad natural. A este respecto interesa señalar que pueden cometerse errores de observación, debido a las distintas maneras de comportarse la fiebre aftosa en el contagio, por lo menos aparentemente, cuando se toman en consideración no el animal como individualidad aislada sino un rodeo de ganado como ocurre en nuestro sistema pastoril. En efecto, cuando la fiebre aftosa entra a un país o a una región de un país después de un silencio de dos o más años, en general todos los animales son sensibles y la enfermedad ataca la casi totalidad del rodeo tomando un carácter epizoótico, recorriendo el país de un extremo al otro. En cambio, después de finalizar el periodo epizoótico, se instala un estado enzoótico de la infección, en que nuevas ondas más breves y lentas vuelven a recorrer los rodeos provocando la enfermedad solamente en una parte de los animales, en aquellos que han perdido más tempranamente la inmunidad; para volver después de algunas semanas o meses a repetir atacando el resto del rodeo, es decir de los animales

no infectados por la onda anterior, siguiendo así varias ondas sucesivas, dando la sensación de recidivas a breves plazos, cuando en realidad se trata de ondas repetidas, en que cada una en un mismo rodeo, toca animales diferentes. Bajo este punto de vista, es decir, del contagio, la fiebre aftosa se parece mucho a la grippe humana. Todos recordamos la Pandemia de 1918 con sus graves secuelas y los empujes endémicos periódicos.

PRIMERAS ETAPAS EN LA LUCHA BIOLOGICA

Haremos una breve reseña sobre los medios conocidos hasta hace algunos años en la lucha contra la fiebre aftosa. Entre ellos debemos mencionar en primer término el llamado Suero de Loeffler, luego la hemo-prevención, las aftizaciones y procedimientos mixtos de sueros y virus.

Todos conocen que las primeras tentativas para la preparación de un suero para prevenir la Fiebre Aftosa, se deben a Loeffler y Frosch en Alemania, en Francia a Vallée y luego en muchos otros países, entre ellos el Brasil y también acá en la Argentina por los Profesores Rosenbusch y Lignières.

El fundamento de la preparación del Suero de Loeffler, reside al igual que para los sueros terapéuticos microbianos, en inyecciones repetidas de virus a un animal de especie sensible, generalmente el bovino. (Para nuestro caso).

Parece probado que las especies poco sensibles, tales como los equinos, no se prestan para obtener un buen suero. El virus es obtenido de la linfa de las aftas, del epitelio de las vesículas y serosidad de animales espontánea o experimentalmente infectados.

La preparación de un suero anti-aftoso siguiendo la técnica de Loeffler, es muy onerosa porque obliga a mantener en estabulación a numerosos animales bovinos y suinos.

Vallée y Márquez Lisboa, cada uno ignorando los trabajos del otro, siguieron un procedimiento más económico que consiste en utilizar como fuente de virus el epitelio de las aftas de los animales infectados espontáneamente.

El suero anti-aftoso ha sido utilizado en numerosos países pero es en Alemania donde ha tenido una mayor aplicación, habiendo constituído la base de la lucha contra la enfermedad, protegiendo a los animales en las exposiciones y cercando los focos por el llamado sistema "En anillo" o sea la "serumización" de todos los animales que circundan al foco.

También acá, en la República Argentina, por obra del profesor Rosenbusch y de la Sociedad Rural, fué utilizado en los años 1919 y 1922, para proteger los animales en las grandes Exposiciones.

¿Qué valor práctico tiene el Suero de Loeffler? Está perfecta-

mente probado que en dosis adecuadas que infelizmente representan cantidades muy apreciables de suero, es capaz de proteger a los animales por un espacio de 10 a 12 dias. Aunque esta inmunidad se puede prolongar por reinyecciones sucesivas, es indudable, que la necesidad de repetir las dosis a tan breves plazos, el volumen de las mismas, varios centenares de centímetros cúbicos, y el precio de costo elevado han limitado y limitan actualmente el uso del suero a lo estrictamente indispensable, es decir, con exclusión de Alemania, a la sola protección de los animales de Exposición y reproductores de valor. Debemos agregar, además, que para que estos sueros ofrezcan las seguridades suficientes de eficacia, es necesario un contralor de la actividad, siendo muy adecuado el método utilizado en la Isla de Riems (Profesor Waldmann), que consiste en la inyección simultánea, por una parte del suero por via subcutánea, y por otra del virus aftoso en el rodete plantar de cobayos. Un buen suero debe evitar, a la dosis de 0,2 a 0,4 c.c. la generalización de la infección. Sin embargo los exámenes practicados por el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganaderia (Montevideo) con sueros de diversos orígenes, inclusive de la Isla de Riems, que han sido puestos a su disposición con fines de contralor, jamás se encontró una muestra que protegiera a menos de 0,4 c.c. y muy excepcionalmente; siendo lo más frecuente dosis próximas en más o en menos al centímetro cúbico.

Después del Suero Loeffler, una gran conquista fué la demostración que en los animales que han pasado la fiebre aftosa, entre los 10 a 15 días subsiguientes a la aparición de las aftas, la sangre y el suero inyectado a otros animales, muestran un poder protector apreciable para defenderlos de la infección. El primero en poner de relieve ese hecho en la fiebre aftosa fué Kitt y luego Perroncito. Iguales propiedades en la sangre y suero, han sido señaladas en muchas enfermedades humanas a virus, tales como el Sarampión, y parece acompañar muy frecuentemente a las "virosis a periodos septicémicos". Es tal la importancia en las enfermedades humanas, que para el Sarampión, en varios paises se han formado centros de aprovisionamiento de los llamados sueros de convalecientes para ser utilizados en la protección de los niños expuestos a una infección en el ambiente familiar u hospitalario.

El uso de la sangre de convalecientes que ha recibido la denominación genérica de *Hemo-prevención*, porque frecuentemente se utiliza la sangre entera-citrada, ha hecho sus grandes pruebas en epizootias europeas, en Francia, Dinamarca, Suiza, Suecia y mismo en Alemania (Baviera).

Sólo exige para ser eficaz obtenerla entre los 10 y 15 dias después de la aparición de las aftas y utilizarlas en dosis suficiente, es decir a dosis doble que el Suero Loeffler cuando se utiliza la

sangre integral o a igual dosis, cuando se utiliza el suero. Como no todos los animales suministran una sangre o suero activos, es recomendable usar la mezcla de sangre o suero, procedente de varios animales.

Cabe señalar igualmente que numerosos investigadores y entre ellos la Comisión Real Inglesa y la Comisión de los Estados Unidos de Norte América, estudiaron comparativamente el valor protector del suero de animales convalecientes y de sueros de animales hiperinmunes entre ellos muestras del de la Isla de Riems, habiendo comprobado en algunas muestras la superioridad del suero de convalecientes.

Debo agregar, que en nuestro país se ha hecho una aplicación bastante intensa de la Hemo-prevención, con resultados enteramente favorables, especialmente en la protección de los terneros y de animales de cabaña, y abrigamos el propósito, en nuestro país, en el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, de organizar un puesto de centralización y aprovisionamiento de sueros.

Otro de los procedimientos biológicos utilizados es la provocación de la enfermedad, podríamos decir por contagio artificial, y está fundado en una noción casi general que la enfermedad experimental, cuando se utilizan dosis medianas de virus y se excluyen las vías más severas de inoculación (diferentes según las enfermedades), provocan una enfermedad más benigna, dejando no obstante tras de sí un estado de inmunidad apreciable.

No es mi propósito estudiar los distintos métodos utilizados y los variados resultados obtenidos en la aftización del ganado. Sólo deseo mencionar en este lugar, que ese método fué acusado de provocar a veces enfermedad grave y siempre de difundir el contagio, opino que en países como los nuestros, en que la fiebre aftosa parece que se ha instalado definitivamente como enfermedad enzoótica, la posibilidad de trasmitir el contagio pierde gran parte de su importancia y que además con virus modificado, es posible provocar una infección muy benigna y poco contagiosa, que puede prestar importantes servicios en la inmunización en los rodeos de invernada. Más adelante nos referimos a los trabajos que en tal sentido realizamos en la Dirección de Ganadería de mi país en colaboración con mi distinguido colega Dr. A. Tortorella.

Mencionaremos ahora los procedimientos combinados de inmunización, es decir, aquellos que bajo la protección de una inmunidad pasiva trasmitida por el suero, se intenta desarrollar una inmunidad activa por inoculación de virus. Con estos procedimientos mixtos se ha deseado, a la par que producir una inmunidad activa útil, evitar que en el animal inyectado aparezcan los signos externos

de la fiebre aftosa y puedan ser el origen del contagio a otros animales.

Correspondió también a Loeffler y Frosch la iniciativa en esta vía de la vacunación anti-aftosa.

El método de Loeffler consistía en una mezcla de suero y linfa y se suministraba bajo la denominación de Seraftina.

Durante algún tiempo pareció tener éxito, pero muy pronto entró en descrédito debido a su comportamiento variable, pues en ciertos casos una predominancia del suero anulaba la acción del virus y en otras el suero parecía mostrarse insuficiente, dado que se desarrollaba todo el cuadro de una fibre aftosa.

Siguieron a estas tentativas, otros trabajos en igual sentido, inyectando el suero y el virus por separado; igualmente bajo la denominación de hemo-vacunación, se usó la sangre de convalecientes en lugar del suero Loeffler, y la sangre virulenta en lugar de la linfa, inyectando en lugares separados del animal, ya sea simultáneamente ya sea primeramente la sangre de convalecientes a las dosis habitual y 24 o más horas después el virus (sangre virulenta). Este método dió un balance favorable siendo recomendable su aplicación en los medios infectados, es decir en los cuales no haya razones para temer las consecuencias de una renovación de la infección.

En el mismo orden de cosas, del uso simultáneo de suero y virus, debemos mencionar los trabajos del Profesor Ligniéres y del Dr. R. Ligniéres, que implican algunas variantes interesantes, sobre los métodos anteriores. En efecto, comprenden el uso de un suero polivalente y de virus aftoso en la siguiente forma: a) un c.c. de suero intradérmico, b) en el mismo lugar, pero subcutáneo, la misma dosis de suero y c) simultáneamente a 4 ctms. del primero 1/10 de c.c. de virus por vía intradérmica.

El fundamento, muy racional, parece ser evitar la anulación inmediata del virus como ocurre cuando se mezcla con el suero, pero asegurando la instalación de un estado de inmunidad pasiva proximal por el suero intradérmico que sin inhibir el desarrollo inicial de la infección, la frenaria dificultando su generalización, a lo cual contribuiría también como segunda barrera el suero subcutáneo igualmente proximal. Los resultados presentados por los mencionados investigadores serían enteramente favorables, aunque siempre queda la duda para aplicaciones en gran escala, si contingencias de distintos órdenes pueden hacer variar los resultados por el desequilibrio de los factores en juego.

UNA NUEVA ETAPA EN LA VACUNACION ANTI-AFTOSA. VACUNAS A VIRUS MUERTOS

Pasteur y sus discípulos habían establecido como principio fundamental en las vacunaciones contra las enfermedades infecciosas, la necesidad de un ataque, aunque fuera ligero del organismo por la infección para provocar un estado de resistencia orgánica. Este principio, suponía pues el uso de vacunas a microbios o virus vivos, aunque atenuados por distintos procedimientos para disminuir su virulencia, su agresividad. Estos principios dominaron toda la época bacteriológica que se desarrolló bajo la influencia de Pasteur.

Más tarde, el sabio inglés Wright, introdujo nuevas nociones en la producción de la inmunidad, ampliando los principios pasteurianos y demostró que era posible por el uso de bacterias muertas, obtener una inmunidad apreciable, útil, aprovechable en la lucha contra las enfermedades infecciosas. Fué sobre esa base que se prepararon vacunas contra las enfermedades tifoideas y las disenterías bacilares, estafilococias, etc.

Pero si fué admitido fácilmente para las enfermedades microbianas no sucedió lo mismo con las enfermedades a gérmenes "filtrables", cuya actividad patógena e inmunizante se vinculaba estrechamente a su estado de vida, a su ataque a los elementos celulares, para los cuales se le reconocía un trofismo particular, muchas veces visiblemente especializado.

Pero los trabajos posteriores demostraron, que aun con esos virus muertos era posible obtener una inmunidad útil contra las enfermedades de las cuales ellos eran responsables, siempre que no fueran desnaturalizados en su estructura antígena y fueran usados en cantidades apreciables.

En la fiebre aftosa, corresponde sin duda alguna al sabio colega francés, profesor Vallée, 1925, y a sus colaboradores Carré y Rinjard, el mérito de haber introducido un método de vacunación a virus muerto. El principio fundamental de este método consiste en utilizar una fuente rica de virus aftoso y luego tratarlo por una solución de formol.

Es muy probable, que esos investigadores se hayan inspirado para la elección del formol, en las comprobaciones de la época, según las cuales el formol es el antiséptico que menos afecta la integridad antigénica de las bacterias y de las toxinas.

En 1928, Vallée, Carré y Rinjard, presentan una comunicación a la Sociedad de Biología de Paris, estableciendo una técnica precisa para la preparación en mayor escala, que consiste en utilizar cobayos infectados experimentalmente. Los cobayos sacrificados, privados de su piel, vísceras, y esqueleto son prensados, obtenién-

dose unos 80 c.c. de jugo (para un cobayo de 400 gramos), el cual es mezclado con 500 c.c. de solución salina y 5 por mil de formalina; después se le hace sufrir la acción de la temperatura a 20 grados en la estufa durante 48 horas.

La vacuna formolada fué ensayada por numerosos investigadores: Comisión Real Inglesa-Waldmann-Kœbe y Pyl, en Rusia por Skomorohoff, Instituto Pasteur d'Alger, Instituto Arloing de Túnez, etc.

Todas las investigaciones de contralor realizadas han probado acabadamente, que una vacuna preparada en las condiciones mencionadas, es capaz de producir una inmunidad sólida que se revela de un modo regular en el cobayo. En cambio los ensayos en bovinos no dieron resultados concordantes. Richard, en Francia obtuvo algunos resultados favorables; igualmente Skomorohoff en Rusia. Según Skomorohoff la aplicación intradérmica de la vacuna formolada sería más eficaz que la subcutánea. Waldmann en Alemania no pudo comprobar los resultados favorables encontrados por otros investigadores.

Las divergencias en los resultados obtenidos en su aplicación a los bovinos, aún por un mismo experimentador, deben atribuirse en primer término a la sensibilidad de los animales de esa especie para el virus aftoso, y las dificultades en la obtención de una vacuna siempre igual, por los factores que intervienen, sobre todo la desigual riqueza en virus, y la variable intensidad en la acción del formol.

No obstante debe convenirse, que la vacuna de Vallée, Carré y Rinjard constituye un señalado progreso en los medios para la lucha biológica contra la Aftosa y especialmente porque queda establecido, de un modo indudable que es posible inmunizar contra esa enfermedad, con virus muerto y además la verificación del uso del formol como antiséptico adecuado.

La prueba evidente de la importancia de los hechos puestos de relieve por Vallée, Carré y Rinjard, es la influencia que ejercieron en las investigaciones posteriores que dieron como resultado la obtención de vacunas más eficaces, de las cuales nos ocuparemos más adelante.

PROGRESOS REALIZADOS EN EL ESTUDIO DE LOS ULTRA VIRUS. SU REPERCUSION EN EL ESTUDIO DEL VIRUS AFTOSO

En estos últimos años se han hecho grandes progresos en el estudio de los Ultra virus, es decir de los virus llamados filtrables, a los cuales pertenece el virus de la fiebre aftosa.

Bechhold, en 1907, introdujo la técnica de la ultrafiltración, a filtros calibrados, es decir, con poros de pasajes graduados em-

pezando por fracciones de micras, hasta 5 micras. Elford, en 1931, introdujo nuevos perfeccionamientos en la preparación de los ultrafiltros, por el uso combinado de la acetona y alcohol amílico sobre una solución alcohol-etérea de colodión; lo que le permitió obtener variando las proporciones relativas de aquellas dos sustancias, ultrafiltros graduados, muy regulares, que se distinguen bajo la denominación de "Gradocol".

Iguales progresos fueron alcanzados en las técnicas de centrifugación. Aunque no se dudaba de la naturaleza corpuscular de los virus, los procedimientos anteriores no permitían obtener por la sola fuerza centrífuga sino una sedimentación imperfecta de las unidades elementales infecciosas. El primer paso dado, fué la fabricación de las llamadas super-centrífugas Sharples, con 35 a 40 mil revoluciones por minuto y actualmente se ha llegado a las velocidades próximas a 100 mil revoluciones.

Estos perfeccionamientos en las técnicas han permitido obtener los ultra virus con un grado de pureza suficiente y además tener una noción aproximada sobre el diámetro de los corpúsculos elementales. Es así que se ha comprobado para el virus de la fiebre aftosa, diámetros de fracciones de micras, entre 8 y 12 m. micras, que los acercan a los diámetros de moléculas de sustancias solubles tales como la hemoglobina.

Para formarse un concepto claro de lo que pueden los perfeccionamientos de las técnicas, basta decir, que en las virosis de las plantas, se ha llegado al extraordinario resultado de los virus cristalizados, es decir que se comportarían como sustancias químicas con los atributos de la vida. Esto sólo ha podido ser obtenido después de haber llegado a la purificación del virus en un grado elevado, eliminando los elementos celulares, las partículas y albúminas del medio vegetal. El primero en llegar a ese resultado fué Stanley con el mosaico del tabaco y luego Bawden y Pirie con el Busky Stunt del tomate.

El conjunto de estos hechos, debían llevar lógicamente a ubicar los ultra virus en un grado de dispersión próximo a las moléculas albuminoideas, a los fermentos, etc. Fué así que los métodos de estudio de las diastasas, tanto en el sentido de las propiedades como en el de la purificación química, fueron aplicados al estudio de los ultra virus. Tales la electroforesis, la absorción, etc.

La electroforesis fué aplicada al virus de la Fiebre Aftosa, primeramente por Olitsky y Boez, 1927 y un estudio muy detenido fué hecho por K. Koebe, 1931, en el Instituto de la Isla de Riems. He aquí las conclusiones a que arribó Koebe: 1.° En las condiciones de PH. óptimos el virus aftoso se transporta al polo positivo. 2.° El poder infeccioso es menor que el inicial. 3.° En la linfa después de 24 a 72 horas de retirada de las vesículas, la electroforesis separa

en el polo negativo, un factor que aumenta de 2 a 40 veces el virus que ha sido acumulado en el polo positivo y de 2 a 16 veces el virus original.

En cuanto a los métodos de absorción y el uso de sustancias absorbentes las estudiaremos por separado a continuación.

LOS METODOS DE LOS FERMENTOS EN LAS VACUNAS. METODOS DE ABSORCION

Los primeros trabajos parten de Roux y Yersin (1892), que obtuvieron la absorción de la toxina diftérica por un precipitado de fosfato tricálcico. El fosfato tricálcico fué el primer absorbente utilizado para el estudio de los fermentos, haciéndolo actuar al estado naciente, por su formación en el propio medio mezclando en proporciones adecuadas, una solución de fosfato alcalino y de cloruro de calcio.

Pero los grandes progresos, que trajeron las conquistas actuales, comenzaron con la aplicación de los absorbentes introducidos en el estudio de los fermentos por los investigadores alemanes Willstaetter y Kraut. Estos investigadores estudiaron el poder absorbente de los hidróxidos de aluminio demostrando que las propiedades de esos hidróxidos, a pesar de una misma composición química pueden depender del método de preparación. Así Willstaetter y Kraut preparan varios hidróxidos de aluminio de la fórmula $Al\ (_0H)^3$, según tres técnicas A, B y C; y de la C, las variedades alfa, beta y gama. El uso de esos preparados permitió realizar grandes progresos en el conocimiento de los fermentos, por la purificación de los mismos, fundada en la absorción electiva y la elución. La vitaminología y otras ramas de la biología y medicina beneficiaron también de esas nuevas técnicas.

Numerosos investigadores aplicaron la técnica de los absorbentes a la preparación de vacunas, primeramente con el fin de purificación de los antígenos tóxicos y luego con el fin de la "activación", es decir de un aumento del poder antigénico en el sentido de mejorar sus cualidades para la provocación de la inmunidad.

Pero del punto de vista que interesa a esta disertación, debemos referirnos en primer término a los trabajos de Schmidt y Hansen (1933) sobre la preparación de una vacuna anti-diftérica a base de toxoide purificado y activado por el hidróxido de aluminio. Igualmente debemos mencionar los trabajos de Sordelli y sus colaboradores Savino y Ferrari, 1935, que siguiendo las mismas vías que Schmidt, preparan una vacuna anti-diftérica que permite obtener una inmunidad eficaz con una sola inyección.

Debemos mencionar, que Ramón, del Instituto Pasteur, había establecido que el agregado de sustancias sólidas, tales que la ta-

pioca y otras, a los antígenos solubles, aumentaban marcadamente el valor del antígeno como generador de la inmunidad. No hay duda ninguna de que los trabajos de Ramón y sus colaboradores, aún concretándonos a los hechos que tienen vinculación con el tema de esta disertación, tuvieron una influencia muy grande sobre los progresos realizados en los procedimientos para la obtención de la inmunidad.

LA APLICACION DE LAS TECNICAS DE ABSORBENTES EN LA PREPARACION DE VACUNAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA

Vallée y Carré (Comunication à l'Académie de Sciences, 1921), demostraron que el virus de la fiebre aftosa era absorbido por los glóbulos rojos y otros elementos corpusculares, tales que bacterias y se intentó su uso con fines de vacunación. Pero los progresos sobre la aplicación al virus aftoso de los métodos modernos sobre absorción comenzaron con el trabajo fundamental de Gottfried Pyl, de la Isla de Riems (1931). Ya algunos investigadores (Poppe y Busch, Toshio-Abe, 1930-1925) habian hecho ensayos de absorción del virus, pero Pyl fué quien hizo por primera vez un estudio sistemático del asunto. El fin que perseguía era un enriquecimiento, una concentración del virus aftoso y de acuerdo con las ideas modernas utilizó tres tipos de absorbentes: el kaolín como electronegativo, el hidróxido de aluminio como electropositivo y el carbón como indiferente. Pyl llegó a las siguientes conclusiones: es posible absorber, el virus aftoso, hasta una concentración mil veces mayor que la inicial, sin que el virus sufra alteraciones apreciables. Dentro de las condiciones de sus experiencias, el carbón se mostró un buen absorbente indiferente a la reacción del medio; el hidróxido de aluminio en zona alcalina y el kaolín en zona neutra. Además fué posible obtener nuevamente el virus por elución del "Absorvat".

Vienen después en importancia los trabajos de Schmidt y sus colaboradores que son el punto de partida más inmediato de los actuales procedimientos de vacunación.

En 1931, Schmidt, demuestra el hecho extraordinariamente interesante, que el cobayo es capaz de soportar impunemente varias dosis mortales de toxinas diftéricas, cuando ésta es previamente mezclada en determinadas proporciones con hidróxido de aluminio según Willstaetter. Como consecuencia de ese hecho, estudia la posibilidad de su aplicación en la vacunación Anti-diftérica (ya citado — Schmidt y Hansen, 1933). Posteriormente en colaboración con Oerskov, habiendo pensado que el mismo método podría ser aplicado a los virus, preparan una vacuna contra la peste aviaria y Schmidt concibe la idea de su aplicación a la fiebre aftosa, propósito que por razones circunstanciales solamente pudo llevar a cabo en 1934 en

colaboración con el Instituto de la Isla Lindholm (H. Schmidt-Jensen, S. Smhmidt y A. Hansen). Estos investigadores llegan a la conclusión, que mezclando el virus aftoso, en determinadas condiciones y proporciones con el hidróxido de aluminio, inoculado a los animales, no trasmitía la fiebre aftosa y en cambio producía una inmunidad apreciable. Se repetían así los mismos hechos observados para la toxina diftérica y para el virus de la Peste de las gallinas.

Sordelli, A. y Lignières, R. sin haber conocido los trabajos de los investigadores daneses, llegaban a las mismas conclusiones y así lo hacen saber en una comunicación a una reunión del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene Argentino (10 de septiembre de 1936).

No obstante esos resultados favorables se presumía que una vacuna así preparada, con virus no modificado en su virulencia, ni en su vitalidad, podría alguna vez, en circunstancias no conocidas, originar la enfermedad. Y efectivamente, los autores daneses, tuvieron la oportunidad de verificar ese accidente, que obligó a postergar el uso de la vacuna a virus vivo.

VACUNA DEL PROFESOR O. WALDMANN, DE LA ISLA DE RIEMS

El Profesor Waldmann, sobre la base de los trabajos de Schmidt y colaboradores consigue realizar nuevos progresos en la preparación de la vacuna antiaftosa evitando su eventual contagiosidad.

Ya hemos mencionado, que Ramón había utilizado el formol, con extraordinario éxito, para la preparación de una vacuna antidiftérica, dado que el formol, en determinadas condiciones, anulaba la toxicidad de la toxina diftérica y dejaba intacto el poder antigénico para producir inmunidad. Igualmente hemos mencionado que Vallée, Carré y Rinjard habían preparado una vacuna anti-aftosa de un poder inmunizante apreciable, a virus muerto sobre la base del uso del formol, y bien, el Profesor Waldmann tuvo la intuición de combinar ambos métodos, es decir, por una parte un virus aftoso, en alta concentración, absorbido por el hidróxido de aluminio según Schmidt y colaboradores; y por otro el método de Vallée, de muerte por el formol. En tal forma parecen haberse realizado las condiciones más favorables para una vacuna contra la fiebre aftosa.

Según una comunicación del Prof. Waldmann al 13.º Congreso Internacional de Medicina Veterinaria (Zurich, 1938) la preparación de la vacuna exige:

1.º Una fuente de virus muy activo y en abundancia.
2.º En grado suficientemente puro para ser absorbido.
3.º Absorción por el hidróxido de aluminio en determinadas proporciones y condiciones.

4.º Acción del formol a una temperatura de 25º durante 48 horas.

5.º Para que sea eficaz, deberá ser inyectada en dosis que encierre una cantidad apreciable de virus así tratado; estimándose para la técnica descripta en 15 a 60 c.c. según edad, por vía subcutánea.

Como fuente de virus, utiliza bovinos experimentalmente infectados en la boca por escarificaciones.

La vacuna es controlada doblemente, en su no infecciosidad y en su poder inmunizante; además un control de esterilidad en cuanto a otros gérmenes.

La inmunidad se instalaría de los 5 a los 14 días de inyectada, quedando inmunizado el total de los animales solamente después de los 14 días. En cuanto a la duración de la resistencia la enfermedad, se ha estimado por los ensayos realizados, en no menos de 4 a 5 meses, aunque hay algunos resultados contradictorios.

He aquí los resultados del Dr. Strodthof, de Breslau:

a) Una experimentación sobre 40.676 animales reveló su inocuidad.

b) Una inmunidad eficaz se genera entre los 12 y 14 días, pero un efecto protector es ya visible entre 5 y 6 días.

c) La inmunidad ha persistido por lo menos dos a tres meses.

Waldmann (l. c.), después de relatar resultados favorables en varias granjas, menciona que sobre doce establecimientos, con 290 animales vacunados, enfermaron 68, 17 de los cuales con generalización y el resto en una forma abortiva.

¿Qué porvenir le está reservado a esta vacuna? Podemos declarar con gran satisfacción, que se han realizado enormes progresos en la vacunación anti-aftosa; pues es posible preparar, según los conocimientos actuales, una vacuna a virus muerto, privada por lo tanto de todo poder contagífero y que trasmite una inmunidad segura de cierta duración. Pero debemos admitir que por el momento, dadas las exigencias de su preparación, en nuestro ambiente, tendrá forzosamente un uso limitado, pues exige para la obtención del virus la infección experimental de bovinos, cada uno de los cuales solamente podrá surtir material, para un número limitado de dosis (de 15 a 25). Por otra parte, una inmunidad limitada a 5 o 6 meses implica para pasar una epizootia la renovación periódica de la inyección; pero no obstante, es evidente que podrá substituir al uso de los sueros con grandes ventajas.

La posibilidad de utilizar como fuente de virus la masa de sangre de los animales en períodos septicémicos, parece descartada, porque la riqueza en albúmina colma el poder absorbente del hidróxido de aluminio, pero queda en pie la esperanza de los cultivos de virus en gran escala.

DEL VALOR DE LOS DISTINTOS MEDIOS CONOCIDOS, EN LA LUCHA BIOLOGICA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. — TRABAJOS DE LA DIRECCION DE GANADERIA DEL URUGUAY, SOBRE AFTIZACION CON VIRUS MODIFICADO

Al mencionar los diversos medios actualmente conocidos, nos hemos referido a las posibilidades de su aplicación y de ello resulta, que disponemos de una serie de recursos útilmente aplicables. El suero de Loeffler u otros procedimientos basados en animales hiperinmunes y la hemo-prevención pueden ser utilizados para prevenir la infección en las Exposiciones Ferias, para defender los animales de cabaña y especialmente los terneros cuando, por el carácter de la epizootia estuvieren expuestos a infecciones mortales.

En cuanto a la hemo-prevención, sobre la base del uso de sangre o suero de animales convalecientes, habrá que considerar la posibilidad y conveniencia de hacer almacenamiento en épocas de epizootias, para ser utilizados como más económicos en lugar del suero de animales hiperinmunes.

Dejando de lado las vacunas preparadas según las técnicas actuales, a las que ya nos hemos referido ampliamente y que les corresponde un lugar de primer orden en la lucha biológica contra la fiebre aftosa, por lo menos en algunos países y en ciertas circunstancias en todos los países, nos referiremos ahora a los métodos de aftización, especialmente a los trabajos que realiza la Dirección de Ganadería del Uruguay, lamentando que el tiempo no permita darle extensión al asunto.

Sobre la base de los procedimientos de aftización que tienen como fundamento el uso de la sangre virulenta procedente de animales en el período septicémico de la infección, hemos iniciado en colaboración con el distinguido colega Dr. A. Tortorella un procedimiento, partiendo de la idea que un virus modificado por pasaje en animales poco sensibles como los cobayos, podría trasmitir una inmunidad útil con muy ligera alteración del estado general de los animales inyectados. Además un virus así preparado podría ser fácilmente controlado en el sentido de su actividad, de su esterilidad en relación con otros gérmenes y descartaría en absoluto la posibilidad de trasmitir otras infecciones y las distintas formas de la Tristeza bovina. Los ensayos realizados hasta la fecha en el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería y las aplicaciones

en rodeos del campo hechas con la colaboración de los colegas Dr. H. Badano primero y luego los Dres. Gaggero, Iraizoz y de León y que comprenden actualmente unos 5.000 animales, son satisfactorios en el doble sentido de la relativa inocuidad y de la provocación de una inmunidad útil. El porcentaje de enfermedad visible por la aplicación del virus es muy reducido, no llegando al 5 %; la mayoría de los animales no presentan ningún signo aparente de la infección, inclusive la temperatura, que se mantiene normal en la mayoría. Por otra parte, no se ha observado la extensión de la infección a los animales conviventes con los inyectados, lo que parecería demostrar su poco poder de contagio por las vías naturales. No obstante debo advertir que el uso de ese virus, que está en período de ensayo, está formalmente supeditado a la preexistencia de Aftosa en algún potrero del mismo establecimiento o inmediaciones, en forma que resulte la casi seguridad de un contagio próximo. Me complazco en dejar constancia que para estos trabajos contamos con el amplio apoyo del Director de Ganadería Dr. Adolfo Baldomir, y el beneplácito de algunas instituciones rurales que han ofrecido su colaboración.

Para terminar, señores, debo expresar mis deseos, que creo serán también los vuestros, de que nuestros países, Argentina y Uruguay, organicen Centros de estudios para la solución práctica de la lucha biológica contra la Fiebre Aftosa, aportando así su contribución a un problema que tanto interesa para la defensa de nuestra principal industria que es la producción animal.

LUCHA BIOLOGICA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA

ENSAYOS DE AFTIZACION CON VIRUS MODIFICADOS

(CON LA COLABORACION DEL DR. ANGEL TORTORELLA)

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería — N.° 2, año 1940

CONSIDERACIONES PRELIMINARES SOBRE EL PROCESO EN LA LUCHA BIOLOGICA CONTRA LA AFTOSA Y SU ESTADO ACTUAL (1).

La Fiebre Aftosa, fué una de las enfermedades contagiosas, que presentó mayores dificultades para su estudio, debido a su gran contagiosidad, lo que no permitía realizar ensayos por el peligro de producir focos de infección, extendiéndose la enfermedad a los ganados de la región y además porque el microbio causal no fué posible cultivarlo, como se cultivan en los laboratorios, los microbios de otras enfermedades. Por otra parte, las experiencias debían ser hechas solamente en los bovinos, lo que encarecía los ensayos, a la par que difundía el contagio.

Los primeros progresos serios se obtuvieron, cuando Alemania instaló en una Isla, la Isla de Riems, un Instituto dedicado especialmente al estudio de la Fiebre Aftosa.

El sabio Löffler, designado para dirigir ese Instituto, preparó por primera vez un suero activo para proteger a los animales contra la Fiebre Aftosa, y que se conoce bajo la denominación de Suero de Löffler o de la Isla de Riems.

Durante muchos años, sólo se disponía de ese recurso, muy utilizado en Alemania y en algunos países de Europa. Acá en el Río de la Plata varios investigadores preparaban sueros análogos y nuestros cabañeros han tenido la oportunidad de usarlos para proteger los reproductores enviados a las Exposiciones.

El Suero de Löffler es eficaz, pero tiene los inconvenientes de que debe ser usado a dosis elevadas, casi un ½ c.c. por cada kilo de peso vivo del animal, además confiere una protección muy limitada, de sólo 10 a 15 días, lo que obliga a repetir la inyección cada diez días y fuera de la incomodidad que resulta de ello, encarece demasiado el tratamiento.

---

(1) Esta introducción responde al deseo de informar sumariamente a las personas que no tienen motivos para conocer el problema de la inmunidad antiaftosa y a justificar el estudio de un método de uso extensivo en el país.

Por esas razones, salvo en Alemania, en los demás países se ha restringido mucho el uso del Suero de Löffler.

Un sensible progreso, por lo menos en el sentido económico, constituyó el descubrimiento hecho por el Profesor Kitt de que la sangre de los animales que han pasado la Fiebre Aftosa natural, posee un fuerte poder protector contra esa enfermedad. Este poder protector está al máximo cuando se extrae la sangre entre los 12 a 15 días que siguen a la aparición de las llagas. Quiere decir esto, que si a un animal que hace 12 a 15 días que ha enfermado de Fiebre Aftosa, le retiramos sangre, la inyección de esta sangre en determinadas cantidades, a otros animales, protegerá a éstos seguramente de la Fiebre Aftosa, por un plazo igual al del Suero de Löffler, es decir de 10 a 15 días. Es pues un Suero Löffler relativamente económico.

Este procedimiento, conocido con la denominación de Hemoprevención, ha sido utilizado con éxito en nuestro país y es muy adecuado para salvar los terneros mamones, que pagan un fuerte tributo a la Fiebre Aftosa y también para proteger a los reproductores de mérito. El Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería facilita las instrucciones detalladas a aquellos que las solicitan. Los inconvenientes son los mismos del Suero Löffler y deberá tenerse muy en cuenta además, la posibilidad de trasmitir por ese procedimiento la Tristeza; es decir que no es aplicable en los rodeos formados con mezcla de animales garrapateados y no garrapateados.

Nos referiremos ahora, a los procedimientos llamados de aftización. Estos consisten en provocar la infección de Aftosa en los rodeos. Hace muchos años, también en nuestro país, que es conocida la práctica, de que cuando aparece un animal enfermo de Fiebre Aftosa, se considera conveniente provocar la infección rápida de todos los animales del rodeo, a fin de que la infección pase lo más pronto posible. En el campo, la práctica habitual, consiste en la "parada de rodeo", con lo cual los animales sanos se entremezclan con los enfermos y la proximidad de los unos con los otros, aumenta las posibilidades del contagio de los sanos. Fuera de este procedimiento existe otro que consiste en empapar en la baba de un animal enfermo, algunos trapos y luego restregar estos en el hocico de los animales sanos. Todos estos procedimientos son en cierto modo primitivos y tienen el inconveniente de provocar a veces una Fiebre Aftosa, de una severidad igual a la de los Animales de los cuales se ha tomado el material.

Actualmente se han hecho progresos sensibles, fundados en el hecho muchas veces observado, de que para muchas enfermedades infecciosas, cuando son provocadas experimentalmente, en determinadas condiciones, se obtiene una enfermedad más benigna, que deja sin embargo una resistencia apreciable frente a nuevas infec-

ciones. Tal es lo que sucede precisamente con la Fiebre Aftosa, cuando se inyecta debajo de la piel de los animales, una pequeña cantidad de sangre, por ejemplo 1 o 2 c.c. procedente de un animal enfermo, en determinado periodo de la enfermedad. Este procedimiento, que supone el uso de sangre virulenta, se conoce con el nombre de *Hemo-aftización*.

Para practicarla, deberá disponerse de animales enfermos, en su primer período de enfermedad, por ejemplo, cuando recién presentan fiebre alta; mismo antes de que aparezcan las llagas. Se entiende que la aplicación de un tal procedimiento, con los recursos de la estancia, ofrece algunos inconvenientes como el de la necesidad de disponer de animales en las condiciones requeridas para obtener el virus o sea la sangre para inyectar al ganado. Pero esto se puede subsanar relativamente, apelando a los animales mansos, bueyes y vacas lecheras, tomándoles diariamente la temperatura y elegir, dos o más de los que presenten fiebre alta, por lo menos superior a 40°. De dos o más de estos animales, se extraerá sangre de las venas del pescuezo, con las precauciones habituales, recibiéndola en frascos de antemano preparados, con perlas de vidrio o trocitos de vidrio, todo esterilizado, para obtener la sangre desfibrinada apta para ser inyectada. Hemos mencionado a grandes rasgos el modo de proceder; pero debemos advertir, que estas operaciones deberán ser realizadas mejor por un técnico, y que además el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, al igual que para la *Hemoprevención* facilita las instrucciones al detalle a los que las solicitaren. Por otra parte, como para la *Hemoprevención*, aunque en la *Hemo-aftización* se emplea una cantidad mucho menor de sangre (de 1 a 5 c.c.), persiste el peligro de trasmitir la Tristeza y por lo tanto deberán tomarse las mismas precauciones.

Es precisamente, para obviar todos los inconvenientes apuntados, que el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, se ha ocupado de resolver el problema, preparando un virus aftoso de virulencia siempre aproximadamente igual y absolutamente libre de los parásitos de la Tristeza e infecciones accidentales.

Posteriormente se han realizado importantes progresos en la lucha contra la Fiebre Aftosa. Hasta hace algunos años, se tenía la casi convicción, que para vacunar contra esa enfermedad era imprescindible utilizar el virus vivo, capaz de desencadenar una infección en los animales; tal como en las aftizaciones que hemos mencionado. Pero los sabios franceses Vallée, Carré y Rinjard, demostraron de un modo concluyente, que usando cantidades apreciables de virus aftoso, y esterilizándolo por el formol, era posible conferir a los animales un grado útil de resistencia contra la Aftosa. El formol goza del privilegio de ser un antiséptico poderoso, que mata fácilmente los virus, pero respeta mucho la sustancia que los compone; de tal ma-

nera que algunos virus y bacterias muertos por el formol, cuando son inyectados a los animales provocan en éstos la aparición de una resistencia bastante elevada contra la enfermedad de la cual proceden.

Pues bien, la vacuna de Vallée y sus colaboradores, constituyó un gran progreso. Fué posible vacunar fácilmente a cobayos y mismo a vacunos, contra la Fiebre Aftosa, sin el peligro de provocar enfermedad alguna. Sin embargo, los resultados de la aplicación en los vacunos no fueron del todo regulares, sino contradictorios y ello contribuyó a que el método no fuera generalizado.

No obstante, un paso considerable había sido dado y como sucede siempre en la ciencia sería aprovechado para nuevos progresos.

Efectivamente, algunos años más tarde, investigadores daneses y alemanes, tomando como base esos trabajos, prepararon una nueva vacuna, cuyos resultados más favorables se han hecho públicos en estos últimos años. Estos sabios, Schmidt de Dinamarca y Waldmann de Alemania y colaboradores, repitieron primeramente las experiencias de los sabios franceses y obtuvieron resultados concordantes en los ensayos hechos en animales de laboratorio, en los cobayos; pero los ensayos en vacunos fueron poco alentadores, en el sentido de que no se obtuvo de un modo regular una resistencia contra la Fiebre Aftosa.

Entonces, primeramente Schmidt y luego Waldmann, tuvieron la idea de aprovechar para la preparación de la vacuna contra la Fiebre Aftosa, algunos progresos realizados en vacunas para enfermedades humanas, especialmente contra la Difteria. Se había descubierto, que agregando a las vacunas ciertas sustancias, algunas comunes como la tapioca y otras más activas como los óxidos de aluminio, cuando tales vacunas eran inyectadas a los animales o al mismo hombre, despertaban una resistencia contra las enfermedades mucho mayor que las vacunas simples; que las vacunas a las cuales no se habían hecho esos agregados. Muy pronto comprobaron que las cosas pasaban del mismo modo con la Fiebre Aftosa. Es decir que las vacunas al formol según Vallée y sus colaboradores eran muy mejoradas en sus cualidades de producir inmunidad, cuando se les hacía el agregado de tales substancias.

Sobre estas bases los investigadores daneses y alemanes, pudieron preparar una vacuna muy mejorada, que consiste principalmente en fuertes cantidades de virus aftoso muerto por el formol y el agregado de una substancia química llamada hidróxido de aluminio.

En cuanto a los resultados obtenidos con esas vacunas contra la Fiebre Aftosa, se pueden resumir como sigue: Producen una inmunidad bastante apreciable, que dura aproximadamente unos 4 o 5 meses. No ofrecen peligro del punto de vista de enfermar de Fiebre Aftosa a los animales inyectados y se elimina así el peligro de

que por su aplicación en el campo puedan dar lugar a la aparición y contagio de la enfermedad a otros animales.

No cabe duda pues, que esos resultados constituyen un progreso muy sensible sobre los medios de que se disponía anteriormente. En efecto, con el Suero de Löffler o con la sangre de animales convalecientes, la inmunidad conferida es sólo de 10 a 15 días y se hace necesario para una relativa seguridad, inyectar a los animales con tales preparados cada diez días. En cambio con la nueva vacuna, las inyecciones podrán ser repetidas, cada 4, 5 o 6 meses.

Pero debemos manifestar, que en nuestro medio no resuelve el problema general. Pues para obtener el virus, a fin de preparar la vacuna se hace necesario infectar experimentalmente muchos animales vacunos, y un animal vacuno suministra virus para preparar vacuna anti-aftosa, solamente para 15 a 25 animales, según las edades. Es de imaginarse el número de bovinos de que será necesario disponer para preparar vacuna para 1000 animales y pensemos para 10.000, etc., agregando que para mantener a los animales vacunados libres de la infección aftósica, habrá que revacunarlos cada 4 o 5 meses. Por otra parte las cantidades que se inyectan cada vez, son de 25 a 60 c.c., lo que representa para 1000 animales grandes unos 60 litros de vacuna.

Estos inconvenientes que he mencionado, deberán ser tomados simplemente como datos ilustrativos, a fin de que por la información de la prensa, no se fuere llevado a pensar de que la lucha contra la Fiebre Aftosa está completamente resuelta: pero no deberá interpretarse en el sentido de que esos descubrimientos carecen de valor práctico, por cuanto constituyen progresos muy apreciables, y que aparte del interés científico que ellos suponen, porque serán la base de otros progresos, actualmente sustituirá con ventajas al Suero Löffler y podrá salvar los inconvenientes para la concurrencia con reproductores a las exposiciones y defender a los rodeos de cabaña en epizootias, sobre todo cuando ellas revistan carácter de gravedad.

FUNDAMENTOS DE NUESTROS ENSAYOS

Según acabamos de exponer, no obstante los grandes progresos alcanzados en la lucha biológica contra la Fiebre Aftosa, ninguno de los procedimientos actualmente en uso en el extranjero puede ser aplicado en nuestro país con un grado de extensión suficiente como para proteger nuestros tambos de campaña, ni de la cuenca lechera de Montevideo, ni los rodeos de invernada, etc. El suero por su costo y por la brevedad de la protección, que prácticamente queda reducida a 10 días, las vacunas danesas y de Waldmann, porque su preparación en cierta cantidad exige instalaciones especiales, personal técnico numeroso y resultará de costo elevado. Esto no significa que

debamos desprendernos de la idea de su preparación entre nosotros; sino que por el momento no podemos contar con sus beneficios, y además que siempre, por las circunstancias apuntadas, su uso quedará limitado a cierto radio de acción.

Era lógico pues, que quedara en pie la necesidad de un procedimiento más general, para ser aplicado en forma algo extensiva, con poco riesgo, con poco costo y un grado suficiente de seguridad en la eficacia.

Nos hemos referido ya a los procedimientos de aftización o sea a la provocación experimental de la Fiebre Aftosa, basados en que, en determinadas condiciones se puede producir una enfermedad más benigna que la enfermedad natural o espontánea, pero que va acompañada igualmente de la aparición de un grado apreciable de inmunidad, suficiente para defender a los animales de un nuevo contagio.

El procedimiento más generalizado es el que tiene como base el uso de sangre virulenta, razón por la cual se le conoce con el nombre de *Hemo-Aftización*. — La hemo-aftización, como lo hemos explicado anteriormente se puede practicar con cualquier sangre virulenta, para lo cual basta extraer sangre en condiciones adecuadas de un animal que está en su comienzo de Fiebre Aftosa, pero con fiebre alta, e inyectar una pequeña cantidad de esa sangre, por ejemplo 1 c.c. debajo de la piel de otros animales. Pero en tales condiciones pueden presentarse varios inconvenientes:

1.º — El grado de virulencia de la sangre será desconocido para el operante, ya podrá resultar de una virulencia muy elevada y provocar reacciones muy severas en animales muy sensibles, o no poseer prácticamente virulencia alguna y no provocar por lo tanto un resultado inmunizante apreciable.

2.º — Cuando se inyecta sangre a otros animales se puede provocar formas graves de Tristeza, piroplasmosis o anaplasmosis, produciendo mismo la muerte de muchos de los animales inyectados. — Es de imaginar las precauciones que es necesario tomar en la práctica para evitar esos perjuicios y lo difícil que será a veces tener la seguridad absoluta, que el animal elegido para extraer la sangre no ha sido garrapateado alguna vez o aclimatado por inyecciones de sangre de otros animales garrapateados.

3.º — En momento oportuno para la aftización, por estar próxima la infección, puede no disponerse de un animal enfermo de aftosa, en condiciones para extraer sangre apropiada.

4.º — Aún presentándose de un modo óptimo todas las condiciones necesarias, la sangre extraída de un animal con enfermedad natural, tiene un grado de virulencia, que en animales muy sensibles podrá provocar reacciones severas de Fiebre Aftosa.

Por tales razones pensamos que podría ser de algún interés, que la Dirección de Ganadería, pudiera proporcionar, en condiciones económicas para los ganaderos, un virus de fuerza conocida, seguramente libre de los parásitos de la Tristeza y de los gérmenes de otras infecciones que accidentalmente pueden encontrarse en los animales, en suma de un virus controlado de los puntos de vista que interesa, es decir, de cierta seguridad en la eficacia y de ausencia de los peligros anteriormente apuntados.

Por otra parte, se planteaba, el problema de que el uso de un virus natural, es decir retirado de animales vacunos enfermos de Fiebre Aftosa podría ofrecer dos inconvenientes. Uno de ellos, el más importante, que los animales inyectados, aftizados con ese virus, podrían originar una epizootia de Fiebre Aftosa, en el propio establecimiento y extenderse a los linderos. Otro, que en animales muy sensibles, tales que en terneros, animales de cabaña y vacas lecheras que no hubieran pasado nunca la enfermedad natural, provocara infecciones severas.

Fué así que surgió la idea, de recurrir a un virus modificado por pasajes en un animal de laboratorio, el cobayo. Era un hecho bien conocido, que el cobayo o conejillo de la India, puede ser infectado experimentalmente por el virus de la Fiebre Aftosa y que después de numerosos pasajes por ese pequeño animal, el virus se modifica perdiendo virulencia para los animales vacunos. Numerosas experiencias hechas con mi estimado colega, el Dr. A. Tortorella, en el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, nos permitieron comprobar que un virus de Fiebre Aftosa que había sufrido numerosos pasajes y de un modo exclusivo por cobayos, se presentaba con una virulencia muy baja para los animales vacunos, provocando reacciones muy suaves y los animales inyectados con ese virus no habían originado la infección por lo menos aparente de otros animales que estaban en convivencia con ellos.

— II —

PLAN DE LOS ENSAYOS — METODOS EMPLEADOS

a) Condiciones de los establecimientos en que se aplicaron las aftizaciones.

No obstante haber adquirido, por algunas experiencias preliminares, un cierto grado de seguridad en cuanto a la inocuidad del virus, en el doble sentido de no provocar formas severas de Fiebre Aftosa y no extenderse el contagio, por lo menos en forma aparente a otros animales en convivencia, nos colocamos para nuestros ensayos en campaña en condiciones de rigor, en el sentido de que no pudiera ser atribuido al virus empleado, el llevar la infección donde no existía aún.

Por tales razones, se estableció para el empleo de virus, que mediara la circunstancia de "inminencia del contagio", es decir, que hubiera Fiebre Aftosa en algún potrero del mismo establecimiento o por lo menos en un establecimiento lindero.

Estas condiciones fueron cumplidas de un modo absoluto para la primera serie de ensayos y primera parte de la segunda serie. En las aplicaciones últimamente realizadas, dada la experiencia adquirida, se fué menos exigente, bastando para algunos establecimientos que hubiera Fiebre Aftosa en la región.

Es indudable que esa conducta de extremada prudencia que fué necesario adoptar, tuvo en algunos establecimientos, inconvenientes importantes, del punto de vista de la apreciación de los resultados. Pues la coexistencia de Fiebre Aftosa como es lógico suponer, no permitiría deslindar, para los casos que se hicieran aparentes en los días sucesivos a la aplicación del "virus de aftización", los imputables a este virus y los imputables al contagio natural; habiendo ocurrido alguna vez, que la aglomeración de los animales, el contacto de los no infectados con los infectados, motivados por los movimientos habituales, necesarios para la aplicación del virus, aceleró el contagio natural, revelado por la producción de casos de enfermedad con las formas clínicas habituales, habiendo despertado la sospecha, de ser producidos por la aftización.

Estas condiciones en descargo del "virus de aftización", aplicado en las circunstancias apuntadas, tienen su fundamento como lo veremos más adelante, en que toda vez en que el virus fué aplicado en rodeos libres de infección jamás se desarrolló una F. aftosa con los caracteres clínicos de la infección natural aún benigna.

b) El "virus de aftización". — Su control.

Como ya lo hemos señalado, el virus del Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, es un virus con numerosos pasajes, exclusivamente por animales de laboratorio y que en las numerosas experiencias realizadas se ha mostrado con una virulencia muy baja para los bovinos y ovinos, a tal punto que en las dosis y por las vías habituales, la infección pasa, para la mayoría de los animales, desapercibida.

Para los ensayos en el campo, en alguna escala, se planteó el problema de obtener virus en cantidad apreciable y en forma económica. El cobayo tuvo que ser desechado por su escaso rendimiento y se recurrió a especies mayores, a los ovinos, buscando las máximas garantías de que el virus sangre estuviera libre de los parásitos de la Tristeza.

Al adoptar esta especie, hubo que considerar varias cuestiones:

1.º — Que siendo el virus poco patógeno, había que adoptar

una técnica de inoculación que asegurara una multiplicación abundante del virus en el cuerpo del animal, y en un tiempo determinado.

2.º — Que no retrogradará en su virulencia desviada, evitando una nueva modificación en el "sentido ovino", es decir un aumento de virulencia específico.

3.º — Que las inyecciones repetidas a otras especies, no fueran el origen de fenómenos de anafilaxia, no obstante la proximidad biológica de las dos especies.

Resueltos estos puntos satisfactoriamente, se dió comienzo a los ensayos en escala, adoptándose los siguientes controles para cada serie:

a) Control de virulencia, debiendo mostrarse virulento para el cobayo en determinada dosis mínima.

b) Control de esterilidad, en medios aerobios y anaerobios, para descartar toda infección extraña de origen animal o accidental.

En resumen pues, se trata de un virus aftoso, modificado, controlado de los puntos de vista de su virulencia y de su esterilidad en cuanto a otros gérmenes.

c) Técnica seguida en las aftizaciones.

Los primeros ensayos se hicieron con la aplicación de una dosis única, de 1 c.c. por vía subcutánea, y algunas veces de 2 c.c.

Posteriormente, vista la baja virulencia del virus, con muy poca repercusión sobre el estado general de los animales, se concibió un plan de inyecciones múltiples fundado en el principio general, establecido en inmunologia, de los resultados favorables obtenidos por la repetición del estímulo antigénico.

Actualmente el tratamiento completo en ensayo comprende, una serie de tres inyecciones, por vía subcutánea, en la siguiente forma:

Una primera inyección, de ½ c.c. para los animales menores de un año y 1 c.c. para los mayores de esa edad.

Una segunda inyección, con intervalo de 15 a 20 días de la primera de 1 y 2 c.c. respectivamente, y

Una tercera con intervalo de 20 a 30 días de la segunda, de 2 y 3 c.c. respectivamente.

Además, teniendo en cuenta por una parte, que la inmunidad anti-aftosa es sumamente irregular en cuanto a su duración y por otra la baja virulencia del "virus de aftización" empleado, se recomienda una "inyección de rappel", cada cuatro a seis meses.

Ahora expondremos a continuación los ensayos y observaciones realizadas.

PRIMERA SERIE DE OBSERVACIONES

A cargo de los Dres. H. Badano y Luis E. Iraizoz

En esta primera serie el tratamiento se redujo a una sola inyección de virus de aftización.

1. — Establecimiento del Sr. Manuel Baeza Ocampo. — En Agosto de 1936, tambo sito en las proximidades de la Ciudad de Canelones, primera Sección.

La infección apareció en el ganado en producción, unas 300 vacas, carácter de la enfermedad: grave, atacó a la boca, pezuñas y sobre todo a la ubre; este establecimiento que envía más de 70 tarros de leche, después de aparecer la aftosa, hubo días que no se pudo enviar ni un solo tarro. Fué precisamente a raíz de denunciársenos la enfermedad en este ganado (y hacernos algunas consultas) que recordamos al Encargado, que la aftización era conveniente, etc.

En resumen, se aftizaron unos 200 animales vacunos siendo 29 menores de un año, el trabajo se hizo en dos lotes: uno, el menor, (unos 80 animales) el plantel infectado de varios días (de este lote se apartaron unos 12 o 15 animales con aftosa en plena evolución) en los días siguientes, continuaron apareciendo algunos animales con aftosa en algunos casos en forma bastante severa, sin ser alarmante, se cortó pronto, y la mayor parte de los animales inyectados aparentemente "no enfermaron de aftosa".

Segundo lote: el mayor, estaba en unos potreros camino por medio del ganado del tambo, el día de inyectar el virus no pudimos observar ningún animal infectado ni sospechoso de aftosa, (fué encerrado en los mismos corrales y tubo por donde pasó el lote infectado, momentos antes) recién el día 8, después de varias observaciones de visu, se notaron 2 terneros con salivación y ligeramente tristes, pero sin dejar de comer, esta indisposición fué pasajera sin atrasar mayormente el estado de los animales, en un vacuno adulto pareció bosquejarse un pequeño malestar (con salivación liviana), sin mayores consecuencias, el resto del lote absolutamente sin novedad, sin dejar de comer ni un sólo día.

2. — Tambo del Sr. Mario Albistur. — Ubicado en Paraje, Estación Joanicó, primera Sección del Dpto. de Canelones. Animales inyectados: 38 vacas en producción, un toro y 16 terneros. Hacía días habia aftosa en un tambo cercano, camino por medio de éste, tenía el potrero de vacas secas con "llagas". Posteriormente enfermaron casi todas las demás de este potrero. El ganado en producción estaba en potrero vía férrea por medio del de las secas, y aquel era recorrido diariamente a caballo o a pié por peones del tambo.

A los tres o cuatro días de aftizar, un peón introdujo una de las vacas que estaban en el potrero de las secas, con aftosa a loca-

lizaciones múltiples, en el galpón de ordeñe, atándola junto con las aftizadas. Dicho animal había dado cría sin expulsar la placenta.

De los animales inyectados, una vaca tuvo poca merma láctea, inapetencia y renguera, durante 3 o 4 días, otras presentaron poca fiebre y algunas de ellas aftas del tamaño de un maíz y garbanzo en la boca y de una lenteja en los pezones, sin mayor reacción al ordeñe ni merma que en el total del ganado alcanzó a unos 12 litros diarios, uno o dos días, (debe tomarse en cuenta que era invierno y había mal tiempo, garúas, etc.).

El interesado quedó muy conforme, sobre todo al comparar con el ganado seco.

3. — Tambo del Sr. Bruno Torino. — Situado en Aguas Corrientes, 3.ª Sección.

Hemoafticé en dos potreros, en uno, un toro, 6 bueyes, 40 vacas en lactación y 18 terneros; y, en el otro potrero: 28 vacas secas y vaquillonas.

No hubo novedad alguna; no se notó inapetencia, estado febril, lesión de ninguna clase, ptialismo, no hubo merma de leche. Había aftosa severa en tambos cercanos. El ganado inyectado no enfermó.

4. — Tambo del Sr. Joaquín Trecu. — Situado en Paso de Picón, 2.ª Sección.

El día 8 denunció aftosa en una vaquillona traída de afuera hacía unos días, manifestando que si se podía y lo creía conveniente el suscrito, deseaba se le aftizara el ganado. Pedido el virus el mismo día y enviado de inmediato por ómnibus, se inyectó al otro día, en un total de aproximadamente 300 vacunos, entre grandes y chicos; la vaquillona enferma se mantuvo hasta la curación, aislada en un galpón. Solo se notó babosa una ternera, la que no dejó de comer y sanó enseguida, el resto del ganado muy bien.

El Sr. Trecu no desconfiaba del buen resultado de la aftización, pero pensaba —sin decírnoslo— que seguramente iba a disminuir mucho la producción de leche, posteriormente a la inyección del virus; averiguado este punto por el suscrito, posteriormente, me contestó: "que no sólo no había disminuído sino que hasta había aumentado". (Estos días fueron templados, sin viento, muy favorables para la producción láctea).

5. — Tambo del Sr. Alberto L. Freyre. — Situado en Paso de Palomeque, primera Sección del Dpto. de Canelones.

En este establecimiento se aftizó todo el ganado en producción: 48 vacas, 1 toro, 6 bueyes y 19 terneros. Repetí el método 4 veces, creo (tres por lo menos), por apariciones sucesivas de la aftosa en ganados vecinos, dándose el caso de un tambero vecino, Sr. Andrés Genta, lindero del potrero adonde el Sr. Freyre tiene el ganado seco, que en un periodo de tres meses tuvo aftosa en sus ganados

dos veces, contaminando la enfermedad al ganado seco antes citado del Sr. Freyre.

No hubo absolutamente ninguna otra novedad que la que cito más abajo, en ninguna de las veces que inyecté, no hubo merma sensible, babeo, inapetencia (salvo en unos pocos terneros que presentaban un poco de ptialismo, con inflamación gingival pero sin aftas y en los dos o tres días que duró esto, comieron pero "con desgano", habiéndose notado a los dos días de una de las veces que inyecté, una merma de unos 15 litros de leche, (sobre una producción de 280 litros diarios), debiéndose tener en cuenta que la noche anterior a la merma, llovió abundantemente y se levantó un viento frío (Causa más que suficiente para producir la merma anotada). En oportunidad de la penúltima aftización, el Capataz introdujo al tambo poco después de inyectar una vaca en producción; este animal venía con aftosa, varios días después enfermó también de aftosa el toro, con localizaciones bucales y podales.

Este caso pudiera atribuirse a que tratándose de un animal rebelde a la sujección, lo inyecté suelto en su box, por arriba del alambrado y aún cuando tuve la sensación de descargar la sangre bajo la piel, no sería imposible que cuando reaccionó al pinchazo, la hubiera echado afuera.

Lo cierto es que en el resto del ganado, no se notó completamente nada. El Sr. A. L. Freyre está muy conforme con el procedimiento y es un propagandista del mismo.

6. — Tambo del Sr. Pedro Camagno. — Localidad: Progreso, 4.ª Sección.

Habiendo aparecido la aftosa en ganado de un predio lindero, alambrado por medio, fuí llamado a aftizar el ganado del Sr. Camagno, de inmediato aconsejé el retiro del ganado de ese potrero, a los dos o tres días inyecté unas 160 vacas, 4 bueyes, 2 toros y 20 terneros. (No inyecté unos 30 o 40 terneros que quedaban, por faltarme virus). No se notó absolutamente nada, ni merma de leche, inapetencia, ptialismo, ni nada, como si no hubiera sido tocado el ganado.

Posteriormente, este Sr. trasladó su tambo a otro Dpto., Florida, y como notara algunos casos de aftosa en un predio lindero, me pidió le aftizara nuevamente, lo que no podía hacer por encontrarme fuera de mi jurisdicción.

7. — Tambo de los Sres. Oiz y Gamboa. — Situado en la 1.ª sección.

La aftosa se inició en el ganado en producción, de ese tambo, el día 5 de Julio, el día 11 del mismo, había 18 vacas con lesiones bucales, mamarias y podales y ese día hemoafticé 96 vacas, tres toros y un ternero, ganado que no presentaba síntomas de enfermedad, estando las vacas de una repartición de los galpones en que

había unas 119 vacas, aparentemente sanas. El día 13, apareció con aftosa una vaca de las inyectadas y varias de las no inyectadas, el día 19, habían enfermado de Aftosa unas 36 vacas, de las no inyectadas y sólo 5 vacas y el ternero, inyectados, entre estas vacas, ninguna con lesiones mamarias, lesiones que aparecieron en varias vacas del ganado no inyectado. Como dije antes, en el galpón donde inyecté las vacas, había unos 119 animales habiendo dejado de inyectar 23 vacas, unas por estar por secarse, otras por dar poca leche, algunas por mancas, etc., decidiendo los dueños se inyectara el ganado mejor lechero. Pues bien de esas 23 vacas no inyectadas, enfermaron de aftosa CASI TODAS, *en las 91 vacas restantes, inyectadas,* no se notó nada anormal. — Los propietarios quedaron muy conformes.

8. — Tambo del Sr. J. Trecu. (Segunda aftización). — Situado en la segunda Sección.

El día 9 de Julio apareció aftosa en ganado en producción de un tambo lindero, por cuyo campo tiene la salida el tambo del Sr. J. Trecu y el ganado enfermo está precisamente en el potrero que debe atravesar cuatro o más veces al día el carro del Sr. J. Trecu, por sendas por encallar y estando la entrada del tambo (cuyo ganado estaba infectado) por donde tiene necesariamente que pasar el carro, y adonde se junta todo el ganado un rato antes de entrar al galpón, por lo que es de suponerse (lo puedo asegurar) que el terreno, pasturas, etc., quedó todo babeado del ganado enfermo. El 17 de dicho mes de Junio, inyecté con virus aftoso, 160 vacas en producción del tambo del Sr. Trecu, no haciéndolo con los demás animales por falta de personal y tiempo. El día 21 del mismo mes, apareció una vaca inyectada, con aftosa benigna en la boca y también 10 terneros no inyectados con "llagas" bastante fuertes en boca y patas. El 22 aparecieron otros 10 o 12 terneros más con aftosa; ninguna vaca. El 23 de mañana, más terneros y bueyes y novillos (en éstos bastante fuerte) no inyectados. Ligera merma de leche. El 23 en el segundo ordeñe, aparecieron 3 vacas más enfermas, lesiones bucales. Entre el 24 y 25 aparecieron unas 20 vacas más, con lesiones podales y bucales y 3 con lesiones mamarias, benignas. En fin, el 3 del actual tenían aftosa todos los terneros y la mayoría de las vacas, teniendo lesiones mamarias solo 4 de éstas. Según el propietario, la aftosa se mostró más severa en los terneros y novillos que en las vacas, lo que he podido verificar, pues al ver éstas, en momentos del ordeñe, este mismo día, no noté casi ninguna vaca en el estado de agotamiento característico. En lo que respecta a merma de leche, el establecimiento estaba enviando antes de la Aftosa, 38-39 tarros de leche, y la merma que duró unos pocos días, el día que fué mayor, alcanzó sólo a 100 litros en el día, entre los dos ordeñes).

9. — Tambo de los Sres. Ferrari Hnos. — Situado en Aguas Corrientes, 3.ª Sección.

Apareció la aftosa en el ganado vacuno seco, ubicado en potrero lindero con el de ordeñe. Inyecté 38 vacas en producción y unos 14 terneros. No ocurrió absolutamente ninguna novedad, el ganado seco enfermó casi todo; el inyectado, ninguno; no hubo merma, etc.

10. — Tambo del Sr. Julio Espinosa. — Situado en Paso de Franco, primera Sección.

En el potrero de las secas, muchas de las cuales estaban en avanzado estado de gravidez, fueron introducidas unas vaquillonas adquiridas en otro departamento, notando al día siguiente que una de ellas presentaba síntomas de aftosa. El animal enfermo fué aislado, el mismo día, y de inmediato aticé el lote restante, unas 24 vacas, no ocurriendo ningún nuevo caso de enfermedad ni ninguna otra novedad.

Yo no pude verificar si el animal separado tenía realmente aftosa por no habérseme mostrado.

Aftizaciones practicadas por el Dr. Alfonso Gaggero

El informe del Dr. A. Gaggero corresponde al año 1933 y comprende 3 establecimientos, en los cuales las aftizaciones fueron practicadas en ganado ya con aftosa en evolución, en uno de ellos con la casi totalidad de los animales enfermos. Mencionaremos a continuación, la aftización practicada en un establecimiento, en el que la infección estaba en su comienzo. (2 animales infectados, sobre 45).

11. — Establecimiento del Sr. Juan Raymondo. — Situado en Pantanoso de Sauce, 6.ª Sección del Dpto. de Canelones.

Consiste en un potrero, de donde pastorea el ganado seco, que linda en gran parte, con el potrero del Sr. García, cuyo ganado se hallaba enfermo en su totalidad. De 45 animales, entre vaquillonas y vaquilloncitas, vacas sin cría y toros, se inyectaron sólo 36, debido a que una fuerte lluvia interrumpió la operación. Se empleó sangre virulenta suministrada por el Laboratorio de Investigaciones el día antes, marcándose con pintura los animales que se iban inyectando. Habían dos animales que no se inyectaron, con síntomas de aftosa. Las dósis utilizadas fueron las mismas que en la operación anterior. Es decir, 2 c.c. Cuatro días después estaban enfermos todos los animales inyectados, mientras que en los no inyectados la mayoría estaban libres de aftosa todavía. En los animales inyectados la aftosa evolucionó rápidamente y sin que muriera ningún animal. Dos semanas después los animales inyectados estaban bien mientras

que aún había animales con aftosa entre los no inyectados, de los cuales murió una vaquillona y un ternerito. (Informe del propietario).

SEGUNDA SERIE DE ENSAYOS

Año 1939

Para estos ensayos, la técnica, de las aftizaciones fué modificada, en el sentido del uso de 2 a 3 inyecciones del virus modificado.

12. — Establecimiento de los Sres. Dionisio y Lirio Cruz. — Ubicado en el Dpto. de San José y también en el Dpto. de Florida.

Lote N.º 1. — Dpto. de San José. El día 5 de Mayo de 1939, se inyectaron con 1 c.c. de virus serie 25, 212 animales de raza holandesa, vacas secas y terneros.

Testigos: Quedan como testigos, sin inyectar 14 animales de más de 18 meses de edad, raza Hereford.

Observaciones posteriores: Día 7, se observa algún babeo en dos vaquillonas que desaparece a las 24 horas. Día 11, el ganado inyectado sin novedad, murió un testigo, pero no de Fiebre Aftosa.

Día 16 de mayo, sin novedad.

Día 19 de mayo, se observan dos animales con síntomas de aftosa.

Lote N.º 2. A. — Dpto. de San José. El día 11 de Mayo se *inyectan 138 animales.* Se dejan 10 sin inyectar como testigos.

Día 16 de mayo, sin novedad.

Día 19. — Se notó un animal con síntomas de aftosa benigna.

Lote N.º 2. B. — Dpto. de San José. El mismo día 11, *se inyectaron 92 animales* y se dejaron 8 sin inyectar como testigos.

Día 16 v. Sin novedad.

Día 19 v. Se observan 5 animales con síntomas de Fiebre Aftosa benigna y luego continúa todo sin novedad.

Lote N.º 3. — Dpto. de Florida. El día 16 de Mayo de 1939, *se inyectan 624 animales*, que corresponden: 75 vacas secas, 65 vacas en producción próximas a secarse, 18 bueyes, 4 toros, 192 terneros menos del año y 259 vacas en producción de leche, 11 vacas de pedigrée, quedan como testigos sin inyectar, 18 animales comprendiendo 2 bueyes, 9 vacas y 7 terneros. En total 624 animales.

Segunda inoculación general. — En los días 27 y 28 de Junio de 1939, son inoculados por segunda vez con 2 y 3 c.c. según las edades todos los animales de los lotes anteriormente, comprendiendo en total 1.016 animales vacunos.

Observaciones posteriores. — En seis animales, sobre los 624 del lote N.º 3, se observan el 3 de Julio síntomas de aftosa. En los demás lotes nada anormal. Es de notar que en este lote no se notó reacción en ningún animal después de la primera inoculación.

En los establecimientos vecinos al de los señores D. y L. Cruz se desarrolló la Fiebre Aftosa a mediados del mes de Julio, infección que continuó hasta mediados del mes de Setiembre extinguiéndose luego, para reaparecer en el mes de Diciembre.

Tercera inoculación. — Habiendo pasado ya algunos meses de las primeras inoculaciones, se conviene por vía de ensayo en el mes de Enero de 1940, hacer la reinoculación del ganado, con una sola inyección con el fin de mantener la inmunidad. Se ensaya primero en unos pocos animales, luego se extiende a 57 y después a unos 200 más.

En ninguno de estos animales se observó síntoma alguno de enfermedad.

Resumen de esta aftización. — En los establecimientos de los señores D. y L. Cruz se inoculan con virus de aftización del Laboratorio de Investigaciones 1.016 animales, de razas lecheras en producción, de distintos sexos y edades. En la primera inoculación presentan síntomas de Aftosa, 8 animales sobre 442 y en la segunda 6 animales sobre 624. En los establecimientos linderos pasan ondas de aftosa durante varios meses, sin haberse enfermado los ganados inoculados. En los lotes inoculados no hubo merma apreciable de producción de leche.

13. — Estancia "Santa Lucía". — Del Sr. Carlos Algorta Real de Azúa. —

En Julio de 1939, se inicia la aftización de una parte del ganado del establecimiento.

En Julio 3. — 532 vientres de cría.
En Julio 4. — 449 vacas y toros normandos.
En Julio . . . — 99 Hereford del plantel de pedigree.
En Julio 25. — Se aftizaron unas 500 vacas más.

En total fueron aftizados *aproximadamente 1580 animales vacunos* recibiendo tres inyecciones de virus. En un campo lindero había aftosa.

Observaciones posteriores. — En Julio 17, se recibe información de que en los ganados aftizados no se observa ninguna novedad y que en una Estancia próxima, del mismo hacendado, hay aftosa en la novillada.

El día 29 de Julio, se informa que animales inyectados, llevados a ese campo con aftosa no habían enfermado, pero que la aftosa se había detenido.

El 23 de Enero de 1940, en conversación con el propietario manifiesta que en el ganado inyectado se había observado dos vacas con aftosa muy benigna y una vaca con aftosa severa.

En carta del 19 de Febrero, solicitando virus para aftizar nuevos animales, no se menciona ninguna novedad.

14. — Estancia "San Pedro de Timote". — Del Dr. Alejandro

Gallinal. — Ubicada en la Estación Cerro Colorado, departamento de Florida.

El 14 de Setiembre de 1939. — Se comienza la aftización de los novillos de tres potreros en la siguiente forma (1):

Potrero R. de M. — 440 novillos. Quedan como testigos 48.

Potrero S. D. — 225 novillos. Quedan como testigos 25.

Potrero Pa. — 241 novillos. Quedan como testigos 26.

En total 906 animales. Los animales de los potreros R. de M. y S. D. recibieron dos inyecciones y los del potrero Pa., tres inoculaciones.

En la época en que se practicó la aftización, habia aftosa en un potrero traslindero.

Observaciones posteriores. — El 7 de Setiembre unos 6 días después de la aftización se observan reacciones en 8 animales sobre el total de los 906, 6 animales curan en 48 horas y los otros 2 en ocho dias.

En Octubre, comienza a desarrollarse una gran onda de Fiebre Aftosa en el establecimiento, en lanares y en vacunos. La epizootia en los lanares adquiere una severidad especial en gran parte a nuestro juicio, por los trabajos de esquila.

A principios de Noviembre, el 7, la Aftosa comienza a atacar los lanares de los potreros de novillos aftizados. En el curso de esta epizootia enferman 10 novillos de los aftizados, es decir aproximadamente el 1 %. A fines de Noviembre, se incorporan a los potreros de los novillos aftizados *146 toros y el dia 4 de Diciembre todos los toros están enfermos de Fiebre Aftosa* y no enferma ningún animal más de los aftizados.

El 25 del corriente mes, se recibe una carta del Dr. Alejandro Gallinal, manifestando, que no ha habido ninguna novedad en los ganados aftizados y ofrece los establecimientos para continuar los ensayos.

Debemos agregar que se trata de establecimientos modelos donde las observaciones se llevan muy cuidadosamente.

15. — Establecimiento del Sr. Juan E. Berti. — Tambo número 2287. Ubicado en Cardal, 5.ª Sección policial del Dpto. de Florida.

Solicita el día 10 de Enero de 1940, la intervención del Dr. T. Berninzoni para tomar algunas medidas a fin de defender a su ganado lechero de la Fiebre Aftosa que lo amenaza por haber introducido un lote de *capones* enfermos procedentes del Dpto. de San José.

El día 11 concurre al establecimiento el Dr. Berninzoni, llevando virus para aftizar, pero pudo comprobar que ya habian algunos animales vacunos enfermos y puso reparos para aftizar, decli-

(1) En el momento de practicarse la aftización hay aftosa en varios potreros del establecimiento.

nando toda responsabilidad, pero a insistencia del propietario inyecta 190 vacas lecheras. Al terminar esta primera inoculación, le queda un pequeño remanente de virus, para tres o cuatro animales, habiendo por inyectar tres toros y cuatro bueyes, y a pedido del interesado se inyectan los cuatro bueyes. Bueyes y toros conviven en el mismo ambiente.

El 29 de Enero, se registraron los siguientes hechos: En el lote de 190 vacas inyectadas habían enfermado solo 10 vacas más después de la inyección, un lote de vacas secas inyectadas y colocadas en el potrero de los capones infectados no enfermó ninguna. Los 4 bueyes inyectados no enfermaron, en cambio enfermaron los 3 toros no inyectados que comían junto con los bueyes.

En el ganado no inyectado enfermaron 30 vacas más y 90 terneros.

El día 27 de Enero, el ganado inyectado recibió la segunda inoculación sin haberse producido ninguna novedad posterior.

El día 24 de Febrero, los mismos animales reciben una tercera inyección.

Observaciones posteriores. — Transcribimos a continuación una carta del Dr. T. Berninzoni, de fecha 18 de Julio de 1940, en la parte pertinente:

"Julio 14 de 1940. — Establecimiento de lechería propiedad "del Sr. Juan E. Berti, N.º 2287, ubicado en las proximidades de la "Estación Cardal, 5.ª sección Urbana del Dpto. de Florida. Este esta- "blecimiento fué sometido a hemo-aftización, serie completa en los "días 11 y 27 de Enero y 24 de Febrero del corriente año, comuni- "cación Enero 31-940. En esa oportunidad fué detenida la evolución "de la Fiebre Aftosa, hasta que el día 12 del corriente (6 meses des- "pués) aparecieron nuevos casos; varios terneros, un toro y una vaca, "el resto del ganado se mantiene sano; el día indicado, procedo a "reforzar la inmunidad inoculando 2 c.c. de virus a los animales adul- "tos, 189 vacas y 4 bueyes. Los animales únicamente enfermos, 8 "terneros, 1 toro y una vaca, no habían sido hemo-aftizados anterior- "mente, la totalidad de los hemo-aftizados se mantienen sanos y en "excelente estado general. En todos los casos, la producción láctea ha "descendido en forma fugaz y en escasa proporción, volviendo a la "normalidad dentro de las 36 horas, los animales inoculados no die- "ron en ningún momento reacciones locales de orden alguno. En "oportunidad serán ampliados los presentes datos. Saludo a Ud. "con mi mayor consideración (Fdo.) T. Berninzoni".

Informes trasmitidos por el Dr. Berninzoni hacen saber que hasta el día 23 de Julio actual, continuaron enfermándose los terneros no inyectados y el ganado hemo-aftizado permanece sin novedad.

16. — Establecimiento de los Sres. Lema y Rodríguez Blanco. — Ubicado en Aceguá, 5.ª sección del Dpto. de Cerro Largo:

La estancia está dividida en 8 potreros y 4 piquetes. En el momento de la aftización hay aftosa en los potreros 1, 7, 9 y el piquete de las casas. Uno de los propietarios, colega nuestro (Dr. L. Rodríguez Blanco) resuelve aftizar el ganado de pedigrée del potrero número 3, lindero con un potrero de ganado infectado y los animales de un piquete, lo que se hace el 26 de Febrero de 1940.

Se inyectan: por una parte, 93 vacas, 73 terneros y 1 toro, y por otra, en el piquete, 10 vacas lecheras y 1 toro en preparación para la Exposición de Melo.

A las 48 horas de inyectada la sangre, el toro hace 39º5 y una lechera también hace reacción térmica, que a las 48 horas siguientes están normales.

A los 4 días de la inyección, se observó una vaca inyectada con síntomas visibles de F. Aftosa y una vaca y dos terneros sin lesiones aparentes. El resto del ganado inyectado no sufrió nada, tampoco después de la segunda inoculación.

En el ganado no inyectado en el potrero N.º 1 lindero al del ganado inyectado, recrudeció la aftosa y hubo casos fatales. En los demás potreros la enfermedad declinó.

Observaciones posteriores. — Informe remitido por el Dr. L. Rodríguez Blanco con fecha 13 de Mayo de 1940:

"Comunico a Vd. que en oportunidad, se dió la tercera inyec-
"ción, a los ganados en experiencia. Estoy entusiasmado con el éxito
"del trabajo, deseando que llegue hasta Vd. toda la esperanza que
"cifra en este medio, en la investigación y experimentación de la
"hemo-aftización llevada a cabo en el establecimiento, del cual forma
"parte el suscripto.

"En esta tercera inyección hemos tenido una reacción muy linda
"en el toro que se está preparando para la exposición de Melo, a rea-
"lizarse en Octubre. Al día siguiente de la inyección se registró en
"el citado animal 41º, a las 48 horas, 40'5º, a las 72 horas 39º y
"a las 96 horas de la inyección ya estaba la temperatura normal.

"Esperé para enviar esta nota, que corriera un plazo prudencial
"de observación. No se han registrado novedades, fuera de las ya
"comunicadas".

17. Estancia "La Merced" de los Sres. Dr. Juan V. Algorta e hijo — Estación Piedras Coloradas, Dpto. Paysandú.

Primer lote. — En Junio de 1939 solicitan del Laboratorio de Investigaciones sea practicada la aftización de una parte del ganado, con motivo de notarse síntomas de aftosa en los animales de un potrero.

Concurre el Dr. J. P. de León, comprobando síntomas de aftosa en un animal y procede a la aftización de los siguientes:

Junio 10-939. 362 vacas y vaquillonas servidas, reciben por vía subcutánea 1 c.c. de virus y 26, 2 c.c. cada una.

Junio 19-939. — Comunican no hay novedad hasta la fecha.

El día 1.º de Julio del mismo año, todos los animales reciben una segunda inyección de virus de 2 c.c. c/u. — No hubieron novedades posteriores.

17 bis. Segundo lote. — El 13 de Febrero del año actual, se inyectan con 1 c.c. de virus por vía subcutánea los siguientes animales: 268 vaquillonas y 10 toros, del potrero N.º 6; 90 vacas y toros del potrero N.º 1; 44 vacas del potrero N.º 7; 53 vacas del potrero número 8; 15 toros de los potreros 7 y 8; 392 vaquillonas y novillitos del potrero N.º 10; 58 vacas y terneros y un toro del potrero N.º 13; 128 novillos del potrero N.º 11; 14 lecheras y 2 toros del potrero N.º 2; 22 vacas de plantel, 5 lecheras y 1 toro del potrero N.º 12; en total 1078 animales vacunos.

Marzo 11-940. — Hasta esta fecha no hubo novedades.

Entre los días 18 y 21 de Marzo, los animales reciben una segunda inyección por vía subcutánea de 2 c.c. de virus cada una. — Observados diariamente los animales no se ha notado ninguna novedad.

Entre los días 9 y 18 de Mayo del año actual, se inyectan todos los animales con 3 c.c. de virus cada uno.

En la observación diaria de los animales inyectados se notó que algunos animales parecían afiebrados a los 4 días de haber sido inyectados, pero al quinto día desapareció todo sin haber novedades posteriores hasta la fecha.

17-2 bis. Tercer lote. — Entre los días 9 y 18 de Mayo 1940, el Sr. Ing. Agr. Juan V. Algorta (hijo), inocula virus aftoso, del Laboratorio de Investigaciones a 182 animales, que reciben por vía subcutánea 1 c.c. cada uno (vacas, vaquillonas y novillos).

A los 4 días de inyectados parecen notarse algo afiebrados, pero están bien al quinto día.

Este mismo ganado recibe una segunda inyección de 2 c.c. entre los días 18 y 19 de Junio.

Sin novedades hasta la fecha.

Resumen actual. — En la Estancia "La Merced", han sido inyectados con "virus de aftización" del Laboratorio de Investigaciones, 1646 animales vacunos, recibiendo 2 y 3 inyecciones de virus c/u. habiéndose comenzado las primeras inoculaciones hace más de un año. — Hasta la fecha no se ha comprobado ninguna novedad en cuanto a Fiebre Aftosa. En campo lindero hubo Aftosa.

18. — Comprende la aftización practicada con una misma partida de virus, a 30 toros de la Estancia "Santa Isabel". Est. Young, del Sr. Raúl Parietti y 8 toros del Sr. David Stirling, el día 2 de Junio de 1939.

El Sr. Raúl Parietti, por carta de Julio 27 de 1939 comunica: "*Resultado de la Hemo-aftización con material remitido por Ud.:*

"Inyectó solamente 30 toros, 27 Hereford y 3 Normandos, se enfer-
"maron los 27 Hereford y en forma bastante aguda —tanto o más
"que los que habían contraído la enfermedad por vía natural—;
"estos animales empezaron a enfermarse a los 6 días después de in-
"yectados y podría haber sucedido que la enfermedad la hayan ad-
"quirido por contagio directo puesto que estaban alambrado por me-
"dio con otra torada que se había enfermado unos 10 días antes...
"Facilité a don David Stirling parte de la sangre con la que él in-
"yectó algunos toros racionados no habiendo tenido en ellos ningún
"caso de Aftosa visible exteriormente, habiendo sólo podido observar
"que algunos de estos animales a los varios días de inyectados se
"notaban con falta de apetito y algo sumidos. Me interesaría ahora
"de acuerdo con lo hablado con el Dr. a que antes me he referido,
"que supongo forma parte del personal de la Dirección de Ganade-
"ría, hacer una nueva aftización, pero en tal caso desearía me diera
"las instrucciones necesarias para poder indicarles todas aquellas ob-
"servaciones que entiendan pueden serles útiles para el interesante
"estudio que están realizando". — ... (Fdo.) Raúl Parietti. —..."

19. Segundo ensayo practicado en la misma Estancia "Santa Isabel", Est. Young, del Sr. Raúl Parietti.

Corresponde a la aftización de 60 animales vacunos que recibieron la primera inyección el día 13-VIII-939, y la segunda, el 1.º de Setiembre del mismo año. He aquí los informes recibidos: "Oportunamente recibí sus envíos de virus para la hemo-aftización que efectué solamente en 50 animales, debido a que el tiempo en esta época del año me resulta muy escaso. El resultado ha sido completamente satisfactorio hasta ahora; inyecté la primera dosis en seguida de recibida y se tomaron en estos animales temperaturas hasta los 10 días, día por medio, habiendo habido 11 de ellos en los cuales fué apreciable el aumento de temperatura. El 1.º de Setiembre hice la segunda aplicación habiendo también luego de esta tomado temperaturas hasta los 10 días después, no pudiendo anotar ninguna reacción y hasta hoy los animales han marchado muy bien. Estos animales, sino todos, casi su totalidad pasaron la Aftosa en la primera época de invierno, ello puede influir creo para que no se hayan notado reacciones de importancia.....
(Fdo.) Raúl Parietti".

20. Tercer ensayo en la misma Estancia "Santa Isabel". Est. Young, del Sr. Raúl Parietti.

Corresponde a la aftización de los siguientes animales: 252 vacas lecheras, 61 vaquillonas, 123 terneros de tambo, 24 toros Hereford y 25 vacas Shorthorn, en total 485 animales.

Reciben la primera inyección el día 29 de Diciembre de 1939, a las dosis de ½ y 1 c.c. según las edades. La segunda inyección

el 15 de Enero de 1940, a las dosis de 1 y 2 c.c. La tercera, el 19 de Junio, a las dosis uniforme de 3 c.c.

Observaciones posteriores. (Informe del 7 de Enero de 1940). — Referente a la primera inyección: "Inyecté de acuerdo a las indi- "caciones adjuntadas al envío. Hasta el momento solamente en el "ganado lechero el ordeñe se notó una vaca con Aftosa muy be- "nigna y temperatura algo elevada en muchas otras, de cualquier "modo alguna novedad que hubiera se la comunicaré enseguida. " (Fdo.) Raúl Parietti".

Referente a la segunda inyección (informe del 16 de Enero de 1940). — "Ayer he terminado de hacer la segunda inyección para "aftización. Después de la primera inyección no se produjo ninguna "novedad digna de mencionar, a más de las pasadas en mi anterior. " (Fdo.) Raúl Parietti".

Referente a las observaciones posteriores. (Carta del 3 de Julio de 1940). — "Hasta el momento no tengo que comunicarle "ninguna noticia referente a reacciones ni anormalidades en los ani- "males inyectados. (Fdo.) Raúl Parietti".

21. Cuarto ensayo en el mismo establecimiento. — Corresponde a la aftización de 250 toritos de 1 y ½ año de edad. Reciben la primera inyección el día 19 de Junio/940 y la segunda el 5 de Julio.

Informes hasta la fecha. (Carta del 15 de Julio del año actual). —"Oportunamente recibí e inyecté la segunda dosis para aftizar, "no habiendo tenido con éstas ni con la de Tristeza, ninguna cosa "que anotar como anormales en los animales inyectados. Oportuna- "mente agradeceré quiera hacerme remitir la sangre para la tercera "dósis de aftosa y si no tuviera inconveniente después del buen "resultado obtenido hasta ahora con la para Tristeza le agradecería "remitirme la sangre suficiente para inyectar 50 animales menores "de un año. (Fdo.) Raúl Parietti".

(1) *Resumen relacionado con los cuatro ensayos practicados, en la Estancia "Santa Isabel".*

En total se aftizaron 833 animales, vacunos, vacas lecheras, toros de campo, de galpón y terneros. En el primer ensayo (N.º 18), que comprende 30 toros del Sr. Raúl Parietti y 8 toros del Sr. David Stirling, enferman de Fiebre Aftosa con los caracteres habituales de la enfermedad natural, los 30 toros del señor Parietti y no enfermaron los 8 toros del señor Stirling, haciéndose notar que los primeros estaban, alambrado por medio, con toros que hacía 10 días habían enfermado de Fiebre Aftosa. En el resto de los animales, aftizados posteriormente, en total 803

(1) Informe últimamente llegado (8-IX-1940) "en aftosa habiendo tenido el establecimiento en su casi totalidad con animales afectados por esta enfermedad en los tratados no se produjo ni un solo caso..."

animales, sólo se notaron reacciones febriles en algunos, y en muy pocos sintomas iniciales de Aftosa (babeo) y solo una vaca lechera hizo Aftosa benigna.

22. Estancia "La Esperanza" de la Sucesión Young. Estación Young.

El 9 de Agosto de 1939, el Sr. Alejandro Young solicita por carta "virus de aftización", para 400 animales que se envía el 23 del mismo mes.

El día 25, se inyectan con ese virus solamente 160 toros, 140 de 2 años y 20 de 3 años de edad.

En el momento de la aftización hay Aftosa en el establecimiento pero no habría en el potrero de los animales inyectados, ni en los linderos.

Observaciones posteriores. — A los 5 días de inyectados habrían notado un animal triste y con babeo y a los 8 días habrían enfermado de Aftosa severa todos los animales, no habiéndoseles aplicado en consecuencia la segunda inoculación.

No obstante el interesado considera buenos los resultados y pide posteriormente virus para aftizar otros animales. Como veremos más adelante, al hacer el análisis de los ensayos practicados, la Fiebre Aftosa desarrollada en este caso deberá ser interpretada como una extensión del contagio dentro del establecimiento.

23. Estancia "El Rancho" del Sr. Isidoro Hill. — Tercera sección del Dpto. San José.

Enero 16/940. El propietario del establecimiento solicita "virus de aftización" para proteger un lote de vacas de pedigrée Holandesas, Normandas y Durham. Manifiesta que en el establecimiento no hay ni hubo aftosa.

Enero 19/940. Inyecta 16 animales adultos con 1 c.c. c/u. No hay novedades posteriores.

Febrero 12/940. Inyecta nuevamente los animales con 2 c.c. cada uno.

Marzo 9/940. Se inyecta nuevamente los animales con 3 c.c. de "virus" c/u. En ninguna de estas inoculaciones hubo novedades.

24. Establecimiento lechero N.º 3280, del Sr. Delmiro Costa. Ubicado en la 3.ª sección urbana del Dpto. de Florida. Interviene el Dr. T. Berninzoni.

El día 15 de Junio de 1940, procede a la aplicación de la primera inyección de "virus de aftización", a los siguientes animales:

20 vacas de 9 a 11 años, 50 de 7 a 8 años, 50 de 5 a 6 años, 100 de 3 ½ a 4 años, 8 bueyes, 2 toros y 40 terneros hasta 3 meses de edad. Además se inyectan 2 cerdas preñadas, sobre un total de 12 porcinos. En el momento de aplicar esta primera inyección, se comprueban algunos casos de aftosa en vacas en producción, las que son separadas de las inyectadas.

El 23 del mismo mes, se aplica en el mismo establecimiento, la primera inyección a un lote de 2 vacas y 102 terneros, que estaban separados del lote anterior.

El día 7 de Julio, se aplica una segunda inyección a los lotes indicados anteriormente.

Observaciones posteriores. (Hasta el día 28 de Julio de 1940). El día 7 de Julio, de los 270 animales vacunos del primer lote, en que la aftosa estaba declarada en el momento de la primera inyección, no enfermaron 189 animales, inclusive ninguno de los terneros. Las dos cerdas aftizadas, no enfermaron y tuvieron una parición normal, en cambio enfermaron los diez cerdos restantes que convivían con los aftizados.

Del lote de 102 terneros, que después de recibir la primera inyección, fué colocado en un potrero donde se encontraba un lote de capones atacado de aftosa severa, no se enfermó ningún animal.

Hasta el día 28 de Julio, fecha de la última información, no hubo ninguna otra novedad en los animales aftizados.

25. Tambo N.º 3299, de los Sres. Costa Hnos., lindero del anterior. Interviene el Dr. T. Berninzoni.

El día 23 de Junio de 1940, se aplica la primera inyección a los siguientes animales:

237 vacas, 14 bueyes, 3 toros y 96 terneras; total 350 animales.

El día 7 de Julio se aplica la segunda inyección a los animales indicados anteriormente. El mismo día se aplica una primera inyección a otro lote compuesto de: 130 y 20 terneros.

El día 28 de Julio se aplica la segunda inyección al segundo lote.

Observaciones posteriores: Enfermaron solamente 3 vacas, únicamente con lesiones bucales.

26. Estancia "La Glicina" del Sr. Juan Carlos Muñoz, ubicada en proximidades de la Estación Chamizo. Interviene el Dr. J. P. de León.

El día 11 de Junio de 1940, se inyectan 94 vacas, 2 toros y 5 terneros. En el momento de dar esta inyección en otros potreros del mismo establecimiento existe Fiebre Aftosa con carácter grave, habiendo causado la muerte de algunos animales.

El día 2 de Julio, se procede a dar la segunda inyección al ganado anteriormente indicado. En el potrero donde había aftosa natural, han muerto 5 animales más a causa de la enfermedad.

Observaciones posteriores. (Hasta el día 30 de Julio de 1940). Han reaccionado, haciendo una aftosa evidente, pero benigna, 7 animales, que evolucionó en algunos días, sin dejar rastros.

27. Cabaña y Estancia "La Nueva Mehlem", de la Suc. Lo-

renzo Salvo, ubicada en Estación Haedo, Depto. de Río Negro. Comprende la aftización de 100 toros.

El día 3 de Julio de 1940, se procede a dar la primera inyección.

El día 23 de Julio, se da la segunda inyección.

Observaciones posteriores. (Hasta el 24-VII-940). Después de dar la primera inyección se notó un toro con síntomas de aftosa, pero muy leve, con 39º de temperatura, la que desapareció, quedando normal a los 2 días. El resto de los animales no tuvo ninguna novedad.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Algunas consideraciones preliminares

Tres cuestiones principales se plantean al hacer el estudio de los ensayos realizados:

A) Grado de virulencia del "Virus de aftización", en el sentido de la intensidad de las reacciones o severidad de la infección, para las especies animales a las cuales se les aplica con fines de inmunización.

B) Si la aplicación, en un rodeo, del "Virus de aftización", puede constituir el punto de partida de un foco de infección con los caracteres de la enfermedad natural y que haga peligrar la sanidad de los rodeos circunvecinos.

C) El grado útil de protección conferida contra la enfermedad natural.

Antes de entrar a tratar en particular las cuestiones planteadas, debemos recordar de un modo general las circunstancias en que han sido hechos los ensayos, cuyo conocimiento es necesario para la debida interpretación de los resultados.

Como lo hemos mencionado, en la parte respectiva, las aftizaciones, por razones de prudencia, han sido practicadas solamente en rodeos "en inminencia de contagio" es decir, en aquellos pertenecientes a establecimientos en que ya habia F. Aftosa en los animales de algún potrero, o en los de algún establecimiento lindero. Y aunque lógicamente no es aconsejable la aftización en rodeos, en que ya haya animales enfermos, sin embargo, por diversas causas han sido practicadas y figuran registradas en esta memoria.

Ahora bien, es lógico suponer, que estando la F. aftosa presente o próxima al rodeo que se va a aftizar, el contagio natural puede extenderse rápidamente, acelerado por el trabajo del ganado: encierre en corrales, embretamiento, etc., etc., ocasionando una generalización de la enfermedad en el rodeo, a punto de partida, no del

"virus de aftización", sino de una infección preexistente, y del trabajo de aftización, pero pudiendo fácilmente inducir a error, o por lo menos despertar la sospecha en algunos casos de que las reacciones fueran provocadas por el propio "Virus".

Hechas estas aclaraciones, pasamos ahora a tratar los puntos en particular.

A). — DEL GRADO DE INOCUIDAD O DE ATENUACION DEL "VIRUS DE AFTIZACION".

Una marcada atenuación para los bovinos, parece resultar probada por dos series de hechos; una por experiencias realizadas al efecto y otra por observaciones en las aplicaciones del "virus" en el campo.

1.º — Experiencia realizada en 9 bovinos, adquiridos al Establecimiento "San Pedro de Timote". — (Estos animales pertenecían a rodeos que después tuvieron F. aftosa).

Lote N.º 1. — Bovinos N.º 268, 269 y 272. — Raza Hereford. 3 años de edad.

El día 10 de Agosto de 1939, reciben 1 c.c. c/u. de "virus de aftización".

Día 12, se observa ptialismo, pero ninguna lesión en las mucosas.

Día 16, todo normalizado.

Día 24, reciben 5 c.c. c/u. de "virus de aftización", y no se observa nada de anormal en los días posteriores de observación.

Temperaturas. No tubo modificación apreciable, habiendo sido la más elevada en todo el lote de 39º4.

Lote N.º 2. — Bovinos N.º 267, 270 y 273. (Misma raza y edad que los anteriores).

El día 10 de Agosto de 1939, reciben 2 c.c. de "virus de aftización".

Día 12, se observa ptialismo, con saliva viscosa, filante, pero no se presentan aftas.

Día 16, todo normalizado.

Día 24, reciben 5 c.c. c/u. de "virus de aftización", no habiéndose comprobado ninguna alteración en la salud durante los días posteriores de observación.

Lote N.º 3. — Bovinos N.º 265, 266 y 271, (misma raza y edad que los anteriores).

Día 10 de Agosto de 1939, reciben 5 c.c. "virus de aftización" cada uno.

Día 11, se observa ptialismo en el N.º 266.

Día 12, se observa ptialismo en los Nos. 265 y 271.

Día 16, normalizados los Nos. 265 y 271.
Día 18, normalizado el N.º 266.
En ningún caso se comprobaron aftas.
Temperaturas. — La máxima, en algún animal, 39º8.

Resumen de la experiencia. — Se inyectó el "virus" de aftización", en las dosis de 1, 2 y 5 c.c. habiéndose comprobado solamente ptialismo y muy ligeros aumentos en las temperaturas (algunos 1/10 de grado). Las reinoculaciones practicadas a los lotes N.º 1 y N.º 2, no produjeron ptialismo, ni modificación en las temperaturas.

2.º — Comprobaciones hechas en las aplicaciones en el campo. — En estas observaciones es necesario distinguir dos grupos: a) establecimientos no infectados, y b) establecimientos infectados.

Observación 3. — (1) Se aftizaron 40 vacas, 18 terneros, 28 vaquillonas, 6 bueyes y 1 toro. No hubo ninguna novedad.

Observación 5. — Se aftizaron 48 vacas en producción, 19 terneros, 6 bueyes y un toro. Fueron aplicadas tres aftizaciones en diversas oportunidades. Después de una de las aftizaciones se anotó: No hubo merma sensible en la producción de leche, ni babeo, ni inapetencia salvo en unos pocos terneros. Después de otra aftización se comprobó una merma de 15 litros de leche sobre una producción total de 280 litros.

Observación 6. — Se aftizaron 160 vacas, 4 bueyes, 2 toros y 15 o 20 terneros. Sin ninguna novedad.

Observación 9. — Se aftizaron 38 vacas en producción y unos 14 terneros. No hubo novedades.

Observación 10. — Se aftizaron 24 vacas, sin novedad.

Observación 12. — En un lote de 212 animales de raza holandesa, vacas y terneros, sólo se observa algún babeo en dos vaquillonas, y a los seis días de inyectados, todo normal.

En un segundo lote aftizado posteriormente, de 138 animales, sólo se notó un animal con síntomas benignos de aftosa.

En un tercer lote de 92 animales, a los 8 días se observan síntomas de aftosa benigna en 5 animales. Sin ninguna otra novedad posterior.

En un cuarto lote se inyectan en total 624 animales, comprendiendo 324 vacas en producción, 75 vacas secas, 182 terneros, 11 vacas de pedigrée, 18 bueyes y 18 otros animales, no observándose ninguna novedad posterior, pero en una segunda aftización posterior, a mayor dosis, se observan síntomas de aftosa, aunque sólo en tres animales.

Observación 13. — Se inyectan en total 1580 animales va-

(1) Estas indicaciones corresponden a las que figuran con iguales números en el capítulo III, sobre aftizaciones practicadas.

cunos; 532 vientres de cría, 449 vacas y toros Normandos, 99 Hereford de plantel y 500 vacas más. No se observaron novedades de importancia en los animales.

Observación 14. — Se inyectan en total 906 novillos, en tres lotes. Una parte recibieron dos inyecciones y el resto tres inyecciones.

Seis días después de la primera aftización, se comprueban 8 animales con síntomas de aftosa, de los cuales 6 curan en 48 horas y 2 en 8 días. Después no se comprobó ninguna otra novedad.

Observación 16. — Se inyectan, todo ganado de pedigrée; 93 vacas, 73 terneros y 8 toros, además 10 vacas lecheras. A las 48 horas un toro hace 39°5, que a las 48 horas se normaliza. A los 4 días de inyectados se observó una vaca con signos visibles de fiebre aftosa y una vaca y dos terneros sin lesiones aparentes. Posteriormente ninguna novedad.

Observación 17. — Se inyectan: 1.er lote, 362 vacas y vaquillonas servidas. 2.° lote en total 1078 vacunos, vacas, vaquillonas, novillitos, terneros y toros. 3.er lote, se inyectan 182 animales vacunos.

En las observaciones posteriores, consta que a los 4 días de inyectados algunos animales parecían afiebrados, pero sin comprobarse ningún signo visible de F. Aftosa.

Observación 18. — Corresponde la aftización de 30 toros en un establecimiento y 8 toros en otro, practicados con la misma remisión de virus.

"Resultado de la hemo-aftización con material remitido por "Vd. Inyecté solamente 30 toros, 27 hereford y 3 normandos, se "enfermaron los 27 hereford y en forma bastante aguda, tanto o "más que los que habían contraído la enfermedad por vía natural; "estos animales empezaron a enfermarse a los 6 días después de "inyectados y podría haber sucedido que la enfermedad la hayan "adquirido por contagio directo puesto que estaban alambrado por "medio con otra torada que se había enfermado unos 10 días "antes... facilité a Don David Stirling parte de la sangre con la "que él inyectó algunos toros racionados, no habiendo tenido en "ellos ningún caso de aftosa visible exteriormente, habiendo solo "podido observar que algunos de estos animales a los varios días de "inyectados se notaban con falta de apetito y algo sumidos".

Observaciones 19, 20 y 21. — Un lote de 60 vacunos, dentro de los primeros 10 días habían hecho temperatura febril. Un lote de 485 vacunos, entre vacas lecheras, vaquillonas, terneros, y toros se observó temperaturas febriles en varios animales y síntomas de aftosa benigna en una vaca lechera. Un lote de 250 toritos de 1 ½ años. Nada de anormal.

Observación 23. — Se inyectan 16 vacas de pedigrée, recibiendo cada una 3 inyecciones. No hubo novedades después de las inoculaciones.

Observación 25. — Un lote de 350 animales, entre vacas, terneros, toros y bueyes. Un otro, lote de 150 animales entre vacas y terneros. Entre ambos lotes solo enfermaron tres vacas con lesiones bucales.

Observación 26. — Se inyectan 94 vacas, 6 terneros y 2 toros. Había aftosa en el establecimiento. Se observaron síntomas de aftosa benigna en 7 animales.

Observación 27. — Se inyectan 100 toros. Después de las inoculaciones se observó un toro con 39º de temperatura y síntomas de aftosa. Ninguna otra novedad.

Resumen de todas las Observaciones. — Sobre un total de aproximadamente 7300 animales vacunos, comprendiendo vacas de cría, vacas lecheras en producción, vaquillonas, bueyes, toros, y varios céntenares de terneros, solo se observaron síntomas visibles de aftosa, en todos los casos benigna, sobre 30 animales, es decir, en una proporción aproximadamente al 0.4 %.

En algunas aftizaciones, en que había F. aftosa en el rodeo o en potrero alambrado por medio, hubo generalización de la enfermedad a todo el rodeo y de una enfermedad con los caracteres de severidad de la infección natural, pero en forma alguna esos hechos, por las circunstancias apuntadas podrán ser imputados al "virus de aftización". No se incluyen las observaciones correspondientes a rodeos ya infectados por carecer de interés para el punto en discusión.

B). — SI LA APLICACION DEL "VIRUS DE AFTIZACION" PUEDE CONSTITUIR EL PUNTO DE PARTIDA DE UN FOCO DE INFECCION CON LOS CARACTERES DE LA INFECCION NATURAL, QUE HAGA PELIGRAR LA SANIDAD DE LOS RODEOS CIRCUNVECINOS.

Desde tiempo atrás es conocido el hecho, que los virus de pasajes experimentales, aun por especies naturalmente sensibles, van apartándose de sus características normales y adquiriendo otras. En materia de F. aftosa, se ha comprobado muchas veces que la enfermedad provocada experimentalmente con virus de pasaje es mucho menos contagiosa que la enfermedad natural, interpretando este término, en el sentido de la enfermedad provocada directamente por el contagio en un estado epizootico.

En las experiencias realizadas hace algunos años, en colaboración con el distinguido colega Dr. Pedro Seoane, tendientes a averiguar el contagio por carnes y médulas de hueso, conservados en

cámaras frigoríficas, nos llamó la atención la facilidad conque era posible evitar el contagio aftoso de terneros en experiencias. Posteriormente relatando, uno de nosotros, esos hechos al Prof. Lignières, nos confirmó análogas observaciones.

En el mismo sentido, están nuestras experiencias en ovinos. Varias veces hemos intentado obtener un virus adaptado a esta especie y siempre hemos encontrado con la dificultad casi insalvable por su atenuación progresiva. Sin embargo, desde hace varios años, la F. aftosa recorre en ondas epizóoticas sucesivas, las majadas de nuestro país, provocando a veces mayores perjuicios que en los vacunos.

Era pues en principio, lógico aceptar, como muy poco probable, que un "virus modificado" por pasajes en animales de laboratorio y que se ha mostrado tan atenuado en su poder patógeno para los bovinos y ovinos, pudiera constituir un peligro, en el sentido de provocar la aparición de un foco de F. aftosa, del que pudiera irradiar el contagio a rodeos circunvecinos.

Pero no obstante nos colocamos, especialmente al principio de los ensayos en el campo, en un grado de excesiva prudencia, no haciendo ninguna aftización, sino en rodeos en "inminencia de contagio", aunque sabíamos por anticipado, que tales condiciones podían dar lugar a la producción de hechos que dificultarían la apreciación de los resultados, y mismo, por la existencia de factores circunstanciales y la influencia del movimiento de animales para las aftizaciones, imprimir a la infección natural pre-existente una velocidad de contagio acelerada, dando la sensación de un contagio masivo provocado o despertado por el "Virus de Aftización".

Son precisamente esas circunstancias las que dificultan un pronunciamiento categórico de la cuestión planteada; pues si la F. aftosa estuvo siempre presente o próxima al rodeo en aftización, podemos, sobre la base de los hechos observados, establecer la presunción, la casi certidumbre de que no se produce una extensión del contagio, pero faltará la prueba irrefutable para algunos ensayos.

A continuación mencionaremos las observaciones aprovechables.

Observación 12 (1). — Un lote de 212 vacunos son aftizados y se dejan como testigos 14 animales de más de 18 meses de edad. Se observa babeo en dos animales aftizados y síntomas de F. aftosa en otros dos; en los testigos nada.

Se inyectan 92 animales, se dejan como testigos 8. En las observaciones posteriores se comprueba síntomas de aftosa benigna en 5 animales. En los testigos sin novedad.

(1) El número de la observación, como en el capítulo anterior, corresponde a igual número del capítulo III.

Se inyectan 624 animales vacunos, se dejan 18 como testigos. En las observaciones posteriores se comprueban síntomas de F. aftosa en 6 animales. En los testigos nada de anormal.

Observación 14. — Se inyectan un total de 906 novillos, divididos en tres lotes en potreros distintos. Quedan como testigos 99 animales, es decir aproximadamente un 10 %. Además en los mismos potreros hay lanares sensibles a la F. aftosa. Sobre los 906 inyectados en observaciones posteriores, se comprueban síntomas de fiebre aftosa en 6 de ellos. En los testigos y en los lanares nada de anormal.

Observaciones 17 a 17 2/ bis. — A partir de Junio de 1939, se comienzan a inyectar por lotes, los animales del establecimiento, hasta Mayo de 1940.

El primer lote de 362 animales es inyectado en Junio de 1939; el segundo lote de 1078 animales, el 13 de Febrero de 1940, y el tercer lote de 182 animales en Mayo de 1940. Entre el primer y segundo lote median 8 meses y entre el segundo y tercero, tres meses. No obstante en ningún momento hubo extensión del contagio de los animales inyectados primeramente a los últimos inyectados. *Es pues una observación bien probatoria.*

Observación 23. — Se inyectan 16 animales de pedigrée. En las observaciones posteriores se consigna que no hubo ni hay aftosa.

Las demás observaciones del Capítulo III no se consignan por no ofrecer datos aprovechables para el punto en discusión.

C). — GRADO UTIL DE PROTECCION CONFERIDA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA.

Este es el punto principal de la cuestión. En principio debemos admitir que teniendo el método como base, el uso de un "virus aftoso vivo" hay razones para esperar, mismo para asegurar la obtención de un cierto grado de inmunidad.

Pero el problema debe ser planteado en forma más severa y es, si será posible obtener *"un grado de inmunidad suficiente para proteger a los animales contra el ataque por el contagio natural"*. — A este respecto, conocemos ya las irregularidades observadas frecuentemente en la inmunidad antiaftosa, tanto por enfermedad natural, como por virus vivos o muertos. A estas irregularidades comprobadas en las condiciones óptimas para la obtención de una inmunidad sólida, debemos agregar en nuestro caso, la intervención de otro factor; la modificación del virus por pasajes por animales de laboratorio, con pérdida, en gran parte, de la virulencia para las especies de origen: bovinos y ovinos. Está probado que los virus así modificados no son apropiados para la preparación de "Vacunas

a virus muertos", las que resultan con un poder antígeno inmunizante muy disminuído; pero ello no significa en manera alguna que estén totalmente desprovistos de la facultad de despertar reacciones de inmunidad en algún grado, máxime cuando se les emplea no ya al estado muerto sino de "virus vivo". Por otra parte, hay una ley general en inmunología, según la cual la repetición del estímulo, aun en grado bajo, produce un aumento sensible del estado de inmunidad y que el aumento es de un grado elevado, cuando el estímulo se aplica a sujetos anteriormente tocados por el antígeno de valor elevado, como es el caso de los animales que hayan pasado con anterioridad la F. aftosa.

De todos modos, solo la experimentación rigurosa, puede resolver de un modo seguro, sobre el valor de cualquier método, y nosotros, a falta de esa experimentación que aún no hemos podido realizar por no disponer de comodidades en las instalaciones actuales y de recursos, expondremos las observaciones de los ensayos en el campo, con la debida limitación de su alcance, por las dificultades que siempre se presentan en materia de inmunidad anti-aftosa, para la interpretación de los resultados.

Figura en el Capítulo III, las relativamente numerosas aplicaciones hechas en muy diversas circunstancias.

En la observación 1, se manifiesta, "que un segundo lote de animales, el mayor estaba en unos potreros camino por medio con el ganado del tambo. Este ganado con fiebre aftosa en evolución, los animales fueron encerrados en el mismo corral y tubo para ser aftizados. No obstante en observaciones posteriores, después de 8 días, sobre el total solo se observó salivación en dos terneros y malestar en un vacuno adulto.

En la Obs. 2. Figura que un lote de 38 vacas en producción. 16 terneros y un toro fueron aftizados, estando próximos a animales con aftosa. Además en el ganado aftizado se introdujo un animal con aftosa natural. Se observaron sistemas de F. aftosa leve en algunos animales, con muy poca merma de leche.

En la Obs. 3. Se aftizaron varios lotes de animales, en total 68 vacas, 18 terneros y 1 toro. Había aftosa en forma severa en potreros próximos. En los animales aftizados no hubo novedad.

Obs. 4. Se aftizaron unos 300 animales entre grandes y chicos. Fué introducida una vaquillona con aftosa. En los animales aftizados solo se observó babeo en una ternera.

Obs. 5. Se aftizaron 4 veces 48 vacas, 6 bueyes y 19 terneros, pues había aftosa en tambos vecinos. En alguna oportunidad fué introducida una vaca con aftosa natural. Sólo enfermó, del ganado aftizado, un toro.

Obs. 6. Aparece aftosa en un potrero lindero, y se resuelve aftizar 160 vacas 2 toros y 15 terneros. No hubo ninguna novedad,

aunque se refiere quedaron por inyectar 30 ó 40 terneros sin mencionarse novedades en los mismos.

Obs. 7. Se refiere a un tambo que tenía aftosa. Del ganado aftizado solamente enfermó una parte. El no aftizado casi todo.

Obs. 8. Tambo en inminencia de aftosa. No se registran resultados favorables, en el sentido de la inmunidad.

Obs. 9. Hay aftosa en el ganado vacuno "seco". Se aftizan los animales en producción, 38 vacas y 14 terneros. El ganado "seco" enfermó casi todo. No hubo novedad en el aftizado.

Obs. 10. Aparece un animal enfermo, al parecer de F. aftosa y se inyecta los restantes, 24 vacas. No ocurrió ningún nuevo caso.

Obs. 11. Tambo con F. aftosa. Resultado dudoso.

Obs. 12. Se aftizan en varias oportunidades 1016 animales, ganado lechero, vacas, toros, bueyes y terneros. Las aftizaciones han comprendido un período del 5 de Mayo de 1939 al 26 de Julio de 1940. Es decir más de un año. En el curso de ese año se registró F. aftosa varias veces en establecimientos linderos, sin que hasta la fecha haya enfermado el ganado aftizado.

Obs. 13. Se aftizaron unos 1580 animales. Las observaciones son contradictorias. Ver más extensamente en Capítulo III.

Obs. 14. Se aftizaron 906 animales. Todos novillos, en tres lotes. Se desarrolla una onda de F. aftosa en el establecimiento, que ataca por igual a bovinos y ovinos (coincidiendo período de esquila de 1939). En los potreros de los aftizados enferman los lanares, también enferman en *su totalidad* un lote de 146 toros colocados en esos potreros. De los animales aftizados sólo enferman 10.

Obs. 15. En comienzo de F. aftosa. Se inyectan 190 vacas y 4 bueyes. De las vacas solo enferman 10, los bueyes no enfermaron, en cambio enferman 3 toros que conviven con los bueyes. Para más detalles ver misma Obs. en el Cap. III.

Obs. 16. Hay aftosa en algunos potreros. Se inyectan 178 piezas de pedigrée, que están en potreros linderos a los infectados. En las aftizadas se comprueba 1 caso de F. aftosa aparente y 1 vaca y 2 terneros sin lesiones visibles. En el ganado no aftizado hay casos mortales.

Obs. 17. Hay algunos casos de aftosa en el Establecimiento. De Junio de 1939 a Febrero de 1940, aftizan 1638 animales, vacas, vaquillonas, novillos, terneros y toros. No se produce ningún caso de F. aftosa en los animales aftizados.

Obs. 18. Hay aftosa en el establecimiento. Se inyectan 30 toros, de los cuales a los 6 días enferman 27. Había aftosa desde 10 días antes en un potrero alambrado por medio.

Obs. 19 y 20. En el mismo establecimiento que Obs. 18. Se aftizan 545 animales, vacas lecheras, vacas de cría, vaquillonas,

terneros y toros. Las aftizaciones terminadas en Enero de 1940. Hasta la fecha no se produjeron casos de aftosa.

Obs. 21. Mismo establecimiento que Obs. 18 a 20. Se aftizan 250 toritos de 1 ½ años. He aquí un informe recibido últimamente sobre las observaciones 19, 20 y 21. Estancia "Santa Isabel", Setiembre 8/940. — Sr. Dr. Miguel C. Rubino. — Montevideo. — "En aftosa habiendo tenido el establecimiento en su casi tota- "lidad con animales afectados por esta enfermedad en los tratados "no se produjo ni un solo caso, lo que de hecho me hace estar muy "conforme y me obliga a pedirle acepte mis felicitaciones por el "éxito. . . . . (Fdo.) Raúl Parietti".

Obs. 22. Hay aftosa en el establecimiento. Se inyectan 160 toros. Habrían enfermado todos de F. aftosa.

Obs. 23. No hay aftosa. Se aftizan 16 toros sin novedades posteriores.

Obs. 24. Tambo. Hay aftosa dentro del rodeo a aftizar. De 270 animales, no enfermaron 189 animales. 102 terneros llevados a un potrero con aftosa no enferma ninguno. Sobre 12 cerdos, 2 cerdas preñadas son aftizadas y no enferman, los 10 restantes enferman de aftosa.

Obs. 25. Tambo, se aftizan 350 animales, vacas, terneras, bueyes y toros.

En el establecimiento lindero había F. aftosa (Obs. 24), enfermaron solamente 3 vacas con lesiones bucales.

Obs. 26. Existe aftosa en otros potreros del mismo establecimiento, con casos mortales. Se aftizan 94 vacas, 5 terneros y 2 toros. Las aftizaciones fueron comenzadas en Junio de 1940 y terminadas en Julio del mismo año. Hasta la fecha, setiembre de 1940), no ha habido novedad.

Obs. 27. Se aftizan 100 toros para la venta. Después de la primera inyección se observa temperatura en un toro, con síntomas ligeros de aftosa.

Hasta el día 6 de Setiembre no había otras novedades. Continúa el proceso de aftización.

Resumen relacionado con esta cuestión. — Se han registrado 27 ensayos de aftización en el campo, comprendiendo tambos, animales de cabaña, y ganados generales, en un total aproximado a 8.500 animales. De esas 27 observaciones, 2 están desprovistas de significado desde este punto de vista, porque las aftizaciones han sido practicadas en establecimientos libres de infección, sin haber aparecido ninguna prueba en favor ni en contra de la inmunidad. En 5 observaciones no aparece un resultado útil como consecuencia de la aftización; de esos 5, en 3 hay aftosa en evolución en los mismos rodeos linderos, en otra, (Obs. 22) hay af-

tosa en el establecimiento y la Obs. 13, no arroja claridad sobre los resultados, no siendo ni enteramente favorable ni desfavorable.

Quedan 20 observaciones, con resultados enteramente favorables, aunque con valores probatorios desiguales; pero teniendo algunos de ellos por lo menos presumiblemente el valor de experiencias, sobre cuyos detalles no entramos por el momento para no dilatar demasiado el presente informe.

RESUMEN GENERAL

El Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, inició ensayos, sobre un procedimiento de aftización del ganado cuyas condiciones y resultados se resumen a continuación:

1.º — Tiene como base el uso de un virus aftoso, modificado por numerosos pasajes en animales de laboratorio (cobayos).

2.º — El "virus de aftización", es obtenido por inoculación a animales mayores, (ovinos), pero sin pasajes en serie, para evitar una nueva modificación o retrogradación.
En tales condiciones se asegura el aprovisionamiento en escala del "virus" y se elimina el peligro de una contaminación de los parásitos de la tristeza bovina.

3.º — El "virus de aftización", es controlado previamente en su grado de virulencia y en su pureza bacteriológica.

4.º — El procedimiento implica la aplicación por vía subcutánea de dos o más inyecciones de "virus de aftización", en dosis que varían de ½ c.c. a 5 c.c.

5.º — Los ensayos han sido hechos en rodeos en "inminencia de contagio". Es decir con F. aftosa presente en el mismo establecimiento o en establecimiento lindero.

6.º — De las observaciones relatadas, resulta que el "virus" utilizado, provoca reacciones benignas, inaparentes en la mayoría de los animales, y que no se le puede imputar haber provocado un foco de F. aftosa, donde esta infección no preexistía en el rodeo.

7.º — En cuanto a la inmunidad conferida contra la F. aftosa, debemos manifestar, que de los 27 ensayos que se registran, con un total aproximado de 8500 animales, bovinos, de tambos, de Cabaña y generales, 2 observaciones están desprovistas de significado, por no haber aparecido la oportunidad de la prueba de inmunidad, en 5 los resultados son dudosos, principalmente por coexistir la F. aftosa por contagio natural y 20 parecen revelar un resultado favorable en cuanto a la

provocación de un grado útil de resistencia contra la enfermedad natural, teniendo algunas observaciones, al parecer, un valor probatorio elevado. No obstante, dadas las condiciones de los ensayos y las dificultades que ofrece la fiebre aftosa para la apreciación de los resultados de inmunidad, no es posible por el momento sacar una conclusión definitiva.

NOTAS RECIBIDAS POR EL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES RELACIONADAS CON LOS ENSAYOS DE AFTIZACION

"Enrique Algorta Camusso.

San Pedro de Timote. — Enero 8 de 1940.

"Sr. Dr. Miguel Rubino.

"Estimado Doctor:

"Sentí muchísimo no estar aquí, cuando estuvo usted y el "doctor Baldomir. Hubiera tenido gran gusto en acompañarlos y "conversar con Ud. con respecto a la dichosa aftosa.

"En los rodeos aftizados, no hay ninguna novedad, pero la "enfermedad sigue apestando otros rodeos y en algunos matando "animales. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

"Con el aprecio de siempre, lo saluda su affo. amigo. — (Fdo.) *Enrique Algorta Camusso*".

DE ALEJANDRO GALLINAL.

"Montevideo, Marzo 25 de 1940.

"Sr. Dr. Miguel C. Rubino.

"Dirección de Ganadería. — Laboratorio de Investigaciones.

"Muy estimado señor mío:

"Me es grato contestar su nota de fecha 19 en la que se in-"teresa Vd. por conocer el resultado de las investigaciones sobre "aftización, realizadas en animales de mi propiedad de la Estancia

"San Pedro de Timote, con posterioridad al 28 de Diciembre de "1939, manifestándole que, después de dicha fecha, no se ha pro- "ducido novedad alguna en los referidos animales y que la aftosa, "por lo tanto, no se presentó en ninguno de los potreros que Vd. "menciona.

"En vista de ese resultado es con gran complacencia que rei- "tero a Vd. mi ofrecimiento de todos los animales que le sean nece- "sarios para repetir en ellos experiencias realizadas por Vd. el año "pasado sobre aftización, pues considero un deber mío facilitar los "medios pertinentes, dado el resultado brillante obtenido en el "caso.

"Estrecha cordialmente su mano. — (Fdo.): *Alejandro Ga- "llinal*".

DE M. RAUL PARIETTI. —

"Río Negro, (Estación Young).

"Estancia "Santa Isabel", Setiembre 8 de 1940.

"Señor Dr. Miguel C. Rubino. — Montevideo.

"De mi consideración:

"Contestando sus Attas. de fechas 3 y 10 de Agosto ppdo. y "cumpliendo con la promesa que telefónicamente le hice en esa, co- "municole que habiendo hecho todos los tratamientos para los que "me ha remitido material ese Laboratorio de Investigaciones (para "Aftosa y Tristeza); en Aftosa habiendo tenido el establecimiento "en su casi totalidad con animales afectados por esta enfermedad "en los tratados no se produjo un solo caso, lo que de hecho me "hace estar muy conforme y me obliga a pedirle acepte mis felicita- "ciones por el éxito. En lo referente a tristeza no he tenido hasta "el momento que hacer ninguna observación por trastornos y es- "pero que terminado el tratamiento tendré que ponderar tanto éste "como él por aftosa.

"Dándole la seguridad de mi distinguida consideración lo sa- "luda S.S.S. (Fdo.): *Raúl Parietti*".

SOBRE LA ACTUAL EPIZOOTIA DE FIEBRE AFTOSA (1943)

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería, Año XXVII, Oct., Nov. y Dic. 1943

Actualmente una parte de la ganadería de nuestro país está azotada por una onda de fiebre aftosa, con un grado de severidad poco común, podríamos decir desconocido en América del Sur, por lo menos en la cuenca del Plata.

Los primeros datos de que una enfermedad de alguna gravedad se estaba presentando en el ganado vacuno, se tuvieron en los primeros días del mes de noviembre, casi simultáneamente en un tambo del departamento de Canelones y en algunos establecimientos del departamento de Treinta y Tres. Inmediatamente se tuvieron informes que en el vecino Estado de Río Grande del Sur, existía una epizootia grave en el ganado vacuno con caracteres semejantes a los observados en el Uruguay. Esto fué confirmado en esos mismos días por algunos ganaderos de Yaguarón (Brasil), que vinieron a Montevideo a nuestro laboratorio, para conocer de qué enfermedad podría tratarse. Se tuvo así conocimiento, que la enfermedad existía en ese Estado con alguna antelación a nuestro país.

Al principio, mientras la enfermedad parecía confinada a un reducido número de establecimientos, se pensó que podría tratarse de la fiebre aftosa común, que por las circunstancias derivadas de la sequía sin precedentes que azotó al país, hubiera producido un índice elevado de mortalidad en ganados debilitados en sus defensas orgánicas, aunque aparentemente mostraron buen estado general antes de enfermarse.

Muy pronto la extensión de la infección a otros establecimientos circunvecinos, mostrando igual severidad, produjo la alarma consiguiente y mismo llevó a pensar de que pudiera tratarse de la coexistencia de otra enfermedad, no conocida en el país, de mayor gravedad que la fiebre aftosa.

SE ESTABLECIO EL DIAGNOSTICO ANATOMO-PATOLOGICO Y EXPERIMENTAL DE LA FIEBRE AFTOSA

Bajo esas circunstancias, se intensificaron los trabajos de investigaciones del Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería. Varios técnicos de la Dirección de Ganadería fueron

a los establecimientos infectados a practicar autopsias y recoger material de estudio y se verificó experimentalmente que se trataba de fiebre aftosa y que la gravedad se debía a la alta virulencia de la infección, provocando especialmente lesiones del corazón y en otros órganos vitales, determinando a veces la muerte súbita, con pocos síntomas aparentes en los animales.

Se pudo establecer así el diagnóstico de fiebre aftosa, del tipo maligno, desconocido en estos países, pero muy bien estudiado en los países europeos.

LA POSICION DE ALERTA

No obstante el diagnóstico de Fiebre aftosa, establecido de un modo indudable, por la sintomatología, las lesiones de autopsias y la vía experimental, se ha continuado vigilando la posibilidad de estar también en causa, de poder coexistir, otra infección ignorada.

Esta posición de alerta no resulta de una inseguridad en el diagnóstico establecido, sino del sentido de la responsabilidad que pesa sobre la Dirección de Ganadería y de un modo especial sobre la Sección Laboratorio de Biología Animal y además de la posibilidad, aunque remota, de que bajo una cortina de humo, de fiebre aftosa, de síntomas muy visibles y llamativos, pudiera desarrollarse otra infección exótica de mayor gravedad en sus consecuencias futuras.

Esa posición de alerta se traduce en inspecciones frecuentes en las zonas infectadas, en cualquier lugar del país donde se señala la muerte de animales y en los propios establecimientos donde existe o ha existido la fiebre aftosa, a fin de verificar si dentro de esos establecimientos la infección se extingue con la fiebre aftosa o si aparecen después animales enfermos con otros síntomas.

La Dirección de Ganadería ha impartido a este respecto órdenes e instrucciones a los técnicos destacados en campaña, especialmente en los departamentos fronterizos.

Hasta el momento actual, no se ha verificado otra cosa que la fiebre aftosa, salvo la muerte de algunos animales, por carbunclo o garrapata, las que ocurren habitualmente en el país.

SOBRE LAS PROBABILIDADES DEL ORIGEN DE LA ACTUAL EPIZOOTIA

La actual epizootia apareció casi simultáneamente, en la frontera de nuestro país —departamento de Treinta y Tres y en la cuenca lechera, departamento de Canelones. Es muy probable que el foco de Canelones haya sido encendido por movimientos de ga-

nado de la zona fronteriza hacia el interior. Por lo menos existe ese movimiento de ganados, y tropas infectadas han sido detenidas.

Además en el contagio de la fiebre aftosa ocurren hechos aparentemente paradojales, pero perfectamente explicados por los conocimientos actuales. Me refiero a que puede salir una tropa procedente de un lugar donde no existe en ese momento fiebre aftosa, aparentemente sana, llegar a destino sana y luego aparecer simultáneamente la fiebre aftosa en la tropa y en el lugar de origen. Eso facilita el trasplante de la infección, burlando toda vigilancia.

En cuanto al primer origen de la implantación de la infección, fuere en el país o en el sur del Brasil, caben varias conjeturas. Se podría pensar en un origen exótico, por el trasplante del virus de otro continente al nuestro por factores desconocidos, como ha ocurrido en Inglaterra varias veces. Podría pensarse también, que las circunstancias derivadas de la sequía, como sería el debilitamiento de las defensas orgánicas de los animales, hayan determinado una exacerbación de la virulencia en alguna región y de allí haya irradiado a otras regiones originando el estado epizoótico con la gravedad actual.

EL ORIGEN MAS PROBABLE. — EN EL PAIS EXISTE OTRA ONDA DE FIEBRE AFTOSA MAS BENIGNA QUE SE MUEVE INDEPENDIENTEMENTE

Además de la epizootia grave que ha alarmado justamente a los ganaderos, existe en el país otra forma clínica de fiebre aftosa, con caracteres de relativa benignidad, la forma podríamos decir, habitual entre nosotros. Esta forma se mueve independientemente de la primera, siendo en estos momentos frecuente en el norte y en el litoral, pero coexiste también a veces con la forma grave, en una misma región. Ahora bien, se ha comprobado, por lo menos hasta la fecha, que los rodeos que han pasado esa forma benigna poco tiempo antes, resisten perfectamente a la forma grave, es decir, que quedan inmunizados (vacunados) contra la forma grave. Este hecho tiene una importancia muy grande y de efectos tranquilizadores; demostrando el parentesco de los virus (gérmenes infecciosos) de las dos epizootias, e induce a reforzar la presunción que la forma grave, tendría su origen en la forma benigna, por exacerbación de su virulencia debido a las causas que hemos mencionado primeramente o a otras desconocidas.

Pues debemos advertir, que en la fiebre aftosa, pueden estar en causa varios tipos de virus (gérmenes) originando epizootias independientemente uno de los otros, y no dejando un tipo de virus en los animales atacados por el mismo, ninguna protección contra el ataque por el otro. Si los hechos hubieran ocurrido en esta última

forma, es decir, que los animales que hubieran pasado una fiebre aftosa no quedaran protégidos contra la otra, habría base para presumir el trasplante al país de un nuevo tipo de virus. Debemos agregar que estas consideraciones son en base a los hechos observados hasta la fecha; pero podría ocurrir que en determinado momento cambiara el panorama, en el sentido de la participación de algún otro tipo de virus.

GRADO DE DIFUSION DE LA ACTUAL EPIZOOTIA. — SU EVOLUCION

Los puntos iniciales de la infección, como lo manifestamos al principio, fueron dentro del país, una zona del departamento de Treinta y Tres y la cuenca lechera del departamento de Canelones, sobre el río Santa Lucía. Aunque las comprobaciones fueron casi simultáneas, resulta presumible que el foco de Canelones tenga relación con el de Treinta y Tres y el de éste a su vez con el de Río Grande del Sur (Brasil).

De los focos de Treinta y Tres y Canelones, la infección se fué extendiendo radialmente; más velozmente en Canelones por la calidad de los establecimientos, principalmente tambos. A su vez el contagio salpicó otros puntos del país, Florida y Durazno, pero siempre partiendo de los puntos inicialmente señalados.

Se está levantando una información minuciosa para verificar con la mayor certidumbre posible el origen de la infección y la irradiación de contagio dentro del país; poseyéndose ya algunos datos muy precisos al respecto, que lo vinculan al transporte de animales aparentemente sanos, en el momento de iniciarse el traslado, en los cuales la enfermedad se hizo visible recién en la marcha o cuando llegaron al destino. Mismo el establecimiento del origen se ha verificado estar aparentemente indemne de enfermedad, en algunos casos, y la infección se hizo visible simultáneamente en él y en la tropa en su nuevo destino. Esto ocurre frecuentemente con la fiebre aftosa, especialmente en las tropas en marcha con enfermedad en incubación, y es un factor que conspira contra el éxito de las medidas sanitarias.

La mortalidad ha sido muy desigual en los diversos establecimientos, muy elevada en algunos hasta llegar a porcentajes altos y baja en otros; pero el promedio dentro de cada zona infestada, incluyendo solamente los establecimientos atacados por la enfermedad, ha oscilado, en un 10 %. Actualmente se ha verificado una tendencia a disminuir la severidad de la infección y la velocidad del contagio, lo que es muy auspicioso.

LOS MEDIOS DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. — SUEROS Y VACUNAS

Nos referiremos exclusivamente a los medios de lucha biológica, es decir, por el uso de sueros, virus y vacunas, para proteger a los animales, desarrollando en ellos un estado de resistencia a la enfermedad.

Desde hace muchos años se conoce y aplica en casi todos los países el llamado suero de Loeffler, que procede de animales hechos "hiper-resistentes" por infecciones sucesivas. Este suero está muy difundido en Alemania donde sirvió de base en forma casi exclusiva, durante muchos años, en la lucha contra la fiebre aftosa; también se usa en proporción importante en otros países europeos y en menor grado en los países sudamericanos, habiendo prestado sin embargo útiles servicios a algunos cabañeros de nuestro país, para proteger los reproductores de valor.

Un suero de buena calidad y en dosis adecuadas protege seguramente al animal, pero en forma limitada, como máximo 10 a 12 días, obligando así en casos necesarios a la repetición frecuente de las inyecciones. Además su preparación es algo costosa y el tratamiento resulta por lo tanto caro. En lugar del suero de Loeffler puede usarse con resultados muy semejantes el suero o la sangre de animales convalecientes, es decir, que hayan pasado la enfermedad doce a quince días, tomándose este plazo a contar del principio en que se hizo aparente la enfermedad. Es un medio de mucho valor en los casos de apremio cuando se considera el contagio inminente, por la proximidad de focos infecciosos, pues la protección del animal se establece inmediatamente. Además resulta mucho más económico que el suero de Loeffler, porque para su obtención sólo se requiere procurarse los animales que han pasado la enfermedad, lo que es sumamente fácil cuando existe en el país.

En la actual epizootia se ha usado este medio con mucho éxito para proteger los terneros, que muestran un índice muy elevado de mortalidad. Los técnicos del Laboratorio de Biología Animal han enseñado la práctica de ese procedimiento en campaña. Por otra parte se podrían hacer grandes almacenamientos en cámaras frigoríficas y mantenerlo como reserva para una eventualidad próxima. Mismo Alemania, país originario del suero de Loeffler, recurre al almacenamiento de suero de convalecientes.

Durante muchos años fué imposible obtener vacunas prácticas para luchar contra la fiebre aftosa, pero nunca fueron detenidas las tentativas para obtener éxito, sobre todo en los institutos europeos. Corresponde en primer término a los sabios franceses Vallé y colaboradores, el gran mérito de haber demostrado la posibilidad de obtener vacunas eficaces contra la fiebre aftosa y sin el peligro de

originar "epizootias de vacunáciones". Esos trabajos de Vallé fueron a su vez basados en trabajos de otro sabio francés, el doctor Ramon, del Instituto Pasteur. Algunos años más tarde el sabio danés Sven Schmidt, realizó nuevos progresos por el uso de sustancias absorbentes y activantes, que confieren a las vacunas un alto poder inmunizante y mayor innocuidad. Este descubrimiento fué el punto de partida de los grandes progresos realizados últimamente en la preparación de vacunas en general y en particular contra la fiebre aftosa.

LA VACUNA WALDMANN-KOEBE. — SU EFICACIA. — CONDICIONES PARA SU PREPARACION

Sobre la base de los descubrimientos que hemos mencionado se trabajó activamente en la preparación de nuevas vacunas contra la fiebre aftosa; primero en Dinamarca en el Instituto Seroterápico que dirige el Prof. Madsen, de renombre mundial, y luego Waldmann y Koebe en Alemania, con direcciones, en los detalles, un poco diferentes. Waldmann y Koebe trabajaron al principio con hidróxido de aluminio proporcionado a su requerimiento por el Prof. danés Sven Schmidt. (He mencionado estos hechos por ser de estricta justicia).

En ambos países se anunció el descubrimiento de nuevas vacunas eficaces; pero la técnica alemana de Waldmann y Koebe prevaleció sobre las demás, por lo menos en el extranjero.

La vacuna Waldmann-Koebe se mostró no peligrosa y sumamente eficaz en los ensayos iniciales sobre 300 animales. Ensayos posteriores hechos sobre 40.678 bovinos confirmaron los primeros resultados y posteriormente fueron extendidos a 100.000 animales. La inmunidad o resistencia queda establecida de un modo completo a los 14 días, aunque indicios de una protección útil aparece ya de los cinco a seis días.

Conforme se tuvo conocimiento en el Uruguay de esos descubrimientos, en el año 1938, la Dirección de Ganadería, a pedido del entonces Laboratorio de Investigaciones, solicitó por intermedio de las respectivas Legaciones, informes a Alemania y Dinamarca, planteando la posibilidad de beneficiar al Uruguay, ya fuere admitiendo el envío de técnicos para su especialización, ya la concertación de un convenio para la remisión de vacuna o su preparación en el Uruguay bajo determinadas condiciones. Las contestaciones fueron recibidas a principio de 1939, los antecedentes obran en el Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería, pero las gestiones posteriores quedaron interrumpidas por la iniciación de la guerra mundial.

POR QUÉ NO HA SIDO PREPARADA AÚN EN EL URUGUAY LA VACUNA WALDMANN-KOEBE

El punto de partida para su preparación es el uso de virus aftosos altamente infecciosos por los vacunos, con el cual se provoca la infección experimental de numerosos animales de la misma especie, de los cuales se extrae a las 24 horas el material infeccioso que sirve de base. Un animal vacuno suministra material solamente para unas 30 dosis de vacuna. En Alemania donde existe el Instituto para la fiebre aftosa más grande y más bien dotado del mundo, con instalaciones para estabular 900 bovinos cada vez, en 1938 sólo podía preparar semanalmente 6.500 dosis; esto fué elevado con nuevas construcciones, hechas con un crédito suplementario de 2.500.000 marcos, a una producción doble.

La producción de 100.000 dosis de vacuna exige manipular por lo menos 3.500 animales vacunos, los cuales deberán ser primeramente inyectados con virus en numerosos puntos de la lengua, empleando algunos investigadores la narcosis previa y luego a las 24 horas retirar el virus, para lo cual se hace imprescindible practicar la narcosis o sacrificar cada animal. Es pues evidente que se necesitan erogaciones importantes, grandes establos para alojar numerosos animales, y lo que es más importante en condiciones de aislamiento riguroso a fin de evitar que la preparación de la vacuna pueda constituir un peligro para la ganadería del país.

Es por estas razones fundamentales y el real sentido de responsabilidad que el Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería, primero en 1939, después en 1942 y nuevamente ahora, solicitó la creación de un Instituto con condiciones adecuadas para preparación de esas vacunas y la encéfalo-mielitis de los equinos, y no obstante estar ese Laboratorio capacitado técnicamente para prepararla, poseer la documentación original de Waldmann, remitida por el propio Waldmann, la del Instituto Seroterápico de Copenhague remitida por su eminente Director Prof. Madsen; de tener conocimiento personal del Instituto de Riems que dirige el Prof. Waldmann, de haber visitado el Instituto Biológico de San Pablo que dirige el Prof. Dr. Rocha Lima y el Instituto de Biología Animal de Río de Janeiro, para tomar conocimientos directos sobre la preparación de la vacuna Waldmann-Koebe, de estar familiarizado con las técnicas para el manejo de los virus de fiebre aftosa; no inició aún la preparación de dicha vacuna y si lo hubiera hecho y realizado ensayos, dentro o fuera del Laboratorio con antelación a la aparición de la actual epizootia de fiebre aftosa, seguramente si hubiera vinculado su origen a esos trabajos, especialmente para los brotos ocurridos en las proximidades de Montevideo y el Director del Laboratorio de Biología Animal hubiera pasado situaciones análogas

a las que han pasado otros investigadores, entre ellos el propio Prof. Loeffler, que fué llevado ante los Tribunales acusado de haber difundido la fiebre aftosa en Alemania y que motivó la instalación en la isla de Riems del Instituto que actualmente dirige el Prof. Waldmann. Iguales procedimientos de seguridad se siguen en Dinamarca, cuyas instalaciones tienen asiento en la isla de Lindholm.

Debo agregar que por esas posibilidades de extender el contagio es imprudente el manejo dentro del país, de virus de procedencia extranjera.

TRABAJOS DEL LABORATORIO DE BIOLOGIA ANIMAL. — COLABORACION TECNICA EN LOS ESTABLECIMIENTOS INFECTADOS

Desde el primer momento que se tuvo conocimiento de los brotos epizoóticos, el Director de Ganadería Dr. Adolfo Baldomir, dispuso y autorizó la participación activa del Laboratorio de Biología Animal, para establecer el diagnóstico preciso y poner en juego los recursos de lucha disponibles. Varios técnicos del Laboratorio inspeccionaron las zonas de infección para hacer el estudio de la enfermedad y recoger material para las investigaciones de laboratorio; pudiendo así arribar al diagnóstico de fiebre aftosa sin perjuicio de continuar la vigilancia de los focos para evitar cualquier sorpresa como podría ser la existencia de una enfermedad exótica.

Se aconsejaron los tratamientos considerados más adecuados y en cuanto a medios preventivos el uso del suero de Loeffler para proteger los animales de valor y en mayor escala la sangre de animales convalescientes.

Pero estos métodos no son adecuados para una protección en gran escala, exigiendo un personal numeroso difícil de preparar para circunstancias de apremio. Fué por esas razones que el Labóratorio de Biología Animal abocado a la necesidad de prestar su más leal y efectiva colaboración a los ganaderos y productores rurales, angustiados por el panorama desolador de una epizootia sin precedentes y cuyas consecuencias no eran previsibles, recurrió a los procedimientos llamados de aftización, únicos utilizables en gran escala en esos momentos, con el fin de aminorar por lo menos las pérdidas. Sobre esa orientación se trabajó en dos direcciones: una utilizando virus procedente de la propia epizootia, dentro de los establecimientos con principio de infección y otro utilizando virus atenuados, incapaces de desarrollar por sí mismos una infección aparente.

Exigido por los ganaderos y las circunstancias, ese virus fué preparado en la mayor escala posible dentro de los recursos y comodidades de instalación disponibles. La entusiasta y desinteresada colaboración del personal técnico y administrativo del Laboratorio, debiendo

destacar especialmente el Subjefe de Sección Dr. Angel Tortorella, permitió la preparación y entrega en pocas semanas de 100 mil dosis.

No se pretendió nunca con el uso de virus atenuado evitar totalmente la enfermedad, mucho más tratándose de una epizootia con caracteres particulares de severidad, sino investigar en qué grado su uso podría aminorar la infección, la gravedad de la misma y las pérdidas.

Los ensayos fueron iniciados en condiciones muy severas, en presencia de la infección, con urgencia, no pudiendo realizarse sino en muy pocos casos un tratamiento completo el cual implica la aplicación de por lo menos dos inyecciones con intervalos de 15 a 20 días.

Han intervenido en estos ensayos numerosos colegas y ganaderos, siendo el balance de los resultados hasta el momento aparentemente favorable, no pudiendo pronunciarnos en forma concreta hasta que no haya sido liquidada la actual pizootia. Oportunamente se producirá un informe circunstanciado y documentado a ese respecto.

Varios equipos del Laboratorio de Biología Animal recorren los establecimientos infectados, difundiendo tratamientos, enseñando técnicas, interviniendo personalmente en los trabajos y recogiendo observaciones y material de estudio. Han intervenido en esos servicios respectivos los Dres. Miguel Espantoso, Carlos Freire Muñoz, Angel Tortorella, José P. de León, J. Apolo Bengoechea, Carlos M. Petruccelli, Santiago Geninazza, Boris Szyfres y Luis A. Barros. Es de lamentar que la falta de medios de locomoción no haya permitido destacar un mayor número de equipos; debiendo señalar la importante colaboración prestada por la Conaprole para facilitar esta labor, habiendo puesto a nuestra disposición en diversas oportunidades vehículos equipados.

NECESIDAD DE ORGANIZAR UN INSTITUTO PARA LA PREPARACION DE LOS MEDIOS BIOLOGICOS DE PREVENCION CONTRA LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ENFERMEDADES A VIRUS, Y A SU VEZ CENTRO DE LUCHA CONTRA ESAS ENFERMEDADES

En resumen, la ganadería del país ha sido invadida por una epizootia de fiebre aftosa, cuya severidad nos era desconocida. Es presumible que otras ondas de igual naturaleza puedan desarrollarse en años sucesivos. Es pues evidente que se debe dotar al país de los instrumentos necesarios para afrontar la lucha con éxito. Igual actitud debe adoptarse frente a otras enfermedades a virus, tales como la peste porcina, que dificulta el progreso de la industria suina y debe precaverse además contra la posibilidad de que enfermedades exóticas, que cabalgan casi sobre nuestras fronteras, puedan hacer incursión en los ganados del país.

Para ello, no existe otra solución que montar debidamente un Instituto que responda a esas necesidades, de los puntos de vista de su equipamiento instrumental, de la formación de numerosos técnicos especializados y con una ubicación y condiciones de construcción, que eviten al máximo la posibilidad de poder difundir el contagio.

Debe agregarse que la Sección Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería, está en condiciones técnicas para asumir la responsabilidad para la inmediata preparación de la vacuna Waldmann-Koebe, contra la fiebre aftosa, disponiendo de los virus adecuados aislados de la propia epizootia, y de los detalles de técnica, no siendo necesario el uso de virus extranjeros, cuya manipulación sería imprudente y podría resultar ineficaz por diferencia del tipo de virus, pero entiendo que deberán llenarse las exigencias en las instalaciones para esa clase de trabajos.

RESUMEN INFORMATIVO COMPLEMENTARIO

Especies atacadas. — La enfermedad se ha desarrollado con severidad, principalmente en los bovinos; aunque se han verificado infecciones generalizadas de los ovinos, pero con un índice de mortalidad casi nulo. En algunos establecimientos la infección habría comenzado por los lanares.

La especie porcina ha sido frecuentemente atacada y ha habido mortalidad elevada en los lechones.

En los bovinos, han muerto de diversas edades, pero se han mostrado en general más sensibles los animales jóvenes: terneros y animales de uno a dos años de edad.

Los animales bovinos que sufrieran ataques anteriores de fiebre aftosa, se han mostrado menos sensibles —y aquellos que sufrieron la aftosa benigna hace dos o tres meses resistieron la infección grave.

Síntomas y lesiones encontradas. — La sintomatología ha sido muy variada. El mayor número de animales, presentan la sintomatología clásica: estado febril, llagas bucales, podales y mamarias. En cada establecimiento o por lo menos en la mayoría, un número reducido de animales ha presentado características particulares: pocas lesiones aparentes, estado de somnolencia o de excitación, síntomas cerebrales de torneo, etc.; estos síntomas han correspondido generalmente a casos mortales.

Frecuentemente se observó constipación intestinal. La disminución de la secreción de la leche fué muy sensible y los análisis arrojan un aumento muy marcado de su contenido en grasa butirométrica.

Lesiones. — Fuera de las llagas localizadas en la boca, miembros y ubre se han observado las siguientes lesiones: fuerte conges-

tión de las meningeas encefálicas, aftas difundidas en el aparato digestivo, principalmente en los pilares del rumen y cuajo. Fuerte congestión intestinal. El hígado ha presentado a veces alteraciones en manchas, vesícula biliar con mucha bilis muy flúida.

En el aparato circulatorio, se han observado casi regularmente lesiones acentuadas de sufuciones sanguineas en el epicardio y endocardio, menos frecuentemente en el miocardo. El corazón aparece generalmente en diástole completa dando la impresión de corazón hipertrófico y repleto de sangre coagulada con firmeza (coágulos muy consistentes).

En el aparato respiratorio las lesiones principales son congestión y edema pulmonar muy intenso. Estas lesiones tienen mucha participación en la mortalidad. Se han observado algunas lesiones degenerativas en el aparato renal y albúmina en la orina.

Virus aislados. — Estudios que se realizan. — Fueron aislados virus de distintas regiones del país, produciendo con ellas la infección experimental en los cobayos.

Se hacen estudios de lesiones de los órganos, citología y química de la sangre.

Se estudiará igualmente la clasificación del virus.

Tratamientos preventivos utilizados. — Se ha utilizado el suero de Loeffler para proteger reproductores de valor, pero en grado moderado por resultar muy caro el tratamiento.

La sangre de animales convalescientes (hemo-prevención) se ha mostrado muy eficaz para proteger los animales y ha sido usada en forma amplia para proteger terneros; a dosis en un c.c. (sangre integral) por cada kilogramo de peso vivo.

La sangre se extrae en condiciones de relativa higiene recibiéndola en solución de citrato de sodio al 10 por ciento; una parte de esta solución y nueve partes de sangre. Esta sangre es empleada en general en seguida de extraída.

Se han hecho ensayos variados de hemo-aftización, en dos direcciones:

a) Con sangre de animales naturalmente enfermos, y
b) con sangre de virus atenuado preparado por el laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería.

La sangre de los animales en principio de infección es recibida en cuatro partes de agua destilada para realizar la hemolosis y liberar el virus globular. Se inyecta de dos a cinco centímetros cúbicos de la mezcla, según el tamaño de los animales y siempre subcutáneamente.

El virus del Laboratorio de Biología Animal es un virus modificado por pasajes por cobayos y se prepara en gran escala inyec-

tando cada vez a corderos con virus de cobayos no se hacen repiques de oveja a oveja. La sangre de los corderos retirados en momentos apropiados, es aplicada al ganado, a la dosis de 3 c.c. para cada animal grande, repitiéndose la inyección a los 15 o 20 días.

En pocas semanas el mencionado Laboratorio ha suministrado 100.000 dosis de ese virus.

Los resultados son aparentemente favorables y un informe circunstancial será elaborado al término de los trabajos.

El Laboratorio manda a las zonas infectadas, técnicos de su dependencia para aplicar esos métodos y enseñar las técnicas de inyecciones a los ganaderos.

Se han hecho algunas aplicaciones muy limitadas de vacuna Waldmann de origen argentino.

Tratamiento curativo. — Se han aconsejado numerosos tratamientos, siendo muy difundido el uso de la tripaflavina intravenosa, solución al 2 % en dosis de 10 a 40 c.c., según tamaño del animal. También se ha usado en gran escala la solución fenicada indicada por el profesor Terni de Milán (alcohol a 95º 100 cc. a agua destilada 100 c.c., éter sulfúrico 100 c.c. y ácido fénico cristalizado 15 gr.), en dosis subcutáneas de 7 a 30 c.c., según tamaño. Muy difundido también el uso de sulfato de sodio mezclado con bicarbonato de sodio, 4 partes y parte respectivamente, hasta dosis de 500 gramos.

Subsidiariamente han sido usados tónicos cardíacos y sangrías en casos graves, con supuesto edema pulmonar.

El Laboratorio de Biología Animal ha facilitado todas las fórmulas e instrucciones para su aplicación.

Difusión de la epizootia. — La epizootia ha tenido una difusión restringida, afectando solamente algunos departamentos: Canelones, Florida, San José, Flores, Durazno, Cerro Largo, Treinta y Tres y Minas, y solamente algunas regiones dentro de cada departamento.

Aun no ha sido terminado el censo completo de la epizootia, pero puede calcularse la muerte de 20.000 animales, representando el 10 % como promedio dentro de la población animal afectada.

Evolución de la epizootia. — Salvo algunos brotes nuevos irradiados en lugares próximos a los focos, se tienen datos que la epizootia declina en su contagio y severidad.

La creación de un Instituto para luchar contra la fiebre aftosa. — El Ministerio de Ganadería y Agricultura, tomó iniciativa para fundar un Instituto importante, destinado a luchar contra la fiebre aftosa y otras enfermedades o virus. El Consejo de Ministros aprobó recientemente ese proyecto que pasará a ser considerado por el Parlamento Nacional.

IDENTIFICACION DEL TIPO DE VIRUS RESPONSABLE DE LA EPIZOOTIA DE AFTOSA MALIGNA DE 1943-44

(CON LA COLABORACION DE LOS DRES. A. TORTORELLA Y B. SZYFRES)

Trabajo presentado al III Congresso Brasileiro de Veterinaria. — Porto Alegre, Octubre de 1945

Esta comunicación, cuya publicación fué demorada por el fallecimiento de uno de sus autores, Prof. Miguel C. Rubino, tiene por objeto dar a conocer el curso de los ensayos realizados para catalogar el tipo de virus causante de la epizootia de aftosa, que tan severamente castigó los rebaños de la República Oriental del Uruguay, en 1943-44.

Ante el estallido de la epizootia de aftosa, de carácter maligno, a fines del año 1943, se planteó el problema de conocer el tipo o los tipos de virus, responsables de la misma. Hubo necesidad de solucionar esta interrogante, para así poder preparar los medios preventivos inmunizantes, de una manera adecuada.

No disponiendo de cepas patrones para efectuar este estudio, la primera etapa de nuestras investigaciones consistió esencialmente en averiguar lo que considerábamos era de un interés práctico inmediato, a saber: 1.º) Comprobar si las cepas Nos. 5 y 14 (procedentes de epizootias anteriores), con las cuales el Laboratorio de Biología Animal prepara el "virus de la hemoaftización" (virus modificado por pasaje en cobayos) eran del mismo tipo o no, a las que intervenían en la epizootia y 2.º) comprobar si la epizootia está a cargo de uno solo o de más tipos de virus.

CONFRONTACION DE DISTINTAS CEPAS DE LA EPIZOOTIA MALIGNA

Habiendo constatado, en un ensayo previo, que las cepas 5 y 14 obtenidas, como ya lo habíamos manifestado, en epizootias de años anteriores, eran iguales en su comportamiento antígeno, de acuerdo a los tests de inmunidad cruzada efectuados en cobayos, hemos elegido una de ellas, la N.º 5, para confrontarla con las cepas de la aftosa maligna que castigaba el país.

De las cepas de la epizootia maligna, hemos elegido la N.º 17, para confrontarla a otras de esta epizootia (las Nos. 18, 20, 21 y 24), y a la N.º 5. Las cepas de la epizootia maligna fueron aisladas en distintas épocas y proceden de varios departamentos de la República. Todas ellas fueron adaptadas al cobayo, hasta dar —de una manera constante— lesiones de aftosa generalizada (en patas y ma-

nos), a las 48-72 horas de la inoculación, por vía intradérmica, en unos de los metatarsos. Las reinoculaciones, para el estudio de inmunidad cruzada, se realizaron al término de un mes o más, cuando hubo completa cicatrización de las aftas. En cada uno de los ensayos se usaron cobayos controles para comprobar la actividad de la dilución del virus empleado. Las pruebas fueron hechas en ambos sentidos, es decir, cobayos inoculados con virus A fueron reinoculados con virus B y viceversa.

A continuación resumimos los resultados obtenidos, en esta etapa previa, que demuestra que la epizootia maligna estaba a cargo de un solo tipo de virus y que éste era distinto al de las cepas 5 y 14, con las cuales preparábamos hasta aquel entonces el "virus de hemoaftización", el que fué ensayado con éxito en onda de fiebre aftosa en años anteriores:

CUADRO 1

N.º ensayo	Grupos de cobayos inoculados con	Reinoculación con	Resultado del cruzamiento	Conclusiones
1.	Cepa 5	X cepa 17	cepa 5 ≠ cepa 17	5 ≠ 17.
	Cepa 17	Cepa 5	cepa 17 ≠ cepa 5	
	Cepa 5	Cepa 5	cepa 5 = cepa 5	
	Cepa 17	Cepa 17	cepa 17 = cepa 17	
2.	Cepa 18	Cepa 17	cepa 18 = cepa 17	18 = 17.
	Cepa 17	Cepa 18	cepa 17 = cepa 18	
	Cepa 18	Cepa 5	cepa 18 ≠ cepa 5	
	Cepa 5	Cepa 18	cepa 5 ≠ cepa 18	
	Cepa 18	Cepa 18	cepa 18 = cepa 18	
3.	Cepa 20	Cepa 20	cepa 20 = cepa 20	20 = 17.
	Cepa 20	Cepa 17	cepa 20 = cepa 17	
	Cepa 20	Cepa 5	cepa 20 ≠ cepa 5	
4.	Cepa 20	Cepa 21	cepa 20 = cepa 21	21 = 17.
5.	Cepa 24	Cepa 5	cepa 24 ≠ cepa 5	24 = 17.
	Cepa 24	Cepa 17	cepa 24 = cepa 17	
	Cepa 24	Cepa 27	cepa 24 = cepa 24	

Explicación de los signos: = inmuniza.
≠ no inmuniza, provocando aftosa generalizada.

De este cuadro se desprende, que las cepas 18, 20, 21 y 24, procedentes de los departamentos Canelones, Treinta y Tres y Cerro Largo, protegen a los cobayos contra una segunda inoculación con la cepa 17, es decir, que hay que considerarlas como pertenecientes al mismo tipo de virus. El virus 5, en cambio, se mostró diferente a

todas ellas, provocando lesiones generalizadas de aftosa, en los cobayos preparados con la cepa de la epizootia maligna.

IDENTIFICACION DE TIPO

Habiendo recibido, por gentileza del Sr. Director del Instituto Anti-aftoso de Porto Alegre, Prof. Sílvio Tôrres —a quien expresamos aquí nuestro agradecimiento— las cepas originales de Vallee (pasajes por cobayos), para la tipificación de los virus aftosos, nos hemos abocado a la clasificación del virus responsable de la epizootia 1943-44.

En el cuadro que insertamos a continuación, resumimos los resultados obtenidos en los ensayos de inmunidad cruzada efectuados en cobayos, con los virus 17, 21, 22, 23, 24 y 25 de la epizootía maligna y los virus A, O, C de Vallee.

CUADRO 2

N.º ensayo	Grupo de Cobayos inoculados con	Reinoculados con	Resultado del Cruzamiento	Conclusiones
1	Cepa O	Cepa 17	Cepa O ≠ Cepa 17	C = 17.
	Cepa A	Cepa 17	Cepa A ≠ Cepa 17	
	Cepa C	Cepa 17	Cepa C = Cepa 17	
2	Cepa 21	Cepa A	Cepa 21 ≠ Cepa A	21 = C.
	Cepa 21	Cepa O	Cepa 21 ≠ Cepa O	
	Cepa 21	Cepa C	Cepa 21 = Cepa C	
3	Cepa 22	Cepa C	Cepa 22 = Cepa C	22 = C.
	Cepa 22 (X C)	Cepa A	Cepa (22 X C) ≠ Cepa A	
4	Cepa 23	Cepa A	Cepa 23 ≠ Cepa A	23 = C.
	Cepa 23	Cepa O	Cepa 23 ≠ Cepa O	
	Cepa 23	Cepa C	Cepa 23 = Cepa C	
5	Cepa 24	Cepa O	Cepa 24 ≠ Cepa O	24 = C.
	Cepa 24 X 17	Cepa C	Cepa 24 X 17 = Cepa C	
6	Cepa 25	Cepa C	Cepa 25 = Cepa C	25 = C.
	Cepa 25 X C	Cepa O	Cepa 25 X C ≠ Cepa O	
	Cepa 25 X C	Cepa A	Cepa 25 X C ≠ Cepa A	

Explicación de los signos: = inmuniza.
≠ no inmuniza, provocando aftosa generalizada. Cepa 24 X 17, Cepa 25 X C, etc. — Cobayos inoculados y reinoculados con Cepas del mismo tipo de virus y luego reinoculados por 3.ª vez.

De estos ensayos resulta que las 6 cepas estudiadas corresponden al tipo C. de Vallee. Lo mismo se puede afirmar de las cepas 18 y 20, pues de las experiencias anteriores (ver Cuadro 1), se desprende que pertenecen al mismo tipo antigénico que la cepa 17, es decir, al tipo C.

Destacamos también que las 8 cepas proceden de distintos departamentos del país, castigados por la fiebre aftosa de carácter maligno y que los epitelios fueron recogidos en distintas épocas de la epizootía.

Realizamos también —aunque en forma reducida— ensayos de inmunidad cruzada en bovinos, entre los virus de la epizootía maligna y los virus tipo que nos fueron gentilmente remitidos por la Research Station de Pirbright (tipos A, O y C, pasajes por bovino), obteniendo resultados análogos a los de los cobayos.

RESUMEN

Confrontando entre ellas las diversas cepas aisladas, en distintos departamentos de la República y en épocas correspondientes al comienzo, apogeo y declinación de la onda epizóotica de fiebre aftosa, de carácter maligno, del año 1943-44 hemos llegado a la conclusión que en ella intervino un solo tipo de virus. Este virus fué identificado como tipo C de la clasificación de Vallee.

(Trabajo del Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería del Uruguay).

LA DIFTERIA EN EL URUGUAY (1)

Por los Dres. J. E. MOREAU, J. J. LEUNDA y M. C. RUBINO. (Con la colaboración del Dr. A. TORTORELLA)

Laboratorio "Jenner" — Montevideo (Uruguay)

En la sesión celebrada por la Sociedad de Pediatría el 27 de Junio de 1928, uno de nosotros adelantó algunos informes sobre estudios que realizábamos en aquella oportunidad, aprovechando la epidemia reinante y prometiendo presentar en una reunión posterior un trabajo más completo.

Nuestro trabajo tuvo como fin estudiar la bacteriología de la difteria reinante, en momentos en que se le atribuía cierta evolución maligna.

Tratamos de averiguar si esas formas malignas eran debidas a asociaciones o a cepas especiales del bacilo de Loeffler. Para nuestro trabajo aprovechamos el material que nos proporcionaba el Pabellón de Infecto-Contagiosos del Hospital "Dr. P. Visca".

PLAN SEGUIDO

De todo enfermo, clínicamente diftérico o sospechoso de serlo, se hacía la toma del material de las lesiones, para exámenes directos y cultivos en diversos medios de elección, con dos fines principales: el del diagnóstico y el del estudio de la flora microbiana.

Aprovechamos este material para aislar el bacilo de Loeffler y estudiar su poder toxígeno, que estimamos de gran importancia, dado que no hay ninguna referencia sobre esas cualidades de la difteria, en nuestro país.

Este estudio se nos presentó más importante cuando comprobamos que, contrariamente a las ideas corrientes, no encontramos asociaciones microbianas que explicaran la malignidad de ciertos casos. Además, se siguió la historia clínica de todos los enfermos, haciendo hemo-cultivos cuando la marcha clínica hizo sospechar la existencia de un estado septicémico.

Practicamos también algunas autopsias.

---

(1) Comunicación a la Sociedad de Pediatría de Montevideo. Sesión del 28 de Junio de 1929.

FLORA MICROBIANA

Pasaremos a exponer los resultados de los exámenes directos y luego de los cultivos, para continuar después con el estudio de la toxicidad de las cepas aisladas.

En 80 casos examinados hemos encontrado, asociada a los tres tipos del bacilo de Loeffler, la flora habitual de las amígdalas, aumentada en 38 casos y disminuída en 21 casos, debido, probablemente al tratamiento local por medio de toques antisépticos. Dicha flora estaba formada principalmente, por el enterococo, el neumococo, el micrococo *catarralis*, el estafilococo, el estreptococo y, además, con alguna frecuencia (9 casos), espirilos y bacilos fusiformes (1) pero, en ningún caso hemos podido comprobar la predominancia definida de éstos últimos en forma que pudiera atribuírseles un rol patógeno en el proceso; salvo en dos casos en los que se comprobó una asociación fuso-spirilar correspondiendo a una angina de Vincent, en uno, y un estreptococo hemolítico, en otro, correspondiendo a una escarlatina. — En cuanto a los bacilos de Loeffler — se entiende que en los casos comprobados de difteria, — se han encontrado los tres tipos clásicos: largo, mediano y corto, en riqueza muy variable, siendo en general más bien reducida. En 7 casos no encontramos formas caracterizables; correspondiendo, algunas veces, a formas clínicamente definidas de difteria y mismo a formas graves. Esto demuestra claramente la poca certeza que debe acordarse al examen directo, en algunos casos de difteria; pero, debemos agregar que, en la mayoría, es posible encontrar formas características del bacilo de Loeffler, que permiten establecer una fuerte presunción en favor de la difteria.

En algunos enfermos nos hemos encontrado con una gran predominancia del bacilo de Loeffler sobre la otra flora, dando la impresión de encontrarse frente a una cultura. En cuanto a los distintos tipos de bacilo de Loeffler, los hemos encontrado con la siguiente frecuencia: Loeffler largo, 28 casos; mediano, 37 casos; corto, 6 casos. — En 10 casos se ha encontrado simultáneamente el bacilo de Hoffman. Debemos agregar, que para todos estos exámenes hemos seguido una técnica escrupulosa, practicando la toma del material en los puntos de elección.

CULTIVOS

Medios utilizados. — Al lado del medio de cultivo clásico, suero de bovino coagulado, hemos utilizado otros medios auxiliares; entre ellos, el suero de Loeffler coagulado, la gelosa-sangre y la gelosa

(1) Se refieren a la comprobación de uno y otro elementos en las preparaciones.

glucosada. Hemos ensayado, igualmente, algunos medios especiales como el de Costa al que se le atribuye un gran valor para el diagnóstico precoz. El clásico suero coagulado de bovino y el suero de Loeffler coagulado, se nos mostraron muy fieles para el diagnóstico de la difteria. En el suero de Loeffler coagulado los cultivos son bastante más abundantes que en el primero; pero, no tienen ventaja sobre el mismo en la electividad para el bacilo de Loeffler. En general, nosotros pudimos hacer el diagnóstico con estos medios, entre las 12 y 18 horas de cultivados. La gelosa-sangre se nos mostró como un medio de cultivo de mucho valor, el crecimiento del bacilo de Loeffler es muy rápido y más abundante que en los medios anteriores. Con este medio se podría hacer un diagnóstico más precoz que con el suero coagulado, pero ofrece el inconveniente de su menor electividad para el bacilo de Loeffler permitiendo, al mismo tiempo, el crecimiento de la flora agregada, lo que no sería de mayor importancia si no fuera que los bacilos de Loeffler adquieren formas menos características, presentándose más largos y gruesos que en los otros medios; morfológicamente diferenciables de algunos difterimorfos y, especialmente, de uno, a Gram positivo, esporulado, que suele encontrarse en algunos exudados faríngeos y que es de crecimiento muy abundante.

NORMA DE DIAGNOSTICO POR LOS CULTIVOS

Utilizamos el suero de bovino coagulado o el de Loeffler, indistintamente y, además, la gelosa-sangre como medio auxiliar de los cultivos. Los exámenes los hacemos, el primero entre las 12 y 18 horas, el segundo a las 24 horas y el tercero a las 48 horas. — En casos de difteria, los cultivos se nos mostraron generalmente positivos entre las 12 y las 18 horas. Por excepción, un caso negativo en el primer examen resultó positivo en las horas posteriores; sin embargo, siempre dimos los resultados como negativos, cuando así resultó a las 48 horas de cultura. La gelosa-sangre fué siempre un excelente auxiliar, dado que sus resultados negativos tienen un gran valor en el sentido de la ausencia de difteria, descartando algunas dudas que pueden presentarse en los medios de suero coagulado, sobre todo en las primeras horas, en que el examen microscópico puede revelar algunas formas dudosas, que por su escasa cantidad hacen dudar entre un cultivo muy pobre o incipiente o unidades microbianas de simples difterimorfos de la siembra; sobre todo cuando ésta ha sido abundante. En cuanto al criterio seguido para catalogar de positivos o negativos los casos examinados, ha sido el siguiente: examen a las 12 horas a las 18 horas, a las 24 horas y a las 48 horas. — Si en este último período no aparecen bacilos de Loeffler, el resultado es negativo. — Sin embargo, para los diagnós-

ticos definitivos a que hacemos referencia en el presente trabajo, hemos utilizado también el estudio de las reacciones bioquímicas, sobre todo la acción fermentativa sobre los azúcares y, además, el estudio del poder toxígeno, en la forma que indicaremos más adelante.

ACCION FERMENTATIVA

El estudio de estas propiedades solo se puede hacer sobre las cepas microbianas absolutamente puras, dado que muchas son las especies bacterianas que pueden presentar esa propiedad; de manera pues, que este estudio no es aplicable para los diagnósticos habituales de la clínica, dadas las dificultades y el tiempo que exige el aislamiento del bacilo de Loeffler, a partir de los cultivos siempre muy impuros de los exudados faríngeos, pero tiene gran valor como método de estudio para identificar claramente los bacilos de Loeffler, separándolos del grupo de difterimorfos, con los que son fácilmente confundibles. El estudio de estas propiedades es absolutamente necesario cuando se quiere, por ejemplo, estudiar el poder toxígeno para eliminar algunos difterimorfos a los que se les podría atribuir el carácter del Loeffler no toxígeno. Entendemos pues, que para afirmar la existencia del Loeffler no toxígeno, como se ha hecho muchas veces, es necesario haber establecido antes el carácter de verdadero bacilo de Loeffler, para lo cual creemos imprescindible el estudio de las acciones fermentativas. Todas las cepas estudiadas por nosotros han sido perfectamente indentificadas utilizando estas propiedades. — En las acciones fermentativas atribuídas al bacilo de Loeffler hay, para algunos azúcares, diferencias apreciables, según los autores. — En cuanto a la glucosa, todos los investigadores están de acuerdo: el bacilo de Loeffler la fermenta con formación de ácido. Los difterimorfos habituales de la garganta no la fermentan; pero, en cambio, la fermenta en forma análoga al bacilo de Loeffler, el bacilo *cutis comunis*.

En cuanto a los otros azúcares, hay algunos diferentes. Según Martín, (citado por Christiansen) el bacilo de Loeffler forma ácido en el caldo con dextrosa, levulosa, sacarosa, glicerina y galactosa, mientras que no lo hace con el glucógeno, el almidón, la lactosa, la maltosa, la rafinosa. — Las mayores semejanzas se encuentran entre el bacilo de Loeffler y el bacilo *cutis comunis* para unos, *xerosis* para otros; pero, felizmente éste no es huésped habitual de la buco-faringe del hombre. — Las únicas diferencias existentes serían las siguientes: el bacilo de Loeffler fermenta la dextrina, y no la sacarosa; el bacilo *cutis comunis* fermenta la sacarosa, pero no la dextrina. — Nosotros no hemos ensayado con dextrina por no haberla encontrado en plaza; por otra parte, es poco probable la ob-

tención de resultados regulares con ese producto, dado que se trata de una mezcla de varias especies de hidratos de carbono y no de una especie químicamente difinida. — Es probable que los resultados irregulares obtenidos por los distintos investigadores se deban, fuera de la pureza química de los azúcares utilizados, al método seguido; pues se han utilizado distintos reactivos indicadores para el viraje ácido y no se ha establecido bien el punto de partida para determinar la acidificación del medio. Nosotros creemos que es de importancia fundamental precisar bien las condiciones de las experiencias, en cuanto al punto inicial y terminal de las reacciones e igualar las concentraciones de los azúcares y que sería imprescindible expresar las reacciones por el pH. — Nosotros hemos seguido la siguiente técnica: *medio de cultivo:* hemos utilizado el agua-suero, con indicador de Andrade. — Para preparar el indicador Andrade (Standard Methodes-Wadiworth pág. 102) se disuelve

Fuchsina ácida (5)	2 gr. 50.
Agua destilada	1000 c.c.
Solución N. de soda	160 c.c.

Está fundado en que la fuchsina ácida es transformada en una *leucobase* por la acción de la soda, que recolora por acidificación del medio. — El medio completo se prepara de la siguiente manera:

Agua destilada	80 c.c.
Suero de caballo	20 c.c.
Indicador de Andrade	1 c.c.

Se disuelve el suero en el agua y se calienta al baño-maría; ebullición 20 minutos; se añade el indicador y se enfría a la temperatura ambiente. — En una porción de 10 c.c. se titula con ácido clorhídrico N/10, hasta pH 6.8, con el rojo fenol como indicador; se calcula la cantidad de ácido a agregar para el total del medio a preparar y se agota con ácido clorhídrico, solución n/10. Se distribuye en tubos de ensayo por porciones medidas de 4 c.c. y medio o de 9 c.c., según se desea. Los azúcares se preparan en soluciones al 10 %, por separado y se envasan en ampollas de ½ c.c. o de 1 c.c. y se esterilizan a 100°, 1 hora, durante tres días; después se incorporan a los tubos del medio, a razón de ½ c.c. para los tubos de 4 ½ c.c. o de 1 c.c. para los de 9 c.c. Los medios quedan, así, al 1 % de azúcares. Las fermentaciones intensas, en el sentido ácido, se caracterizan por la aparición del color rojo y la coagulación del medio; la fermentación débil, por un ligero tinte rosado. — Con este método, nosotros hemos obtenido resultados completamente regulares que exponemos en el siguiente cuadro:

BACILOS DE LOEFFLER

Cepa N.º	*Glucosa*	*Levulosa*	*Sacarosa*	*Maltosa*
1	+ + + +	— —	— —	— ±
2	+ + + +	— —	— —	— ±
3	+ + + +	— —	— —	— ±
4	+ + + +	— —	— —	— ±
5	+ + + +	— —	— —	— ±
6	+ + + +	— —	— —	— ±
7	+ + + +	— —	— —	— ±
8	+ + + +	— —	— —	— ±
9	+ + + +	— —	— —	— ±
10	+ + + +	— —	— —	— ±
11	+ + + +	— —	— —	— ±
12	+ + + +	— —	— —	— ±
13	+ + + +	— —	— —	— —
14	+ + + +	— —	— —	— ±
15	+ + + +	— —	— —	— ±
16	+ + + +	— —	— —	— ±
17	+ + + +	— —	— —	— ±
18	+ + + +	— —	— —	— ±
19	+ + + +	— —	— —	— ±
20	+ + + +	— —	— —	— —
21	+ + + +	— —	— —	— ±
22	+ + + +	— —	— —	— —
23	+ + + +	— —	— —	— ±
24	+ + + +	— —	— —	— —

BACILOS DIFTERIMORFOS

Cepa N.º	*Origen*	*Glucosa*	*Levulosa*	*Sacarosa*	*Maltosa*
1	Uretra	— —	— —	— —	— —
2	"	— —	— —	— —	— —
6	"	— —	— —	— —	— —
8	Vagina	— +	— —	— —	— +
11	Faringe	— —	— —	— —	— —
13	Fecal	— —	— —	— —	— —
15	Faringe	— —	— —	— —	— —
17	Biliar	— —	— —	— —	— —
19	Faringe	— —	— —	— —	— —
20	"	— —	— —	— —	— —

El signo (+) corresponde a la fermentación ácida y el número de ellos indica el grado de intensidad; el signo (±) corresponde a un ligero tinte rosado, indicio dudoso de fermentación ácida.— Dentro de cada columna el signo a la izquierda corresponde

a la lectura a las 24 horas, el de la derecha a la lectura a las 48 horas de cultivo.

Por la lectura de los cuadros se observará que todas las cepas de bacilos de Loeffler fermentaron la glucosa intensamente dentro de las 24 horas y la mayoría de ellos dieron indicios ligeros de fermentación a las 48 horas, en el medio maltosado. En cambio, de los difterimorfos ninguno fermentó los azúcares en las 24 horas y a las 48 horas solo la cepa N.º 8 dió indicios de fermentación en la glucosa y maltosa, sin coagulación del medio. — Es indudable que los resultados son positivos o negativos tomando como base el indicador; pero, es muy probable que con un indicador de viraje de pH más alto, (menos ácido) los resultados podrían ser distintos. — De todos modos, aparece claramente que la acción fermentativa del bacilo de Loeffler, en las condiciones en que hemos operado, se manifiesta intensamente en la glucosa y después en la maltosa.

ESTUDIO DEL PODER TOXIGENO DE LAS CEPAS AISLADAS EN EL URUGUAY

Hemos aislado en condiciones de poder estudiar bien sus caracteres, 26 cepas de bacilos de Loeffler, la casi totalidad procedentes de la epidemia de 1928. Los cultivos los hemos mantenido en suero coagulado y medio Park Williams. Estos últimos, para el estudio del poder toxígeno.

Tipo morfológico de las cepas. — Aunque estamos de acuerdo con la mayoría de los investigadores en lo artificial y el poco valor de las dimensiones para la catalogación de las cepas de difteria, dado que no se presentan en formas puras; no obstante, hemos intentado hacer una clasificación para averiguar si había alguna relación con el poder toxígeno. Para ésto hemos tomado como base los cultivos de 24 horas, en suero coagulado, que es el medio clásico; evitando los resultados discordantes, dadas las variaciones morfológicas de los bacilos diftéricos en los distintos medios de cultura, según lo hemos expuesto para la gelosa - sangre y comprobado, también; para los medios glucosados, en los que se desarrollan de un modo exhuberante. En cambio, en el medio líquido Park Williams han predominado las formas medianas. Para la clasificación hemos adoptado las siguientes dimensiones dadas por Besson: bacilos cortos, coco - bacilos midiendo de 1 a 2 micrones de largo; bacilos medianos, midiendo de 3 a 4 micrones de largo; bacilos largos, midiendo de 4 a 5 micrones o más, de larga.

CUADRO QUE REUNE LAS OBSERVACIONES

Cepa N.º	*Tipo Morfológico*	*Cepa N.º*	*Tipo Morfológico*
3	Formas medianas y largas; predominan las medianas.	13	Formas largas y medianas.
4	Formas medianas y largas; predominan las medianas.	14	Formas largas y medianas.
5	Formas medianas.	15	Formas medianas, cortas y medianas.
6	Formas medianas y largas; predominan las medianas.	16	Formas tipo largo.
7	Formas medianas.	17	Formas cortas y medianas.
8	Formas medianas.	18	Formas medianas.
9	Formas medianas.	19	Formas medianas.
10	Formas medianas.	20	Formas medianas.
11	Formas medianas y largas; predominan las medianas.	21	Formas cortas y medianas.
12	Formas cortas y medianas;	22	Formas medianas.
		23	Formas largas.

ESTUDIO DEL PODER TOXIGENO — CONDICIONES DE LAS EXPERIENCIAS

Preparación de las toxinas. — Medio de cultivo. — Hemos utilizado el medio de Park Williams (Murillo pág. 32) con la modificación de la eliminación de los azúcares por la levadura de cerveza. Resumimos la preparación: carne de ternera, desengrasada, picada, 500 gramos; agua, 1 litro; 100 gramos de levadura de cerveza fresca contenida en un trozo de género, formando una muñeca y el todo se coloca dentro de la infusión de carne; se pone a fermentar en la estufa a 37 grados, una hora; calentamiento primero y después ebullición; filtración por gasa, para separar la carne; agregar 20 gramos de peptona Whitte y 5 gramos de sal común; ajustage de la reacción. — Autoclave, filtración, distribución y esterilización al autoclave. — En cuanto a la reacción del medio, al principio, adoptamos la de una acidez a la fenoleftaleína, equivalente a 5 c.c. de solución normal ácida, por litro; después adoptamos el pH 7.4. — Para la preparación de las toxinas se hicieron los cultivos, en ese medio, en tubos de ensayo, angostos de 7 a 8 mm. de diámetro, con 4 centí-

metros de caldo, en altura; 9 días de cultura a 37 grados. — Cuando la toxina no era inoculada inmediatamente, se cubría con vaselina líquida y se conservaba en la heladera. Los cultivos nunca fueron esterilizados, ni filtrados.

Para las inoculaciones se utilizaron las siguientes concentraciones:

1.ª	Toxina pura		
2.ª	Suero fisiológico	19. c.c.	valor 1. c.c. = 0. c.c. 050
	Toxina	1. c.c.	
3.ª	Suero fisiológico	24.5 c.c.	valor 1. c.c. = 0. c.c. 020
	Toxina	0.5 c.c.	
4.ª	Suero fisiológico	49.5 c.c.	valor 1. c.c. = 0. c.c. 010
	Toxina	0.5 c.c.	

Las diluciones se hicieron siempre en el momento de inyectarlas, utilizando material aséptico y medidas controladas. Las jeringas utilizadas fueron igualmente controladas en su capacidad. Se utilizaron cobayos de 200 a 300 gramos de peso. Las inoculaciones subcutáneas se hicieron en la región inguinal. Los cobayos muertos, fueron siempre autopsiados para comprobar si tenían lesiones específicas. Las dosis mínimas mortales fueron siempre repetidas, para descontar la intervención de factores individuales o incidentales. Debemos agregar, igualmente, que las pruebas del poder toxígeno se hicieron, en muchas cepas, después de varios meses de aisladas y durante ese plazo fueron conservadas en medio líquido (caldo Park Williams) repicándolas frecuentemente. Quizá ésto pudiera tener alguna influencia sobre el alto poder toxígeno encontrado en varias cepas. Para asegurarnos de las condiciones de los cultivos para la producción de toxina, generalmente hicimos, al mismo tiempo, el cultivo de dos cepas toxígenas Pasteur y Rockefeller, procedentes del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene Argentino. Como se verá por los resultados, estas cepas no muestran mayor poder toxígeno frente a las aisladas por nosotros, debido a que lo han perdido en parte, dado que, primitivamente, sus toxinas mataban a las dosis que oscilaban entre 0. c.c. 004 y 0. c.c. 005.

CUADRO QUE RESUME LOS RESULTADOS

Cepa N.º	Dosis mortal	Dosis no mortal	Cepa N.º	Dosis mortal	Dosis no mortal
Rockefeller	0. c.c. 010	0. c.c. 005	15	0. c.c. 010	0. c.c. 005
Pasteur	0. c.c. 010	0. c.c. 005	16	0. c.c. 020	0. c.c. 010
3	0. c.c. 010	0. c.c. 005	17	0. c.c. 050	0. c.c. 020
4	0. c.c. 010	0. c.c. 005	18	0. c.c. 050	0. c.c. 025
5	0. c.c. 010	0. c.c. 005	19	0. c.c. 020	0. c.c. 010
6	0. c.c. 010	0. c.c. 005	20	0. c.c. 050	0. c.c. 025
7	0. c c. 020	0. c.c. 010	21	0. c.c. 020	0. c.c. 010
8	0. c.c. 010	0. c.c. 005	22	0. c.c. 050	0. c.c. 025
9	0. c.c. 020	0. c.c. 010	23	0. c.c. 050	0. c.c. 025
10	0. c.c. 020	0. c.c. 010	24	0. c.c. 020	0. c.c. 010
11	0. c.c. 020	0. c.c. 010	26	0. c.c. 050	0. c.c. 020
12	0. c.c. 020	0. c.c. 010	27	0. c.c. 020	0. c.c. 010
13	0. c.c. 020	0. c.c. 010	28	0. c.c. 050	0. c.c. 020
14	0. c.c. 020	0. c.c. 010	29	0. c.c. 010	—

Resumen. — Sobre 26 cepas estudiadas, con exclusión de las Rockefeller y Pasteur, 7 cepas mataban con 0. c.c. 010; 13 con 0. c.c. 020 y 7 con 0. c.c. 050, lo que representa un elevado poder toxígeno para la difteria del Uruguay. No se ha comprobado ninguna relación precisa entre el tipo morfológico (corto, mediano y largo) y el poder toxígeno, aunque entre las cepas estudiadas no figura ningún Loeffler de tipo corto solamente.

HISTORIAS CLINICAS CORRESPONDIENTES A LAS TOXINAS ESTUDIADAS

Virus núms. 3 y 4

J. M. R. — Angina diftérica en un niño de 7 años, que evoluciona en 48 horas con tratamiento sueroterápico (80 c.c.). Sin complicaciones. El tratamiento se inició inmediatamente de aparecer las membranas faríngeas.

Virus núm. 5

P. C. — Mayo 8 de 1928. — Niño de 2 años. Hace cinco días que está febril e incomodado. El día 7 se notan membranas en la faringe y disfagia. Niño chico, nutrición buena. Ganglio de Chassaignac izquierdo, muy duro. En la garganta se ve un exudado membranoso sobre las dos amígdalas y la úvula. Fiebre: 38°; pulso un poco arrítmico. — Evolución y tratamiento: Se le inyectaron, al ingresar, 50 c.c. de suero antidiftérico por vía subcutánea, 30 c.c. por vía intramuscular y ½ c.c. de anatoxina diftérica. El niño se encuentra pálido, con disnea expiratoria y bradipnea. Regurgita los líquidos por la nariz. No se alimenta casi. Adenopatía discreta. Las membranas abarcan ambas amígdalas, la úvula y el velo del paladar.

Mayo 11. — Sigue muy grave, no se alimenta, la temperatura llega a 40°. Garganta limpia.

Mayo 12. — Pulso uniforme; sigue muy mal. Fallece el 13 de Mayo.

Virus núm. 6

I. G. — Julio 2 de 1928. — Niña de tres años. Inicia su enfermedad el 30 de Junio con chuchos y fiebre; el 1.° de Julio aparecen placas en islotes en ambas amígdalas; adenopatía discreta bilateral. — Evolución y tratamiento: Se inicia con 20 c.c. de suero antidiftérico por vía subcutánea, el 1.° de Julio; el 2 de Julio se dan 40 c.c. por vía intramuscular. Alta el 18 de Julio.

Virus núm. 7

E. W. G. — Junio 17 de 1928. — Niño de 6 años. Desde ayer está con tos ronca y apagada; voz apagada; aspecto general bueno; adenopatía doble retrocarotídea; exudado membranoso gris-anacarado, en ambas amígdalas; laringe roja, con exudado membranoso por debajo de las cuerdas vocales; temp. 38° ⅖; al día siguiente, 39° ⅗. Diagnóstico: Crup en el 1er. período. — Evolución y tratamiento: Al ingreso se inyectan 80 c.c. de suero antidiftérico y ½ c.c. de anatoxina; el 28 se le inyectan otros 80 c.c. La fiebre baja en lisis; apirexia al 5.° día; urticaria el 4 de Julio. El 9 de Julio alta.

Virus núm. 8

D. R. — Julio 13 de 1928. — Niño de 10 años. Desde hoy está con fiebre y dolor de garganta; voz gangosa; exudado membranoso, gris sucio, en ambas amígdalas; ganglios retro-carotídeos; temperatura: 40° ⅖. — Evolución y tratamiento: Se inicia con 60 c.c. de suero antidiftérico. Al día siguiente se dan 40 c.c. Al 6.° día está sin fiebre. Alta a los treinta días del ingreso.

Virus núm. 9

E. G. — Julio 1. de 1928. — Niña de 5 años. Desde hace tres días está con dolor de garganta; desde ayer está ronca, con dificultad respiratoria, 35 respiratorias, cornaje y tiraje; amígdalas con exudado membranoso; vestíbulo laríngeo y glotis con exudado membranoso; temperatura: 38° ⅕. Crup en el segundo período. — Evolución y tratamiento: Al ingreso se le inyectó suero antidiftérico por vía intravenosa, 15 c.c., 55 c.c. por la intramuscular y 50 c.c.

por la subcutánea. Casi sin fiebre al 4.° día; urticaria al 7.° día. Dosis total de suero: 250 c.c. Alta al 21.° día.

Virus núm. 10

E. L. — Agosto 3 de 1928. — Niña de 21 meses. Enferma desde hace tres días; desde la víspera del ingreso con voz y llanto roncos; voz apagada; corrimiento sanioso por ambas narinas; garganta roja, con exudado membranoso en ambas amígdalas; temp. 39°. Difteria, crup en el primer período. — Evolución y tratamiento: Se le inyectan 60 c.c. al ingresar, repitiéndose la misma dosis al tercer día. La fiebre cae en lisis; apirexia al 8.° día. Alta el 16 de Agosto.

Virus núm. 11

G. — Junio 17 de 1928. — Niño de 8 años. Hace tres días que tiene dolor de garganta y fiebre. Ven médico, quien le inyecta 20 c.c. de suero antidiftérico. Niño en nutrición regular; adenopatía retro carotídea; garganta roja, exudado membranoso gris anacarado en ambas amígdalas; temperatura: 39°. Se le inyectan 30 c.c. de suero antidiftérico. Se le da de alta a los 12 días, sin que se observen bacilos de Loeffler en la garganta.

Virus núm. 12

A. R. — 24 de Mayo de 1928. — Niño de 11 años. Buena nutrición; no está intoxicado. Desde el 19 de Mayo tiene estado febril, astenia. Se observa enrojecimiento de ambas amígdalas y de la úvula, con exudado membranoso hasta en la parte posterior del velo del paladar; fuerte fetidez; ganglios carotídeos inflamatorios; temperatura 39° 2/5. El 25 de Mayo se nota dificultad respiratoria, voz gangosa, membranas grisáceas invadiendo las amígdalas, la úvula y la faringe; edema. Clínicamente: difteria asociada. — Evolución y tratamiento: Se le inyectan 20 c.c. de suero antidiftérico por vía subcutánea, 10 c.c. por la intramuscular y 10 c.c. por la intravenosa. El 26 sigue febril, con infiltración edematosa de la úvula y de las amígdalas; recibe 10 c.c. de suero por vía intravenosa, 90 c.c. por la intramuscular y ½ c.c. de anatoxina. Día 28: voz nasal, garganta con membranas; temp. 37°. Se dan adrenalina, Digalene, aceite alcanforado. — Día 31: parálisis del velo del paladar; hígado grande, doloroso, ritmo cardiaco en tres tiempos. Se dan digitalina y adrenalina. Pulso 120; presión arterial: M9 y m6. En este estado sigue hasta el 12 de Julio, mejorando paulatinamente y es dado de alta el 15. En resumen, estado grave, parálisis del velo del paladar, miocarditis con repercusión sobre el hígado.

Virus núm. 13

J. B. C. — Mayo 11. — Niño de 17 meses. Desde ayer está febril, decaído, pálido. Anoche estuvo afónico. Tiraje y voz apagada desde esta mañana; temperatura, 39° 1/5. — Evolución y tratamiento: Tratamiento antiespasmódico y como no mejora, se intuba. Suero antidiftérico: 30 c.c. por vía subcutánea, 30 c.c. por la intravenosa y ½ c.c. de anatoxina. Día 12: se agrava el estado general; disnea con polipnea persistente; temperatura, 40°; facies cianótico, pulso pequeño; se dan Digalene y aceite alcanforado. — Día 13: ambos pulmones

con estertores húmedos, medianos y gruesos; garganta con exudado solamente en el polo inferior izquierdo. Sigue empeorando y fallece el 13 de Mayo.

Virus núm. 14

A. P. — 7 de Junio de 1928. — Niño de 9 años. Desde ayer está con ardor de garganta. Nutrición buena; adenopatía carotídea de ambos lados; poco dolorosa; exudado de aspecto folicular en ambas amígdalas; ligero enrojecimiento de éstas; fiebre, 37° 4/5. Clínicamente podría tratarse de difteria. Se confirma por el diagnóstico. — Evolución y tratamiento: Se le inyectan 30 c.c. de suero antidiftérico y ½ c.c. de anatoxina. El 10 está apirético. Alta el 26.

Virus núm. 15

E. P. — Junio 27 de 1928. — Niño de 8 años. Buen estado de nutrición. Desde hace dos días tiene dolor de garganta; adenopatía. Exudado membranoso en ambas amígdalas, de color gris sucio, adherente; temperatura, 38°. — Evolución y tratamiento: Se inyectan 40 c.c. de suero antidiftérico y ½ c.c. de anatoxina. — Día 28: recibe 20 c.c. más de suero. El 30: garganta limpia; la fiebre desciende en lisis. Apirexia el 2 de Julio. Alta el 18.

Virus núm. 16

J. C. S. — Julio 30 de 1928. — Niño de 2 años. Este niño estuvo en contacto con otros fallecidos de difteria tóxica y recibió ½ c.c. de anatoxina y 5 c.c. de suero antidiftérico a título preventivo. Se le inyectan 30 c.c. de suero antidiftérico por aparecer con una angina. Niño chico, de nutrición buena; estado catarral respiratorio; garganta roja. Apirético el 2 de Agosto. Urticaria el 5 de Agosto. El 14, garganta bien, sin exudado. Se le da de alta el 18 de Agosto.

Virus núm. 17

I. P. — 1.° de Agosto de 1928. — Niña de 4 años. Nutrición buena; respiración ruidosa; cornaje y tiraje; ganglios submaxilares de ambos lados; exudado membranoso en ambas amígdalas; temperatura, 38° 1/5. Diagnóstico clínico: crup en el segundo período. Se le inyectan 20 c.c. Muere el 3 de Agosto.

Virus núm. 18

I. S. — 16 de Mayo de 1928. — Niño de 3 años. Anteayer tuvo dolor de garganta y fiebre. Niño grande, nutrición buena; exudado amigdaliano gris sucio; ligera adenopatía; temperatura, 38° 3/5. Se le inyectan 80 c.c. de suero antidiftérico. Alta, Mayo 24.

Virus núm. 19

D. R. — Agosto 24 de 1928. — Niña de 6 ½ años. Hace 6 días que está enferma, con decaimiento, ligera fiebre y coriza. Al día siguiente se queja de dolor de garganta. Al tercer día se le dan 20 c.c. de suero antidiftérico. Voz y tos roncas apagadas. Se le inyectan 30 c.c. de suero antidiftérico. Se hospitaliza; temp. 38° 3/5, voz apagada, ganglios sub-ángulo-maxilares infartados; faringe roja, con exudado membranoso en ambas amígdalas. — Evolución y tratamiento: Agosto 24: se le inyectan 50 c.c. de suero por vía intravenosa y 40 c.c.

por la intramuscular. Día 25: tos y voz apagada; no hay tiraje ni cornaje; pequeña adenopatía; membranas en la amígdala derecha. Recibe 10 c.c. de suero antidiftérico por vía intravenosa y 40 c.c. por la subcutánea. — Día 26: garganta roja; no hay exudado. El 27 apirexia; el 30 urticaria. Alta el 2 de Setiembre.

Virus núm. 20

C. — Julio 6 de 1928. — Niño de 5 años. Desde ayer está con dolor de garganta. Nutrición buena, adenopatía, hipertrofia amigdaliana, membranas en ambas amígdalas; temperatura 38° ⅕. Se le inyectan 30 c.c. de suero antidiftérico. Alta a los 8 días.

Virus núm. 21

O. L. P. — Julio 28 de 1928. — Niña de 4 años. Hace tres días empezó con fiebre y fatiga. Ingresa con cornaje inspiratorio, tos ronca; ligero tiraje, alto y bajo; adenopatía retro-ángulo-carotídea de ambos lados. Ambas amígdalas con exudado membranoso, gris anacarado. Diagnóstico clínico: crup en el segundo período. — Evolución y tratamiento: Día 28: recibe 40 c.c. de suero antidiftérico por vía subcutánea y 40 c.c. por la intramuscular. Temperatura: 38°. Aspecto de intoxicada; tos y llanto apagados; tiraje y cornaje; membranas anacaradas en ambas amígdalas; estado grave por intoxicación; temperatura 39°. Se le inyectan 80 c.c. de suero antidiftérico; aceite alcanforado. — 30 de Julio: se le inyectan 60 c.c. de suero antidiftérico. Lleva 220 c.c. de suero antidiftérico. — 31 de Julio: no tiene más que cornaje y afonía; macidez y soplo tubario en el pulmón derecho; garganta un poco roja; erupción de aspecto escarlatinoso; temperatura 40° ⅕. — Agosto 1.°: temperatura 38 ⅖; sigue mejor; erupción borrada; garganta roja. En los días siguientes desciende la temperatura; hasta que el 8 de Agosto se inicia la urticaria. Alta en Agosto 17.

Virus núm. 22

T. — Agosto 16 de 1928. — Niña de tres años y medio. Niña chica, de nutrición regular; con amígdalas rojas y grandes; con exudado blanco; no hay ganglios; temperatura 37° ⅕. Suero antidiftérico 50 c.c. Alta a los pocos días.

Virus núm. 23

R. L. — Junio 4 de 1928. — Niña de 14 años. Desde ayer tarde tiene dolor de garganta; hay cefalea; adenopatía inflamatoria dolorosa; garganta con infiltración roja difusa, con edema en la úvula y en el velo del paladar; amígdalas cubiertas por un exudado poco coherente, de color gris. Clínicamente, angina flemonosa en la que hay que descartar el bacilo de Loeffler. Temperatura 38°. Reacción de Schik positiva. Suero antidiftérico 30 c.c. Urticaria. Alta en Junio 29. En el examen directo se vieron algunos bacilos dudosos, tipo Loeffler mediano.

Virus núm. 24

M. B. — Junio 15 de 1928. — Niño de 2 años. Ingresa al Pabellón de Infecto-Contagiosos procedente del Servicio de Cirugía, por escarlatina. Garganta pálida, con amígdalas y úvula rojas; erupción generalizada a todo el

cuerpo; aspecto general bueno; supuración del oído. En el período de descamación tiene voz ronca y apagada; exudado membranoso en las amígdalas y en la laringe. Crup en el primer período. Se le inyectan 200 c.c. de suero antidiftérico en dosis de 60 c.c. por dia. Temperatura baja. Tuvo urticaria y es dado de alta el 10 de Julio de 1928.

Virus núm. 26

A. G. — Julio 29 de 1928. — Niña de 23 meses. A los 20 meses estuvo hospitalizada por difteria en el Hospital "Pereira-Rossell". Hace tres días empezó con fiebre, decaimiento y coriza. Ligera adenopatía; membranas gris anacaradas en ambas amígdalas; temperatura 38° ⅕. Se le inyectan 50 c.c. de suero antidiftérico. Alta el 7 de Agosto de 1928.

Virus núm. 27

J. R. — Agosto 12 de 1928. — Niño de 9 años. Desde hace tres días tiene dolor de garganta. El 10 se observan falsas membranas. Recibe 40 c.c. de suero antidiftérico antes de hospitalizarse. Aspecto de intoxicado; voz gangosa, nutrición regular, cuello empastado, enorme proliferación membranosa en ambas amígdalas; temperatura 39°. Se le inyectan 160 c.c. de suero antidiftérico. Difteria tóxica. Fallece el 13 de Agosto de 1928.

Si se hace la observación de estas historias clínicas en relación con la virulencia del germen correspondiente, se ve que existen casos (núms. 3 y 4, por ejemplo) en los que, a una difteria de evolución benigna y que curó con poca cantidad de suero, correspondió un bacilo de alto poder toxígeno. En cambio, a difterias malignas correspondieron, en algunos casos, cepas de virulencia no muy marcada (núm. 17, por ejemplo).

Esto, que parecería paradojal, no lo es, si se observan los demás factores que han intervenido en la marcha de la afección. Así, en los casos números 3 y 4, la seroterapia se inició tan pronto como se notaron los primeros síntomas. Lo mismo ocurrió en otros casos análogos de difteria, de evolución benigna, con virus muy toxígenos. En cambio, en las difterias de evolución maligna se observó que el tratamiento sueroterápico se había iniciado cuando hacían varios días que la difteria estaba instalada. Otro hecho que queremos poner de relieve es el de que, en los niños grandes, las resistencias son mayores y corresponden en general, a evoluciones más benignas.

Conclusiones. — Existen en la difteria del Uruguay, cepas de bacilos de Loeffler dotadas de un poder toxígeno tan elevado como el de los bacilos toxígenos del Pasteur y del Rockefeller. La evolución clínica de la difteria está determinada por estos tres factores: 1.º, toxicidad del bacilo; 2.º, tiempo transcurrido en la aplicación del suero; 3.º, edad del enfermo.

EL ENTEROCOCCUS

ALGUNAS PROPIEDADES BIOLÓGICAS

POR LOS DRES. MIGUEL C. RUBINO Y JULIO E. MOREAU. CON LA COLABORACION DEL DR. A. TORTORELLA

COMUNICACION PRELIMINAR

En la presente nota sólo haremos algunas consideraciones que nos ha sugerido el estudio del Enterococcus y el resultado de algunas experiencias, dejando para comunicaciones posteriores la exposición de todos los resultados y conclusiones.

El Enterococcus (Thiercelin 1899) es uno de los micro-organismos que menos ha sido objeto de la atención de los investigadores, muchos de los cuales ni siquiera lo han tenido en cuenta como entidad, habiendo sido confundido frecuentemente en los cultivos con el Streptococcus y en los humores orgánicos con el Neumococcus. Esta confusión es más acentuada en los autores americanos y llaman la atención sobre todo los trabajos de Rosenow, quien al hablar de lesiones del tubo digestivo, úlceras, etc., atribuye la causa a un Streptococcus y sin embargo los caracteres que da corresponden más bien al Enterococcus. Este modo de pensar estaría también corroborado por trabajos posteriores de autores franceses, quienes atribuyen la mayoría de los accidentes pulmonares infecciosos que siguen a las operaciones sobre el tubo digestivo, al Enterococcus, el que sería movilizado por el traumatismo operatorio.

W. L. Holman, en su trabajo sobre clasificación de Streptococcus (1916), incluye el Streptococcus fecalis, cuyos caracteres corresponden al Enterococcus y que había sido encontrado en Endocarditis, Reumatismo, Abcesos, etc., y frecuentemente en el tubo digestivo y cavidades naturales. A su vez Holman incluye en el mismo grupo de Streptococcus fecalis, las cepas obtenidas por Rosenow en casos de Colecistitis y Reumatismo; lo que tiende a corroborar aún más nuestra conjetura de que Rosenow ha descrito algunas veces el Enterococcus como Streptococcus; es particularmente interesante el caso de Colecistitis, puesto que, como veremos más adelante, el Enterococcus y Streptococcus se comportan de un modo muy distinto frente a la bilis.

En estos últimos tiempos se le ha prestado mayor atención, aunque no todos le acuerdan un valor patógeno importante; sin embargo, se han publicado varios casos de Septicemias a Enterococcus.

Merece destacarse especialmente el trabajo de Razemon, en la

Clínica de Lambret de Lille, quienes atribuyen al Enterococcus las complicaciones pulmonares post operaciones abdominales y las evitarían por vacunación pre-operatoria.

OBSERVACIONES PERSONALES

En estos dos últimos años hemos hecho algunos centenares de análisis de exudados faríngeos, esputos y materias fecales, en gran parte colaborando con la Clínica de los doctores Varela Fuente y P. Rubino. Como los exámenes de exudados faríngeos y materias fecales se han hecho en forma casi sistemática, tanto en personas con procesos inflamatorios locales visibles como en aparentemente sanos, nos ha permitido hacer algunas observaciones interesantes. El estudio bacteriológico lo hicimos siempre por examen directo, frotis de exudados, esputos o materias fecales y por cultivos en diversos medios. En el exudado faríngeo y esputos el Enterococcus lo encontramos de un modo constante, tanto en los enfermos como en los aparentemente sanos; al examen directo se presenta como un diplococo gram-positivo completamente semejante al Neumococo, estamos seguros que muchas veces se le habrá catalogado como tal, pero en los cultivos se distingue fácilmente; frecuentemente se ven las células epiteliales planas, de revestimiento completamente cubiertas de Enterococcus.

En las materias fecales es igualmente casi constante por el examen directo, pero en los cultivos sólo aparece en un porcentaje de casos, aproximadamente el 50 por ciento; es probable que esto se deba en parte a la flora intestinal, sobre todo al B. Coli, que invade rápidamente los cultivos, si en lugar de gelosa simple u otro medio común, se usa el caldo glucosado en columna alta, el número de casos positivos aumenta, los medios glucosados y una cierta anaerobiosis, favorecen extraordinariamente el desarrollo de los cultivos de Enterococcus.

Hemos comprobado que en los procesos inflamatorios locales de apariencia banales, el Enterococcus aumenta proporcionalmente sobre la otra flora habitual, predominando en muchos casos en forma absoluta; este hecho es muy sugestivo en los materias fecales y contrasta claramente con lo que se observa normalmente; en estas últimas el examen directo nos revela el predominio de una flora gram-negativa y los cultivos sobre gelosa simple formados casi exclusivamente por bacilos Coli; en cambio en algunos procesos catarrales, la fórmula se invierte, se observa un predominio de la flora gram-positiva, formada principalmente por Enterococcus; frecuentemente con abundancia también de difteromorfos y en los cultivos las colonias de Enterococcus rivalizan o superan en número a los bacilos coli.

Lo hemos encontrado también frecuentemente en las uretritis crónicas y en las vulvo-vaginitis asociados a otros coccus y sobre todo a bacilos difterimorfos, en lesiones vesiculosas o ulcerosas de la piel en la vesícula biliar, en varios casos de hemoculturas de sarampionosos y últimamente en cultivos puros, en un caso de otitis consecutiva a una angina, otitis que cedió rápidamente a una vacuna a Enterococcus. Actualmente tenemos aisladas 130 cepas de Enterococcus de distintos orígenes, con las que nos proponemos hacer el estudio biológico cuyos primeros resultados exponemos en la presente comunicación preliminar.

Al enumerar estos hechos no pretendemos establecer un rol patógeno del Enterococcus para todos ellos, sino destacar su gran frecuencia como huésped habitual de las mucosas, su predominio en muchos procesos inflamatorios de las mismas, lo que, unido a la comprobación cierta como agente patógeno, muchas veces obligan a tomarlo en consideración, y a este respecto nos permitimos plantear la duda de que algunos casos de Septicemias, meningitis, etc., considerados a Neumococcus o Streptococcus y que han tenido éxito feliz por determinados tratamientos, pueda haberse cometido un error de dignóstico y sería conveniente frente a esa posibilidad precisar más los elementos de identificación.

Pasamos ahora a exponer algunas propiedades biológicas.

INFLUENCIA DE LA GLUCOSA EN LOS CULTIVOS —ACIDEZ "D'ARRET"— COMPARATIVAMENTE CON EL NEUMOCOCCUS Y STREPTOCOCCUS

Como hemos dicho anteriormente, la glucosa favorece extraordinariamente los cultivos del Enterococcus dando lugar a una edificación intensa del medio, que los distingue de los Neumococcus y Streptococcus.

1.ª Experiencia —en medio T.— (Caldo peptonado al 2 ‰ de Glucosa). A las 48 horas de cultivo a 37º. Acidez expresada en ácido sulfúrico por mil.

Enterococcus

Cepa 2—acidez, 2 gr. 156 (origen lesión de la piel)
Cepa 93—acidez, 2 gr. 156 (origen materias fecales)

Neumoccocus

Cepa	1—	acidez,	2	gr.	058
"	2—	"	1	"	96
"	3—	"	1	"	96
"	4—	"	2	"	058
"	6—	"	1	"	76

Streptococcus

Cepa	9—acidez	1 gr.	.....	47
"	11— "	1 "	.....	17

Los cultivos de Enterococcus han sido los más abundantes y a ellos ha correspondido la mayor acidez.

2.ª Experiencia con caldo glucosado al 5‰, en columna alta 48 horas de cultivo a 37°

Enterococcus

Cepa	2—acidez	3 gr.	.....	038
"	32— "	3 "	.....	038
"	50— "	2 "	.....	84
"	93— "	3 "	.....	038
"	125— "	3 "	.....	038

Neumococcus

Cepa	1—acidez	2 gr.	.....	64
"	2— "	2 "	.....	94
"	3— "	2 "	.....	64
"	5— "	2 "	.....	64
"	6— "	2 "	.....	54

Streptococcus

Cepa	6—acidez	2 gr.	.....	45
"	7— "	2 "	.....	54
"	9— "	2 "	.....	35
"	11— "	2 "	.....	54
"	12— "	2 "	.....	54

Este cuadro es sumamente interesante; da idea de la importancia que puede tener el estudio del metabolismo microbiano, cuantitativamente para definir las especies. En el grupo de Enterococcus, cuatro de ellos dan en milésimas exactamente la misma acidez de 3 gr. 038 y corresponden a cepas de distinto origen: piel piorrea, materias fecales y hemoculturas sarampión, sólo la cepa 50 de origen de esputos da una acidez algo más baja que se aproxima al Neumococcus; entre los neumococcus, tres tienen exactamente la misma acidez de 2 gr. 64, uno de ellos, cepa 2, origen de orina, que da cultivos abundantes, tiene una acidez más elevada que se aproxima a la de los Enterococcus; otro, cepa 6, es el que da acidez más baja que cae dentro de la de los Streptococcus y que está catalogado como Neumococcus tipo 3, considerado por muchos como Streptococcus (Streptococcus mucosus Schotmüller). En el grupo de los Streptococcus, todos son hemolíticos, tres figuran con acidez exactamente igual de 2 gr. 54 y dos, Nos. 6 y 9, más bajas.

De estas experiencias se sacan las siguientes dos conclusiones:

que los Streptococcus se separan completamente de los Enterococcus, y bajo el punto de vista examinado, los Neumococcus están más próximos de los Enterococcus.

EXPERIENCIAS CON BILIS DE BUEY — DE CERDO Y HUMANA COMPARATIVAMENTE ENTEROCOCCUS Y STREPTOCOCCUS

1.ª Experiencia — Bilis de buey — caldo truche con más bilis, 10, 20, 30, 40 y 50 % y bilis pura

Los cultivos son abundantes en las concentraciones hasta con más el 50 % —más pobre en la bilis pura—. Hay formación de la "Vrille" característica del Enterococcus. En las concentraciones hasta con más el 50 %, se observan formas en cadenas y en diplos; en la bilis pura no se ven formas en diplos; solamente cadenas, o por lo menos son excepcionales.

2.ª Experiencia — con bilis de cerdo — caldo truche con más 10, 20, 30, 40 y 50 % y bilis pura

Se utilizaron cinco cepas, los números 2, 13, 92, 93 y 121 de nuestra colección.

Los cultivos fueron muy abundantes hasta la concentración del 50 %, positivos, pero menos abundantes en la bilis pura. Macroscópicamente los cultivos presentan un aspecto especial; al principio se hacen opacos, después comienzan a clarificar, dejando ver un sedimento muy abundante, mucoso; este sedimento corresponde al mucus precipitado por el desarrollo de una acidez elevada; en efecto, desaparece por alcalinización de los cultivos y tratando la bilis de cerdo por ácido acético se obtiene el mismo efecto. Este efecto no se observa en los cultivos en bilis de buey.

La observación microscópica de los cultivos demuestra algunas modificaciones interesantes.

El Enterococcus, como es sabido, se presenta en los medios líquidos habituales en diplos y en cadenas generalmente cortas. En cambio en la bilis de cerdo —aún desde la concentración del 10 %— se presenta en cadenas, la mayoría largas, algunas hasta de 160 coccus, dando la impresión de algunos Streptococcus de cadenas largas.

3.ª Experiencia — comparativamente — enterococcus y streptococcus en bilis humana y caldo truche

a) Enterococcus. En concentraciones con más, el 10 al 50 % y bilis pura.

Se utilizaron las mismas cepas anteriores. Cultivo abundante en

las concentraciones del 10 al 50 %, menos abundante en la bilis pura. Aspecto macroscópico del cultivo, igual al de los cultivos en bilis de cerdo, es decir enturbiamiento y depósito de un sedimento mucoso.

b) Vitalidad del Enterococcus, en la bilis humana en concentraciones en caldo Truche con más el 1, 3, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 % y bilis pura, comparativamente con caldo Truche solo. La vitalidad se verificó por repiques a gelosa simple. Se cultivaron las cepas números 2 y 93. Los resultados de esta experiencia fueron muy interesantes. Los cultivos en caldo Truche puro, de las dos cepas estaban vivos a los 100 días de duración de la experiencia. En el medio biliado la cepa 2 se mostró más sensible que la N.º 93, pero en las dos se presentó el hecho curioso que la vitalidad se empezó a perder en los términos intermedios de las series. En la cepa 2, a los 9 días de experiencias, estaban muertos los cultivos en las concentraciones al 5 y al 10 %. A los 19 días estaban muertos en las concentraciones del 3 al 20 %; en cambio estaban aún vivos al mes en las concentraciones del 1 y del 30 %, y muertos a los 45 días; no figura bilis pura por no disponer de ella en ese momento.

La cepa 93 se mostró de una mayor vitalidad, presentando también la misma particularidad; a los 19 días estaba muerta en las concentraciones del 10 y del 20 %. A los 30 días vive en las concentraciones del 1, del 5 y del 30 y bilis pura; a los 45 días vive sólo en las concentraciones del 1 % y de bilis pura; a los 68 días sólo vive en bilis pura y permanece vivo hasta los 100 días, final de la observación hasta la fecha. La explicación de este comportamiento podría ser de que la bilis hasta cierta concentración favorece o acelera los cambios nutritivos, lo que aparejaría la acumulación más rápida de los productos nocivos del metabolismo microbiano, que determinarían la muerte.

Debo señalar que la cepa N.º 2, menos resistente a la bilis, fué aislada de una lesión de la piel y la cepa N.º 93 proviene de materias fecales.

c) Streptococcus — en caldo Truche — con bilis en concentraciones con más 1 al 30 %

En esta especie, la bilis se muestra nociva desde las primeras concentraciones. Sólo en las concentraciones al 1 y 3 % los cultivos son realmente abundantes, comparables a los de caldo Truche puro, a partir de la concentración del 5 % son muy pobres y prácticamente nulos a partir del 10 %.

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA OSTEOMALACIA EN LOS BOVINOS

Publicado en la Revista de Medicina Veterinaria — N.º 31, año XI

En Abril de 1917, presenté a la Inspección de Policía Sanitaria Animal un informe sobre una enfermedad aparecida simultáneamente en varios establecimientos ganaderos del departamento de Durazno; habiendo llegado a la conclusión de que se trataba de una forma de Osteomalacia. (Revista del Ministerio de Industrias del Uruguay. Junio-Julio de 1917). Parece que esa enfermedad había sido comprobada en el departamento de Treinta y Tres por el Dr. Acosta Churruca. Posteriormente a mi primera comunicación, el Dr. Luis J. Murguía hace el estudio de una enfermedad análoga en el departamento de Rio Negro.

Esta segunda comunicación tiene por objeto, además de presentar nuevas observaciones, complementar a la primera, precisando más las modalidades clínica y anátomo-patológicas, modificaciones físicas y químicas del sistema óseo y considerar los diversos elementos etiológicos, la fisiología patológica y la profilaxia racional.

Como conclusión, a mi entender, lógicamente derivada del presente trabajo, hago al final algunas consideraciones acerca de la influencia que pueden tener las causas determinantes de la caquexia ósea sobre la degeneración de las razas perfeccionadas.

CONSIDERACIONES GENERALES

Especies atacadas

Las nuevas observaciones que he tenido oportunidad de hacer, corresponden a establecimientos ubicados en la proximidad del que motivó el primer informe. La enfermedad se manifestaba solamente en algunos potreros, de constitución física especial, silicosos, afectando relativamente un número reducido de sujetos. Su aparición tuvo lugar en la misma época del año, abarcó el verano y principio de otoño.

En cuanto a las especies atacadas, las nuevas observaciones concuerdan con lo manifestado en la primera comunicación; la enfermedad sólo ha atacado las vacas con cría, —en cuanto a la constatación clínica se refiere—, sin embargo, este hecho que tiene su explicación (véase fisiología patológica), en que las vacas en esas

condiciones realizan mejor las circunstancias de aparición de la enfermedad, que se refieren en último término a un déficit de anhidrido fosfórico y sales de calcio en el organismo animal, no excluye la posibilidad, muy probable, de que todos los animales colocados en las mismas praderas sufran un déficit de los mismos elementos, sobre todo los jóvenes, los que están en desarrollo; pero de menor grado, insuficiente para provocar un estado de enfermedad denunciable clínicamente, pero lo bastante para alterar la contextura del sistema óseo, con lesiones visibles sólo por un examen de laboratorio.

Síntomas y evolución

Lo primero que denuncia la aparición de la enfermedad es una cierta irregularidad en la marcha, especialmente en los miembros anteriores, cuyos movimientos son menos amplios. Es posible que antes existan algunas alteraciones, sobre todo digestivas, perversión del gusto y del apetito, malas digestiones, pero ellas no son prácticamente observables en los animales criados a campo, sino en un período más avanzado de la enfermedad, cuando otros síntomas llaman la atención sobre el paciente; la enfermedad, además, es apirética, faltando así todo el cuadro característico que anuncia el advenimiento de los grandes procesos mórbidos infecciosos.

Poco a poco la dificultad en la marcha se hace más notable, los movimientos de los miembros más limitados y el apoyo se hace en una forma cautelosa, característica, que dan la sensación de que quieren evitar presiones bruscas que le causarían profundo sufrimiento. En este período se nota ya una marcada atrofia muscular, más notable en la región de la paleta (escapular), en la que aparecen dibujadas claramente la espina acromiana y las fosas supra e infra escapulares, tomando el animal un aspecto especial que ha hecho denominar a la enfermedad vulgarmente *"mal de la paleta"*.

La columna vertebral se arquea, formando generalmente un arco a convexidad superior (cifosis); la atrofia muscular avanza y los animales toman un aspecto característico. En un grado más avanzado los miembros anteriores se mueven en forma exageradamente limitada, siendo su centro de oscilación la articulación escápulo-humeral, permaneciendo los omóplatos casi inmóviles, como incrustados en la caja torácica por la tensión de sus músculos atrofiados. Los animales se desplazan entonces raramente permaneciendo la mayor parte del tiempo acostados. Se suelen observar abultamientos o hinchazones en las articulaciones o en los huesos; y a este respecto, palpando la caja torácica en sentido ántero-posterior, he notado en todos los animales observados, unos abultamientos en las costillas que corresponden a callos de cicatrización por fractura de las mismas unas veces, pero la mayoría, como lo he constatado

por el examen histológico, se trata puramente de una reacción del tejido óseo alterado.

En el estado avanzado de la enfermedad se notan alteraciones del apetito y del gusto, prefiriendo los alimentos groseros; mastican y degluten tierra, huesos y cuerpos salados, que acusan la necesidad orgánica de sustancias minerales salinas.

La pronunciación de los síntomas enumerados se hace en forma lenta, tardando desde quince días, un mes a un mes y medio desde su aparición, evolucionando así la enfermedad bajo un tipo sub-agudo.

El cambio de régimen de los enfermos, mejorando las condiciones de alimentación y el destete de los terneros, son circunstancias que influyen notablemente, produciendo una reacción muy favorable en los pacientes.

Esa reacción provocada por el cambio de condiciones de vida de los enfermos, se empieza a manifestar a los 15, 20 días, un mes después, según los enfermos, y es función, sin duda alguna, de la individualidad y de la intensidad del proceso morboso en los distintos animales. Ella se manifiesta por la normalización del apetito, mejora del estado general, la marcha se hace más regular, pero aún después de varios meses quedan todavía como signos reveladores de las profundas alteraciones orgánicas del sistema óseo, abultamiento en las articulaciones y huesos y una modalidad especial en el movimiento de los miembros, que tiene lugar con menor amplitud.

Lesiones

En el examen de los sujetos sacrificados se observa lo siguiente: 1.º Aspecto general de caquexia y atrofia de las masas musculares. 2.º Las vísceras de las cavidades torácica y abdominal aparecen de aspecto normal. 3.º Sistema óseo profundamente alterado.

Lesiones del sistema óseo. — a) *Examen macroscópico.* — A simple inspección se nos revelan deformaciones en las articulaciones, en los huesos y fractura de los mismos; estas alteraciones las he encontrado con mayor frecuencia en los huesos planos y en los cortos.

Haciendo un examen sistemático, llama la atención ciertos abultamientos en las costillas; estas deformaciones las he encontrado en todos los animales autopsiados y en los enfermos por la palpación de la pared torácica; en algunos sujetos, en la casi totalidad de las costillas, dando a primera vista la impresión de consolidaciones de fracturas, que una observación minuciosa y sobre todo el estudio de la estructura, pone de relieve que si algunas veces eso es cierto, en la mayoría son simples abultamientos de estructura esponjosa, (Fig. 1), reacciones de defensa en zonas en que el tejido óseo alterado está amenazado en su integridad.

Deformaciones análogas se suelen encontrar en otros huesos, sobre todo en los planos. Entre ellas debemos destacar una bastante

constante que hemos observado en el borde posterior de la escápula, algo más arriba del punto medio (Fig. 2), probablemente punto en que la estructura del hueso y fuerzas que sobre él operan tendría tendencia a ceder. Estos abultamiento son muy visibles y un corte de los mismos (Fig. 3) demuestra que están formados por una nueva oposición calcárea, dando así un aspecto en *ágata*.

Las fracturas son igualmente muy frecuentes en esas clases de huesos y en los cortos, ellas aparecen, cuando no son muy recientes, muy abultadas por la formación de un callo voluminoso, la sección muestra los extremos de los huesos sumergidos en una pasta carti-

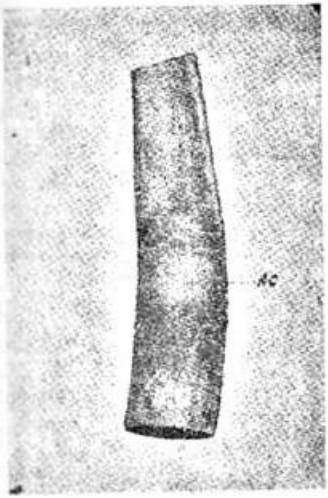


Fig. 1. — Costilla mostrando un abultamiento. (Fotograb. de un dib. original)



Fig. 2. — Escápula mostrando en su borde posterior una tuberosidad (A) formada por aposición calcárea

laginosa de poca consistencia. Algunas veces los extremos fracturados, insuficientemente inmovilizados, pulen por frotamientos suaves sus caras cubiertas de un barniz cartilaginoso, dando lugar a la formación de articulaciones imperfectas.

El estudio estructural de los huesos nos revela alteraciones profundas en la sustancia fundamental, pero no uniformemente en todo el esqueleto; son más intensas en los huesos de médula roja (planos, cortos), que en los demás del organismo.

Tomando como tipo de descripción las costillas, que son las piezas más alteradas, observaremos: periostio, hiperplásico, por

tracción se desprende con facilidad dejando en descubierto una superficie porosa, con manchas rojas y que se hunde fácilmente por presión. Haciendo un corte transversal se observa una médula intensamente coloreada, más que lo normal, color rojo pardo; el canal medular muy dilatado y la zona esponjosa más extendida, ambos a expensas del tejido compacto, del cual queda como único vestigio, una delgada lámina, menos dura, cuya sección se confunde con la del periostio hiperplásico. Las láminas del tejido esponjoso resblan-



Fig 3..— Corte de la tuberosidad de la otra escápula en el que se ven las capas de aposición calcárea. Aspecto en Agata

decidas, limitan unas veces grandes lagunas llenas de médula color rojo-pardo, flúida, muy vascularizada y otras se encuentran como perdidas en la masa medular.

En los cortes a la altura de los abultamientos se observa una estructura algo distinta; la zona esponjosa mucho más extensa y las láminas forman un tejido tupido y regular semejando un panal de abejas; son más blandas, con escasa calcificación: es un tejido óseo de nueva formación.

Lesiones análogas se encuentran en la mayoría de los huesos, pero en grado inferior. Las profundas alteraciones corresponden a los tipo médula roja.

Los huesos largos los he encontrado menos alterados; se observan, sin embargo, lesiones de importancia.

Las caras articulares presentan grandes zonas de color rojo

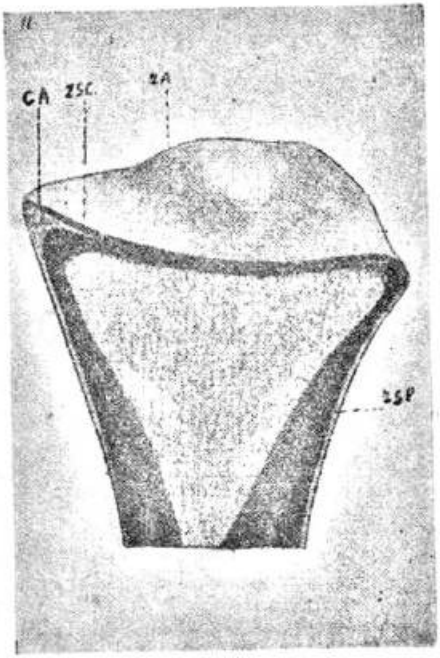


Fig. 4. — Corte del cuello y cara articular de una escápula. (Fotograb. de un dibujo original). — Las zonas oscuras corresponden a rojo en el original. — Z A. Zona violácea de la cara articular; C A. Cartílago articular; Z C S. Zona de congestión sub-cartilaginosa; Z S. P. Zona de congestión sub-perióstica

intenso, algo violáceo, que son la revelación de una intensa congestión sub-cartilaginosa y que explican los dolores que experimentan los animales en la marcha y en la estación cuadrupedal.

En un corte longitudinal observamos: médula amarilla, de apariencia normal, con vasos sanguíneos muy dilatados.

En los animales relativamente jóvenes, cuando la osificación

no ha sido completa aún, he encontrado el cartílago que une la diafisis con la epifisis, reblandecido, irregular, con grandes botones de apariencia carnosa sumergidos en la médula. El tejido esponjoso de las extremidades está algo alterado, y son muy visibles dos zonas rojas, una periférica, en la superficie de unión del tejido óseo con el periostio (lateralmente) y con el cartílago articular (en la extremidad articular), y otra peri-medular; las lagunas de esta zona contienen médula roja. Análogas lesiones se observan en las extremidades articulares de los huesos planos y cortos que forman parte de articulaciones de los miembros; las he encontrado sobre todo muy visibles en el cuerpo articular de la escápula (Fig. 4).

Son zonas de congestión; es una vascularización que el organismo establece para atacar el tejido óseo, allí donde sus medios de ataque eran deficientes.

Examen microscópico. — Es en el examen histológico de los huesos donde aparece claramente la profunda alteración de la sustancia fundamental; esas modificaciones son distintas de un animal a otro según el periodo de evolución de la enfermedad, en el mismo animal según los huesos y en éstos distintos aún, según las zonas, pero esas diferencias, mirado el proceso en conjunto, no son de cualidad sino de grado puramente.

Como el examen macroscópico, el estudio histológico descubre que las alteraciones más profundas residen en los huesos a médula roja, especialmente en las costillas; observando al microscopio un corte transversal, coloreado por eosina, fuchsina ácida o por azul de Unna, aparece el tejido óseo con un aspecto completamente distinto del normal, mientras en éste se ve un periostio delgado, un sistema de láminas óseas sub-periósticas, láminas perimedulares y entre esos dos sistemas laminares, los sistemas de Havers perfectamente regulares y calcificados, con la coloración normal, salvo un anillo en los agujeros centrales de nutrición que toma los colorantes por corresponder a los vasos nutricios; en los huesos enfermos (Fig. 5 y 6), todo es mezcla y confusión en que la estructura Haversiana ha desaparecido casi por completo. El periostio (p-) hiperplásico, las lagunas medulares (m), completamente ensanchadas, llenas de tejido vaso-conjuntivo (v.c.); los sistemas de láminas óseas subperiósticas y peri-medulares han desaparecido o sólo restan vestigios (l.m.) y en su lugar se establecen grandes zonas de actividades celulares (z.c.) destinadas a disolver el tejido óseo o a edificar también en su lugar un tejido óseo descalcificado, *tejido osteoide* (O.t.), que el organismo fabrica para sostener la armadura ósea en demolición.

La sustancia compacta en el hueso normal, formada por los sistemas de Havers, en el hueso enfermo ha cambiado completamente, los sistemas Haversianos han sido destruidos y sólo a veces quedan de ellos algunos vestigios (Fig. 5 H.); los canales de Havers,

centro de los mismos sistemas, se han transformado en verdaderas lagunas (C. H.) llenas de tejido conjuntivo-vascular, que son el asiento de intensa actividad celular; sus células polinucleadas, (osteoclastos) ya atacan la sustancia ósea, ya edifican tejido osteoide, que se distinguen perfectamente en las preparaciones porque toman color fuertemente rojo con la cosina, fuchsina ácida y verde claro con el azul de Unna.

El tejido osteoide tiene una estructura laminar y posee células óseas (osteoblastos); es semejante al tejido óseo normal, pero sin sales de calcio, es una aposición acalcárea. De la sustancia fundamental sólo quedan algunos islotes (s), muchas veces como si estuvieran comprimidos y tumbados los unos sobre los otros (s. a.); en

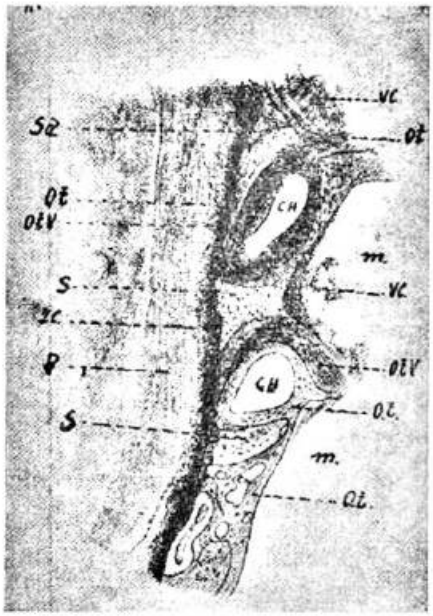


Fig. 5. — Corte microscópico de una costilla enferma. Fotograb. del original (Azul de Unna). — P. Periostio hiperplásico, M. Lagunas medulares llenas de tejido vaso conjuntivo. V. C., Z C. Zona sub-perióstica de gran actividad celular, C H. Canales de Havers transformados en lagunas, O T. Tejido osteoide de reciente formación, O T V. Tejido osteoide de más antigua formación, S. Islotes de tejido óseo viejo, S A. Tejido óseo parcialmente resblandecido con sus láminas tumbadas unas sobre otras

estos islotes las células óseas tienen una forma más ovoide; sus prolongaciones son más extensas y dilatadas y se entrelazan los de unas células con los de otras.

En los abultamientos costales el tejido presenta un aspecto algo distinto; todo el tejido óseo ha sido sustituído por tejido osteoide ligeramente calcificado y sus láminas forman una trama muy tupida, con lagunas regulares y que a un fuerte aumento da la impresión de un panal de abejas. El periostio está bastante engrosado.

En el estudio de las zonas de congestión de los epifisis,

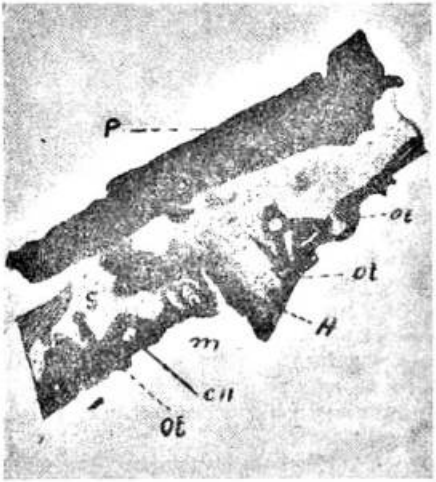


Fig. 6. — Corte microscópico de una costilla enferma. Fotograb. de un dibujo original (Col. Eosina). — P. Periostio hiperplásico; M. Lagunas medulares dilatadas; C H. Canales de Havers dilatados con tejido vaso conjuntivo V. C.; O T. Tejido osteoide; H. Vestigios de un sistema de Havers; S. Tejido óseo viejo

(Fig. 3), se observan alteraciones de otra índole; primero, por la intervención de un nuevo elemento: el cartílago, y segundo, por corresponder a un proceso más tardíamente incorporado en la evolución de la enfermedad. Entre el cartílago y la sustancia ósea no existe una separación nítida; ambos están entrelazados por prolongaciones, pero la sustancia ósea que se encuentra dentro del cartílago tiene muchas células que conservan aún el aspecto de las cartilaginosas, lo que significa, sin duda alguna, que es una osificación en marcha a expensa del cartílago. La zona ósea contigua está muy

vascularizada, lo que explica la intensa faja roja observada macroscópicamente; la sustancia ósea conserva la sistematización Haversiana, sólo que los canales están más dilatados y circundados por una faja de tejido osteoide.

Examen Físico y Químico. — La notable variación estructural del sistema óseo y la destrucción de la sustancia fundamental del mismo, han determinado, como debíamos suponer, alteraciones de orden físico-químico en los órganos atacados.

La superficie externa, extraído el periostio, se nos presenta mucho más porosa que lo normal, con manchas rojo-pardo y se hunde a la presión digital. Como consecuencia de la destrucción de la sustancia fundamental, al corte aparece más poroso y el peso específico del órgano disminuye. Una experiencia sencilla pone bien de relieve la notable diferencia: mientras una costilla normal colocada en el agua va al fondo, la costilla enferma flota. La densidad de la normal resultó ser de 1.39, refiriéndola a la pieza, no a la sustancia, y la de la enferma, en las mismas condiciones, 0.95.

En cuanto a las modificaciones de orden químico son más pronunciadas aún, pero su exacta apreciación más difícil. Esta dificultad estriba en que el hueso es de estructura completamente heterogénea, formado por diversos tejidos, las proporciones relativas de los cuales varía de un animal a otro, sobre todo con la edad, en el mismo animal según los distintos huesos y en un mismo hueso según la zona de estructura; en el animal adulto son más ricos en sales calcáreas que en los jóvenes; los huesos de sustancia compacta son igualmente más ricos en las mismas sales que los de sustancia esponjosa; en un mismo hueso, si se analizan por separado diafisis y epifisis, los resultados difieren.

Surge, pues, que para obtener elementos de valor para comprobar con cierta exactitud las variaciones en la composición de un hueso enfermo, es necesario relacionar los resultados analíticos de éste con los de otro de la misma región de un animal de la misma edad aproximadamente.

Por otra parte, el hueso no es un tejido sino un órgano, en que el tejido óseo, como sustancia fundamental, se encuentra unido más o menos íntimamente a otros tejidos de distinta naturaleza. Esta circunstancia complica más aún la apreciación exacta de la composición. Así, mientras algunos investigadores, (Hebrand, Mosselmann, Landois) refieren sus análisis con *agua, grasa, oseína,* fosfato de calcio, de magnesio, carbonato de calcio, etc., otros (O. Weber) omiten el agua; otros (Gautier) omiten el agua y la grasa; y otros (Gautier, Hebrand y Mosselmann) dan por separado la composición de la sustancia compacta y de la esponjosa. Los resultados así pierden casi todo su valor, porque la riqueza centesimal de las sustancias fundamentales varía según los elementos que se tomen en cuenta y

lo que da más incertidumbre aún, es que la mayoría no especifican las condiciones del análisis, que es sobre todo de suma importancia cuando en ellos se establecen valores de sustancias que como el agua, varían enormemente según las condiciones de las experiencias y aún mismo según la conservación del material.

CUADROS COMPARATIVOS DE MOSSELMANN Y HEBRAND

N.º 1

Parte cortical

	Hueso normal		Hueso malácico	
Agua	8.4		10.45	
Grasa	2.0		1.10	
Oseína	34.5		35.91	
Cal	26.48		25.96	
Acido fosfórico	22.29	55.10	21.32	25.54
Mag. ácido carbónico	6.33		5.26	

N.º 2

Sustancia esponjosa

	Hueso normal		Hueso malácico	
Agua	13.83		16.02	
Grasa	13.15		26.88	
Oseína	36.69		27.80	
Cal	16.72		15.83	
Acido fosfórico	15.55	36.33	11.50	29.25
Mag. ácido carbónico	4.06		1.92	

Estas razones me han inducido a presentar datos comparativos de hueso sano y hueso enfermo de análisis efectuados en las mismas condiciones, bien precisados por los señores Goslino y Princivalle, del Instituto de Química Industrial, a quienes —me complazco en hacerlo constar— debo un vivo reconocimiento por la valiosa cooperación prestada.

Todos los análisis, tanto de huesos normales como patológicos, son de costillas, y las muestras tomadas sobre el total del material de la pieza privada de periostio y homogeneizado mecánicamente.

Las condiciones de la experiencia son: Muestra agotada al alcohol y éter y desecada a 105° C.

RIQUEZA EN CENIZAS

(Con descomposición total del C O' Ca al estado de Ca O)

CUADRO N.º 1

Para 100 partes de muestra. (En peso)

	Cenizas	Sustancia orgánica y C O 2 desprendido en la
Hueso normal	59.13	40.87
Hueso enfermo	44.10	55.90

CUADRO N.º 2

Composición de 100 partes de cenizas. (En peso)

	Fosfato calcio y Fosfato magnesio	Oxido de calcio del carbonato	No determinados
Hueso normal	86.38	3.43	10.19
Hueso enfermo	82.25	8.55	9.20

CUADRO N.º 3

Refiriendo estas sustancias a la muestra inicial de hueso. Para 100 partes de muestra

	Fosfato calcio y fosfato magnesio	Oxido de calcio del carbonato	Sustancias orgánicas, CO^2 e indeterminadas
Hueso normal	51.12	2.02	46.86
Hueso enfermo	36.40	3.77	59.83

Haciendo un estudio comparativo de los distintos cuadros, observamos:

1.º Que en lo que a riqueza de cenizas se refiere, (Cuadro N.º 1), existe una apreciable diferencia entre el hueso normal y el hueso malácico; el primero contiene 59.13 % y el segundo 44.10 %.

En cuanto a la composición centesimal de las cenizas (Cuadro N.º 2), el análisis pone de relieve hechos interesantes: que la diferencia en la composición de ambas es muy limitada, lo que significa que el hueso al perder sus sales pierde de todas ellas, se desmineraliza, pero que sobre todo disminuyen los fosfatos, pues mientras el normal tiene 86.38 % de esa sustancia, el malácico sólo tiene el 82.25 %; pero en cambio el óxido de calcio del carbonato aparece más aumentado en el malácico (8.55 %) que en el normal, (3.43 %), esto resulta de que al disminuir en la proporción una de las sustancias, los restantes deben aparecer aumentados puesto que se trata de composición centesimal; por otra parte indica también que los carbonatos son menos atacados en la obra de desmineralización.

El cuadro N.º 3 que registra las alteraciones centesimales de esas sustancias con referencia a la muestra inicial de hueso, nos

revela ya una diferencia mayor en los fosfatos, porque a la diferencia de la riqueza de éstos en la ceniza se agrega la diferencia por la distinta cantidad de cenizas para cien partes de muestra; así mientras que el hueso normal contiene 51.12 % de fosfatos, el hueso enfermo sólo contiene 36.40 %.

A pesar de la marcada diferencia que los precedentes cuadros ponen de relieve en la composición centesimal entre el hueso normal y el hueso malácico; ello no es la expresión exacta, cuantitativa ni cualitativamente de las alteraciones químicas sufridas por el hueso.

La notable diferencia en la densidad (1.39 normal, 0.95 enfermo), y la profunda modificación estructural que pone de relieve el examen histológico, no encuadran dentro de los resultados de esos análisis. En primer lugar, la desmineralización debe ser mayor, y segundo, acusan un aumento en la sustancia orgánica (oseína principalmente) para el hueso enfermo (55.90 %), sobre el hueso normal 40.87 %) y el examen histológico demuestra lo contrario; demuestra que también hay pérdida de la sustancia orgánica fundamental (oseína). Además, eso nos demuestra que si hacemos el análisis de huesos enfermos, pero en un período de evolución de la enfermedad más próximo a la iniciación de la misma, en que las lesiones óseas no son aún tan pronunciadas, obtendríamos con toda probabilidad cantidades más o menos iguales a las del hueso normal, aunque la composición se hiciera como hemos hecho nosotros entre piezas anatómicas semejantes y de animales de la misma edad; la diferencia que resultara, caería dentro de los límites de variación en la composición del hueso, que resulta siempre por efecto de la influencia de la raza, individualidad, métodos de análisis, etc. Estas consideraciones me llevaron a la convicción de que era necesario obtener factores que fueran con más exactitud la expresión de la demolición del tejido óseo. La solución estaba en encontrar el elemento más constante, que menos variara de un hueso normal a uno enfermo; he considerado varios y de todos me ha parecido más conveniente el volumen aparente tomado en huesos análogos. (Véase nota al pie).

He aquí los resultados obtenidos:

CUADRO N.º 4

Para 100 centímetros cúbicos de hueso

	Sustancia mineral Fosfatos de calcio y magnesio, óxido de calcio, etc.	*Sustancias orgánicas* (principalmente oseína) y CO_2 de los carbonatos
Hueso normal	82 grs. 19	56 grs. 81
Hueso enfermo	41 grs. 80	53 grs. 20

NOTA. — Para medir el volumen y por él deducir la densidad, así como los cálculos para los análisis, se cubre el hueso secado de una ligerísima capa de laca o parafina y se mide en el agua destinada por aumento de volumen por equilibrio de peso.

Refiriendo la ceniza obtenida, la composición centesimal de la misma:

CUADRO N.º 5

La ceniza de 100 c.c. de hueso contiene:

	Fosfato de calcio y magnesio	Oxido de calcio de los carbonatos
Hueso normal	70.99	3.57
Hueso enfermo	35.38	2.81

Estos resultados concuerdan más con los hechos observados. El hueso malácico ha perdido en todas las sustancias que componen el tejido óseo, luego no ha habido sólo desmineralización sino destrucción parcial del mismo.

Relacionando todos los datos obtenidos, podemos reconstruir el proceso de las modificaciones químicas experimentadas:

1.º El hueso ha sido alterado con pérdida de sustancias minerales y orgánicas.

2.º La pérdida en sustancias minerales ha sido mayor (50 %) que las orgánicas (6 %).

3.º De las sustancias minerales los fosfatos han sido los más atacados.

INDICE DE MINERALIZACION

Las grandes diferencias comprobadas en la composición mineral de los huesos malácicos comparada con los normales, nos ha hecho pensar en el interés biológico y zootécnico que podría tener el poder expresar en cifras comparables la riqueza mineral de los huesos, no solamente para despistar estados de enfermedad relativos sino también el estado constitucional, variabilidad o adaptación de las distintas razas en diferentes países o regiones.

Bajo este punto de vista creemos más conveniente referir los resultados *a 100 c³ de volumen aparente de hueso*, y proponemos como medida del *índice de mineralización* los siguientes elementos y condiciones:

Hueso entero, perfectamente limpio, si es poroso se recubre de un ligero barniz de laca o una delgada capa de parafina, se mide el volumen por inmersión en agua destilada, calculando el volumen ya sea por el aumento en volumen del agua destilada o por diferencia de peso según el método de las densidades, en este caso habrá sido necesario pesar antes el hueso. Después se tritura, se muele y se deseca a 105º, se agota al alcohol y al éter, y se pesa cuidado-

samente el total de harina. Se hace el análisis y los resultados se refieren a 100 c^3 de hueso; por simple proporción entre el volumen aparente del hueso entero y el peso del total de harina obtenida del mismo.

Los resultados para ser comparables, deben obtenerse de huesos anatómicamente semejantes y de animales aproximadamente de la misma edad. Para un estudio más minucioso, podría convenir hacer dos o más índices de mineralización para cada animal, por ejemplo: uno de costilla, otro de hueso largo de las extremidades y es muy probable que podría convenir de las regiones anatómicas en que más tarda en producirse la osificación completa.

Para nuestros casos estudiados tendríamos, refiriéndonos a las costillas, los siguientes índices de mineralización:

Hueso normal	82.19
Hueso malácico	41.80

ETIOLOGIA

Diversos factores que han acompañado la aparición de la enfermedad

Identificada la enfermedad en cuestión como una forma de osteomalacia o caquexia ósea, entidad ya conocida, quedaba por aclarar su etiología.

A ese respecto se han formulado las más diversas teorías. Mientras Morpurgo, Moussu, Theiler, etc., describen los casos observados por ellos como de naturaleza infecciosa; Haufner y Röll la atribuyen a alimentos alterados; Fehling a alteraciones trofoneuróticas dependientes del ovario; para Hönnike, Hutyra y Marek dependería de afecciones del cuerpo tiroides; para gran número de investigadores la principal causa radicaría en el empobrecimiento en anhidrido fosfórico y cal, de los alimentos (Cantinget, Brissonet-Lane, etc.); mientras que para Basset, basado en la calidad de las lesiones, la osteomalacia tendría siempre un origen infeccioso. Es muy probable, que no obstante la semejanza de las lesiones comprobadas, la osteomalacia pueda ser un síndrome, bien caracterizado anatomo-patológicamente, pero que el elemento etiológico puede variar de unos casos a otros.

Pasamos ahora a estudiar los diversos factores que pueden haber intervenido en la aparición de la enfermedad estudiada por nosotros.

En primer lugar, su aparición está ligada a las siguientes circunstancias:

1.º Aparece simultáneamente en varias zonas del país.
2.º Sigue a períodos de seca relativamente prolongados (Comprobación hecha con datos suministrados por el Instituto Nacional Físico-Climatológico).
3.º Reina en ciertas zonas del país y dentro de esas zonas en los campos o potreros, cuyas tierras acusan pobreza en sales de calcio, y sobre todo en ácido fosfórico.
4.º Se manifiesta con preferencia en vacas de por lo menos bastante mestización, jóvenes y criando.
5.º El cambio de los animales a potreros de buenas pasturas y la supresión de la cría influyen rápidamente sobre los enfermos mejorando su estado.
6.º El estudio de la sangre y médula ósea de los animales enfermos, del punto de vista bacteriológico: exámenes directos, cultivos e inoculaciones, dió resultados negativos.

Si bien es cierto que los resultados negativos obtenidos en el estudio bacteriológico no pueden tener un valor absoluto, desde que falta descartar la posibilidad de un virus filtrable y aun dando por negativas investigaciones en ese sentido, cabe siempre concebir la posibilidad de que por perfeccionamiento de técnica pudieran obtenerse resultados positivos, no hay duda alguna, que en la enfermedad estudiada por nosotros, la mayoría de las probabilidades están en el sentido de una osteomalacia alimenticia unida a algunas circunstancias fisiológicas de los animales.

Entra en primer término, la pobreza de ácido fosfórico y sales de calcio de las tierras de los potreros donde aparece la enfermedad. En efecto, las tierras para ser consideradas apropiadas deben contener aproximadamente de 9 grs. 75 a 1 gr. por mil, de ácido fosfórico, expresado en anhidrido (P^2O^5) y de 20 a 25 por mil de cal, expresado en 6 a 0.

Los análisis de las tierras donde aparece la enfermedad, practicados por el Laboratorio Agronómico, arrojan los siguientes resultados:

Cuadro de los resultados para mil de tierra

	Humedad	Anhidrido fosfórico	Cal	Magnesia
Muestra 1 suelo	5.9	0.19	0.56	0.36
" " subsuelo ...	12.8	0.16	0.70	0.18
Muestra 2 suelo	37.4	0.30	4.48	6.86
" " subsuelo ...	58.8	0.29	5.15	7.72
Muestra 3 suelo	14.5	0.30	2.10	4.14
" " subsuelo ...	22.0	0.28	2.80	4.08
Muestra 4 suelo	4.9	0.22	0.63	0.38
" " subsuelo ...	4.7	0.15	0.59	0.30

De ellos se desprende claramente la extraordinaria pobreza en ácido fosfórico y cal. La falta de aguas pluviales, no renovando la carga de las tierras en esas sustancias; la mayor necesidad de esos elementos (fósforo y calcio) de los animales, por su calidad de raza perfeccionada, su período aún de crecimiento (animales nuevos) y la secreción láctea en actividad (vacas con cría), son factores que han exagerado las consecuencias de la pobreza de las tierras. Estas circunstancias nos inducen, pues, a considerar la osteomalacia estudiada por nosotros, como *osteomalacia alimenticia, forma puerperal.*

Dentro del mismo orden de ideas cabría también considerar la influencia que pudieran tener los valores relativos del ácido fosfórico, cal y magnesia; es decir, si además de la pobreza no influye la proporción relativa entre ellos, pues en materia de alimentos, según Mc Collum, tendría mayor importancia para la producción del raquitismo, la proporción relativa, sobre todo del ácido fosfórico y cal, que sus valores bajos.

Se plantea igualmente la posibilidad de la influencia del factor vitamínico, ¿hay simplemente pobreza en ácido fosfórico y calcio o además falta de asimilación por carencia del factor D? Hay algunos hechos muy interesantes que harían pensar también en la intervención de ese factor. En efecto, 1.º la enfermedad estudiada por nosotros, parece acentuarse más, en el período de lluvia que sigue a la seca, que en la seca misma. 2.º En los animales enfermos, no obstante la pobreza mineral de los huesos, se observan aposiciones calcáreas que nosotros hemos descripto, y lo que es más interesante aún, verdaderas concreciones o depósitos calcáreos en algunos cartílagos, que parecen indicar más bien una perturbación del metabolismo fosfo-cálcico. Habría que pensar si a la pobreza de esas sustancias en la tierra, no acompaña una disminución del factor D en los pastos.

Estas cuestiones plantean un problema de interés general para el país, pues según los análisis publicados (Farmacéutico Andrés Aguirre Arregui. Nuestras tierras y su posible mejoramiento. Tesis 1921), nuestras tierras son en general pobres en ácido fosfórico, lo que induce a pensar que la osteomalacia debe estar bastante extendida o que por lo menos nuestros ganados están expuestos a sufrir perturbaciones en su desarrollo y quizás no se obtenga todo el resultado deseable de las razas precoces.

INFLUENCIA DE LA COMPOSICION DEL SUELO Y DE LOS PASTOS SOBRE EL DESARROLLO DE LA OSTEOMALACIA DE LOS BOVINOS (HIPOFOSFOROSIS)

Publicado en la *"Revista Argentina de Agronomía"*, Tomo I. N.º 4. 1934

La osteomalacia es una enfermedad común a varias especies animales y al hombre.

Existe en la mayoría de los países del mundo; pero es más frecuente en los países del hemisferio Austral, Sud Africa, Sud América, Australia, Nueva Zelandia, Argentina, Brasil y Uruguay.

En el Uruguay fué señalada primeramente en el departamento de Treinta y Tres por el Dr. D. Acosta Churruca, pero sin haber hecho ningún estudio. A fines del año 1916 y principio de 1917, coincidiendo con una sequía intensa tomó mucho incremento y fué motivo de alarma para los ganaderos de algunos departamentos.

En esa época estando radicado en Durazno, me tocó estudiar la enfermedad en un establecimiento donde se presentó con gran intensidad y formulé un informe preliminar al Ministerio de Industrias.

En ese mismo año, el Dr. Luis Murguía estudió la enfermedad en un establecimiento a inmediaciones de Estación Merinos, publicando una interesante monografía.

En octubre de 1927, presenté un trabajo a la Sociedad de Biología de Montevideo, haciendo el estudio clínico, anatomo-patológico y de la profilaxis.

A fines de 1931 y principio de 1932 la enfermedad recrudeció extraordinariamente en nuestro país, y en el departamento de Cerro Largo, fué señalada con caracteres alarmantes. Parece que esta enfermedad abarca cada vez zonas más extensas y asume mayor gravedad.

A principios de 1932 con motivo de los requerimientos de algunos ganaderos de ese departamento reiniciamos los estudios, encomendados por la Dirección de la Policía Sanitaria de los animales, cuyos resultados expondremos principalmente en la presente disertación.

En la República Argentina ha sido señalada en varias zonas y el Dr. Torregiani ha publicado un interesante trabajo, sobre casos producidos en el Partido de Pueyrredón, provincia de Buenos Aires.

Probablemente debe existir también en las provincias de Entre Ríos y Corrientes, si nos atenemos a los resultados de los análisis de tierra publicados (véase P. Lavenir. *Estudios de los suelos argentinos.* Anales del Ministerio de Agricultura, Sección de Química, Tomo I, N.º 1).

ESPECIES ATACADAS

La osteomalacia es más común en los bovinos, pero ataca también a los ovinos y equinos. En los bovinos es más frecuente en las vacas con cría, de preferencia en las primeras pariciones. Es también más frecuente en los animales de las razas precoces puras y sus mestizos. A medida que pasan los años, en una misma zona, la enfermedad se va extendiendo y se hace más intensa, ataca a las vacas de mayor edad y a los novillos nuevos; como fué observado el año 1932 en algunos establecimientos.

Pero de un modo general, la mayor intensidad se presenta en las vacas nuevas, con cría al pie y de razas precoces. En un establecimiento puede atacar algunos rodeos y respetar otros.

A veces en un rodeo se presenta en pocos animales y otras en gran cantidad, dependiendo de algunas circunstancias que enumeraremos más adelante.

LA OSTEOMALACIA SE CARACTERIZA POR UN TRIPLE SINDROME: CLINICO-ANATOMO-PATOLOGICO Y QUIMICO

Síntomas. — Antes de aparecer la enfermedad en sus síntomas clínicos, es denunciada por el deseo de los animales de comer huesos (osteofagia), a veces ingieren otros cuerpos extraños, lamen o comen tierra. A distancia se puede diagnosticar que un rodeo está en inminencia de osteomalacia, viendo los animales en el campo entretenidos en masticar huesos, a veces se amontonan alrededor de una osamenta. Esto constituye, podríamos decir, el toque de alarma, sobre todo, cuando se presenta en un número crecido de animales de un rodeo.

La enfermedad es apirética y el primer síntoma clínico, es la aparición de una cierta irregularidad en la marcha, más acentuada en los miembros anteriores revelada porque los movimientos de los remos son menos amplios y más rígidos. Poco a poco la enfermedad se acentúa, los animales apoyan las patas sobre el suelo en forma cautelosa, característica, dando la impresión de que desean evitar el dolor. Después las masas musculares comienzan a atrofiarse, el animal, podría decirse, se seca; esto es muy visible en la región de las paletas, las que muestran claramente sus prominencias óseas y parecen enclavadas en el cuerpo.

Esta circunstancia ha motivado que en algunos lugares se la designe con el nombre de "mal o enfermedad de las paletas".

En un grado más avanzado, la columna vertebral se arquea, formando una curva levantada, (cifosis) y los animales toman un aspecto particular. Mueven los miembros muy cautelosamente, las

paletas están fijas haciéndose las oscilaciones de los miembros anteriores a partir de la articulación escápulo-humeral. Los animales se desplazan raramente o con mucha dificultad permaneciendo echados, a veces caen produciéndose fracturas de los miembros, escápulas, costillas, etc.

Se suele observar las articulaciones abultadas, hinchazones duras en algunos huesos. Palpando las costillas en sentido supero-inferior se observa en gran número de ellas, más frecuentemente en la parte media, abultamientos ovoides característicos, formando en conjunto lo que podríamos llamar el rosario malácico.

ANATOMIA PATOLOGICA

Lesiones

En el examen de los sujetos sacrificados se observa lo siguiente:

1.º Aspecto general de caquexia y atrofia de las masas musculares.
2.º Las vísceras de las cavidades torácicas y abdominal de aspecto normal.
3.º Sistema óseo profundamente alterado.

LESIONES DEL SISTEMA OSEO

a) Examen macroscópico

A simple inspección se nos revelan deformaciones en las articulaciones, en los huesos y fractura de los mismos; estas alteraciones se presentan con mayor frecuencia en los huesos planos.

Haciendo un examen sistemático llama la atención las pequeñas tumoraciones óvoides en las costillas; estas deformaciones las hemos encontrado en todos los animales autopsiados, y en muchos enfermos por palpación de la pared torácica; en algunos sujetos, en la casi totalidad de las costillas, dando a primera vista la impresión de consolidación de fracturas, que una observación minuciosa y sobre todo el estudio de la estructura, pone de relieve que si algunas veces eso es cierto, en la mayoría son espesamientos de estructura esponjosa, reacciones de defensa en zonas en que el hueso alterado está más amenazado en su integridad.

Deformaciones análogas se suelen encontrar en otros huesos. Debemos destacar una bastante constante que se encuentra en el borde posterior de la escápula, algo más arriba del punto medio; probablemente punto en que por la estructura del hueso y fuerzas que sobre él operan tendría tendencia a ceder.

Estas tumoraciones son muy visibles y un corte de las mismas demuestra que están formadas por aposiciones calcáreas sobrepuestas, dando al corte un aspecto de ágata.

Las fracturas son igualmente muy frecuentes en esos tipos de huesos, ellas parecen, cuando tienen algún tiempo de producidas, muy abultadas por la formación de un callo voluminoso, la sección muestra los extremos de los huesos sumergidos en una pasta cartilaginosa de poca consistencia. Algunas veces los extremos fracturados, insuficientemente inmovilizados, pulen por frotamiento suave sus caras cubiertas de un barniz cartilaginoso, dando lugar a la formación de articulaciones imperfectas.

El estudio estructural de los huesos nos revela alteraciones profundas en la sustancia fundamental, pero no uniformemente en todo el esqueleto; son más intensas en los huesos de médula roja (planos, cortos) que en los demás del organismo.

Tomando como tipo de descripción, las costillas o escápulas, que son las piezas más alteradas, comprobaremos: periostio hiperplásico, por tracción se desprende con facilidad dejando en descubierto una superficie porosa, rojiza, que se hunde fácilmente por presión. Haciendo un corte transversal se ve la médula color rojo oscuro: el canal medular muy dilatado y la zona esponjosa más extendida, ambos a expensas del tejido compacto, a veces queda como único vestigio una delgada lámina resblandecida que a la sección se confunde con el periostio hiperplásico. Las láminas del tejido esponjoso, limitan unas veces grandes lagunas llenas de médula color rojo-pardo, flúida, muy vascularizada y otras se encuentran como perdidas en la masa medular.

En los cortes a la altura de los abultamientos se observa una estructura algo distinta; la zona esponjosa mucho más extensa y las láminas forman un tejido tupido y regular semejando un panal de abejas; son más blandas, con escasa calcificación: es un tejido óseo de nueva formación.

Lesiones análogas se encuentran en la mayoría de los huesos, pero en grado inferior.

Las profundas alteraciones corresponden a los huesos tipo médula roja. Los huesos largos se muestran menos alterados; sin embargo, suelen observarse lesiones de importancia, presentando en las caras articulares grandes zonas de color rojo intenso algo violáceo, que son la revelación de una intensa congestión sub-cartilaginosa y que explican los dolores que experimentan los animales en la marcha. En un corte longitudinal observamos: médula amarilla, de apariencia normal con vasos sanguineos muy dilatados.

En los animales relativamente jóvenes, cuando la osificación no ha sido completa aún, he encontrado el cartílago que une la diafisis con la epifisis muy blando, irregular, con grandes brotes sumergidos

en la médula. El tejido esponjoso de las extremidades está algo alterado, y son muy visibles dos zonas rojas, una periférica, en la superficie de unión del tejido óseo con el periostio (lateralmente) y con el cartílago articular (en la extremidad articular), y otra perimedular; las lagunas de esta zona contienen médula roja. Análogas lesiones se observan en las extremidades articulares de los huesos planos y cortos que forman parte de articulaciones de los miembros, son muy visibles en el cuerpo articular de las escápulas. Son zonas de congestión, intensas vascularizaciones que el organismo establece para atacar el tejido óseo.

EXAMEN MICROSCOPICO

Es en el examen histológico donde aparece más claramente la profunda alteración de la sustancia ósea fundamental; esas modificaciones son distintas de un animal a otro, según el período de evolución de la enfermedad; en el mismo animal según los huesos y en éstos distintos aún, según las zonas, pero esas diferencias, mirado el proceso en conjunto, no son de cualidad sino de grado.

Como el examen macroscópico, el estudio histológico descubre que las alteraciones más profundas residen en los huesos a médula roja, especialmente en las costillas y escápulas. Observando un corte transversal, coloreado por eosina, fuchsina ácida o por azul de Unna, aparece el tejido óseo con un aspecto completamente distinto del normal; mientras en éste se ve un periostio delgado, un sistema de láminas óseas sub-perióstico, láminas peri-medulares y entre esos dos sistemas laminares, los sistemas de Havers perfectamente regulares y calcificados; en los huesos enfermos todo es mezcla y confusión en que la estructura Haversiana ha desaparecido casi por completo.

El periostio hiperplásico, las lagunas medulares ensanchadas, llenas de tejido vaso-conjuntivo; los sistemas de láminas óseas subperiósticas y peri-medulares han desaparecido o sólo restan vestigios y en su lugar se establecen grandes zonas de actividad celular destinadas a disolver el tejido óseo descalcificado, tejido osteoide, que el organismo fabrica para sostener la armadura ósea en demolición.

La sustancia compacta en el hueso normal, formada por los sistemas de Havers; está completamente cambiada en el hueso malácico en que los sistemas Haversianos han sido destruídos y sólo a veces quedan de ellos algunos vestigios. Los canales de Havers, centro de los mismos sistemas, se han transformado en verdaderas lagunas, llenas de tejido conjuntivovascular, que son el asiento de intensa actividad celular; sus células polinucleadas (osteoclastos) ya atacan la sustancia ósea, ya edifican tejido osteoide, que se distinguen per-

fectamente en las preparaciones porque toman color fuertemente rojo con la eosina y fuchsina ácida, y verde claro con el azul de Unna.

El tejido osteoide tiene una estructura laminar y posee células óseas (osteoblastos) es semejante al tejido óseo normal, pero sin sales de calcio, es una aposición acalcárea. De la sustancia fundamental sólo quedan algunos islotes muchas veces como si estuvieran comprimidos y tumbados los unos sobre los otros; en estos islotes las células óseas tienen una forma más ovoide; sus prolongaciones son extensas y dilatadas y se entrelazan las de unas células con las de otras.

En los abultamientos costales el tejido presenta un aspecto algo distinto; todo el tejido óseo ha sido sustituído por tejido osteoide ligeramente calcificado y sus láminas forman una trama muy tupida, con lagunas regulares y a un fuerte aumento da la impresión de un panal de abejas. El periostio está bastante engrosado.

En el estudio de las zonas de congestión de las epifisis se observan alteraciones de otra índole; primero, por la intervención de un nuevo elemento: el cartílago, y segundo, por corresponder a un proceso más tardiamente incorporado en la evolución de la enfermedad. Entre el cartílago y la sustancia ósea no existe una separación nítida; ambos están entrelazados por prolongaciones, pero la sustancia ósea que se encuentra dentro del cartílago tiene muchas células que conservan aún el aspecto de las cartilaginosas. La zona ósea contigua está muy vascularizada, lo que explica la intensa faja roja observada macroscópicamente; la sustancia ósea conserva la sistematización Haversiana, sólo que los canales están más dilatados y circundados por faja de tejido osteoide.

Es interesante señalar, que no obstante la intensidad de los procesos de desmineralización que como veremos más adelante se refieren especialmente a pérdidas de ácido fosfórico y calcio; en los mismos animales se encuentran tejidos óseos de nueva formación, sobre todo en forma de aposiciones y además concreciones calcáreas incluídas en los cartílagos, mismo en los articulares, donde no existen normalmente. Esto parece indicar una gran perturbación en el metabolismo mineral, en que el organismo bajo la influencia de determinados factores, ya disuelve ya deposita minerales en sus tejidos.

SINDROME QUIMICO

Tal como lo hace prever el estudio anátomo-patológico, se comprueban grandes modificaciones en la composición del tejido óseo. Igualmente, se ha comprobado alteraciones químicas en la sangre.

Tejido óseo. — La mayoría de los investigadores que se han ocupado del estudio de la osteomalacia, prestaron preferente atención al estudio químico de los huesos. Pero debemos destacar que los aná-

lisis presentados no revelaron diferencias muy marcadas con los huesos normales y sobre todo no correspondían a las profundas alteraciones del tejido óseo malácico reveladas por el estudio anátomopatológico. La insuficiencia de esos análisis, como expresión de las alteraciones químicas del hueso se debe a varias circunstancias: en primer lugar, el hueso no es un tejido sino un órgano, variable según la región anatómica, según la edad, el sexo, y el estado fisiológico del animal y además, por su estructura heterogénea, variable aún en sus distintas partes: no es lo mismo la parte esponjosa que la compacta, la diáfisis que la epifisis. A esto debemos agregar la apreciable influencia en los resultados por los distintos métodos de análisis empleados.

Pero la mayor deficiencia de los datos analíticos se debe sin duda alguna, a la expresión de los resultados refiriéndolos a la composición centesimal en peso, forma habitual, por otra parte, en la mayoría de los análisis.

Para la mayor comprensión de mi propósito, transcribo a continuación los resultados de los análisis de algunos investigadores.

CUADRO N.º 1

Análisis de Mosselmann y Hebrand

Para simplificar no ponemos humedad, grasa y otras sustancias

		Hueso normal	Hueso malácico
Sustancia cortical	oseina	34.50	35.91
	calcio	26.48	25.96
	ácido fosfórico	22.29	21.32
Sustancia esponjosa	oseina	36.69	27.80
	calcio	16.72	15.83
	ácido fosfórico	15.55	11.50

CUADRO N.º 2

Resultados de *Guthrie, Jensen y Ramsay* de Nueva Gales del Sur; transcrito de un trabajo de nuestro colega, el *Dr. Luis J. Murguía*

	Animales de zona normal	Animales de zona afectada
Humedad	9.82	9.47
Materia orgánica	28.79	30.92
Ceniza	61.39	59.61
Calcio en CaO	28.32	27.67
Acido fosfórico en P_2O_5	26.33	24.37

CUADRO N.º 3

Muestras de huesos, normales y malácicos, del Uruguay, transcritos de nuestro trabajo anterior.

(Muestras agotadas por alcohol y éter y desecadas a 105º)

	Hueso normal	Hueso enfermo
Ceniza %	59.13	44.10
Materia orgánica y CO_2 de los carbonatos	40.87	55.90

Composición centesimal de la ceniza

	Hueso normal	Hueso enfermo
Fosfatos de cal y magnesio	86.38	82.25
Oxido de calcio de los carbonatos	3.43	8.55

Estudiando detenidamente estos cuadros se observa:

1.º La disparidad en los resultados de los distintos análisis.

2.º La reducida diferencia en algunos de ellos, entre hueso normal y hueso enfermo. Las mayores diferencias se observan en los análisis aportados por nosotros, por tratarse sin duda de animales en enfermedad muy avanzada y condiciones analíticas mejor precisadas.

3.º En el calcio total, no aparece ninguna diferencia apreciable entre hueso normal y malácico, el calcio de los carbonatos aparece aumentado y también la oseina, salvo en un análisis.

Estos resultados están en contradicción, con la convicción que resulta del estudio anátomo-patológico; el que nos demuestra que hay demolición del tejido óseo en todas sus partes y desmineralización intensa.

Eso se debe, a que la composición centesimal, al acusar una mayor pérdida en las sustancias minerales, debe forzosamente arrojar un aumento en la materia orgánica; y por la misma razón, dentro de las sustancias minerales, una pérdida relativamente mayor de anhidrido fosfórico tiende a elevar la expresión del valor del calcio.

Estos hechos, ponen bien de relieve, que tales expresiones analíticas, a parte que no traducen fielmente la demolición del tejido óseo del animal malácico, son insuficientes para despistar grados menos avanzados de la enfermedad y mucho más en su forma incipiente.

En efecto, el análisis centesimal sólo traduce las diferencias que resultan por la pérdida desigual de los distintos componentes del hueso. Si el hueso al hacerse malácico perdiera en todas sus sustancias, en la misma proporción, la composición centesimal del hueso malácico, aún del más intensamente malácico, sería exactamente igual a la del hueso normal.

Por tales razones, ya en nuestra segunda publicación sobre osteomalacia, pensamos que era necesario buscar otra expresión más fiel de los resultados y propusimos referir la composición al volumen aparente del hueso considerado como pieza anatómica.

Es evidente que para que los resultados sean más valederos, debemos comparar huesos de la misma posición anatómica, y de animales aproximados en edad, y de iguales razas y sexos.

Técnica. — Se toma un hueso entero, se limpia bien quitándole el periostio por raspaje. Se recubre de una delgada capa de parafina bien caliente, se pesa el hueso y luego se pesa nuevamente sumergido en el agua.

La diferencia de los dos pesos en gramos, da el volumen aparente del hueso expresado en el cm^3. Se tritura y muele toda la pieza, se seca y luego se desengrasa con bencina y se vuelve a secar. Se pesa el total de la harina de hueso desengrasada así obtenida. De ésta se toma una parte para el análisis, la que se deseca a 105°.

Se conoce así el volumen del hueso, el peso total de la harina desengrasada, los resultados del análisis se refieren luego a la harina que teóricamente corresponde a 100 cm^3 del volumen aparente.

Para estos análisis hemos tomado las siguientes piezas anatómicas: la 7.ª costilla, una escápula y un húmero, que se analizan por separado.

En un trabajo anterior, publicamos los resultados comparados, de la composición centesimal y de la composición por volumen, de algunas costillas, que transcribo a continuación:

CUADRO N.° 4

Composición centesimal

(En peso)

	Hueso normal	Hueso malácico
Ceniza %	59.13	44.10
Sustancia orgánica y CO_2 de los carbonatos	40.87	55.90
Fosfatos de calcio y magnesio	51.12	36.40
Oxido de calcio de carbonatos	2.02	3.77

Composición para 100 cm^3 de volumen aparente

	Hueso normal	Hueso malácico
Ceniza	82.19	41.80
Sustancia orgánica y CO_2 de los carbonatos	56.81	53.20
Fosfatos de calcio y magnesio	70.99	35.38
Oxido de calcio de los carbonatos	3.57	2.81

A continuación insertamos los cuadros de los análisis de huesos de dos animales de nuestras últimas investigaciones; uno de ellos de animal normal y el otro atacado de osteomalacia. De cada animal se expresan los resultados por una parte en la composición centesimal en peso (parte izquierda de los cuadros) y por otra refiriéndolos a 100 cm^3 de volumen aparente (parte derecha de los cuadros). En todos los cuadros los números expresan las sustancias en gramos.

CUADRO N.º 5

Animal normal

(N.º 18 de los cuadros de análisis)

	Composición centesimal				Composición para 100 cm^3 de volumen aparente			
	Oseína	Ceniza	P_2O_5 total	Ca o total	Oseína	Ceniza	P_2O_5 total	Ca o total
Fémur	39.74	58.64	24.83	31.54	28.02	42.50	17.52	22.25
Escápula	39.01	60.99	25.03	32.69	46.29	69.95	28.55	37.25
Costilla	38.67	61.33	25.78	32.08	44.03	69.85	28.80	37.41

Animal malácico

(N.º 1 del cuadro de análisis)

Fémur	41.36	58.64	22.91	30.09	18.08	25.77	10.04	13.20
Escápula	43.13	56.87	22.82	31.35	23.07	30.42	12.21	16.77
Costilla	47.77	52.23	19.52	26.32	33.84	37.01	13.84	18.64

Un estudio de los cuadros N.º 4 y 5, en que se comparan para las mismas muestras de huesos los resultados analíticos de la composición centesimal, con los resultados referidos a 100 cm^3 del volumen aparente, nos demuestra, que salvo en los casos de una Osteomalacia muy acentuada, la composición centesimal no nos revela una diferencia apreciable; en cambio los valores en gramos de los mismos re-

feridos al volumen aparente del hueso, señalan en el cuadro N.º 4 una diferencia de 50 % en menos, tanto para la ceniza como para los fosfatos, de los huesos malácicos comparados con los normales.

El cuadro N.º 5 es aún más demostrativo. Los valores de la composición centesimal muestran: para el fémur del animal malácico 58.64 de cenizas, exactamente igual a la del fémur normal, en la escápula y en la costilla, huesos que se alteran más, aparece una diferencia algo más apreciable en el último hueso. Comparando los valores de anhidrido fosfórico, las diferencias son también poco apreciables, aunque algo más que para las cenizas y en los calcios totales, no hay casi diferencia, salvo para la costilla.

En cambio, comparando en el mismo cuadro los valores referidos a 100 cm^3 de volumen aparente, las diferencias son muy acentuadas en todos los huesos y salvo el fémur la pérdida en sustancias minerales del animal malácico, inclusive el calcio total, se aproxima o es aún superior a un 50 %, comparados con el animal normal.

Recapitulando los resultados de esos cuadros podemos llegar a las siguientes conclusiones que resumen las alteraciones químicas que sufre el hueso malácico:

1) El hueso del animal malácico muestra una disminución en todas las sustancias componentes del tejido óseo (orgánicas y minerales).
2) Las pérdidas son más acentuadas para las sustancias minerales que para las orgánicas, pudiendo llegar la pérdida de aquéllas a un 50 % o más.
3) De las sustancias minerales es el anhidrido fosfórico el más atacado, luego le sigue el calcio total, y después el calcio de los carbonatos.

INDICE DE MINERALIZACION. SU SIGNIFICADO Y APLICACION

Los resultados analíticos de los huesos expresados en gramos de sustancias contenidas en un volumen (aparente) dado de huesos, son la expresión fiel de la composición del hueso, frente a la composición centesimal que revela la composición, no del hueso como pieza anatómica, sino del tejido óseo.

Ya en nuestra segunda comunicación sobre osteomalacia (Sociedad de Biología de Montevideo, 26 de octubre de 1927. Véase Revista de Medicina Veterinaria de Montevideo, Año XI - N.º 31, Julio de 1928); propusimos designar con el nombre de *Indice de mineralización* a la cantidad de sustancias minerales (cenizas) expresada en gramos, que corresponden a 100 cm^3 del volumen aparente del hueso entero tomado como unidad.

Un ejemplo aclarará mejor el concepto.

Supongamos el húmero de un animal. El volumen del hueso nos da 591 cm^3; el hueso triturado, desengrasado, secado, vuelto a moler y secado nuevamente pesa 297,6 g.; el análisis demuestra para 10 g. de esta sustancia 5,118 g. de ceniza; para el peso total de la sustancia del hueso $\frac{297,6}{10} \times 5,118 = 152,31$ g.; como el volumen aparente del hueso entero es de 591 cm^3, para 100 cm^3 corresponderá:

$$\frac{152,31 \times 100}{591} = 25,77.$$

Este valor de 25,77 g. de ceniza sería el *índice total de mineralización* del hueso. Además de este índice total, pueden establecerse *índices parciales* de: anhidrido fosfórico, calcio total, calcio de los fosfatos, calcio de los carbonatos, magnesio, etc., dosificando estas sustancias en las cenizas y calculando siempre los valores en gramos para 100 cm^3 del volumen del hueso.

De cada animal tomamos tres piezas: un húmero, una costilla (la 7.ª) y una escápula. En esta forma se evita la posibilidad de un error debido a la alteración aislada de un hueso. Por otra parte, la escápula y la costilla como huesos planos, y sobre todo las costillas (según nuestras investigaciones), son las que se alteran más, y permiten despistar los primeros grados de osteomalacia; la alteración del húmero, hueso de tipo largo, denuncia un grado más avanzado de la enfermedad.

Tomando siempre las mismas piezas anatómicas de cada animal, se hace posible la comparación del índice de mineralización de un animal a otro.

Las diferencias tan pronunciadas encontradas en los valores minerales referidos al volumen aparente *(índice de mineralización)*, entre animales malácicos y normales, nos hizo concebir, además de la posibilidad de poder despistar formas incipientes de osteoporosis, la utilidad de aplicar ese método a la investigación de la mineralización de las diferentes razas vacunas y en general de los ganados de las distintas zonas del país.

Esta idea aparece tanto más aceptable y útil, por cuanto la mineralización del animal es el reflejo de la alimentación y está condicionada por la calidad de los alimentos, de las pasturas, etc.; los animales ricamente alimentados, las razas precoces tienden hacia un esqueleto de menor volumen, a huesos de mayor densidad y por lo tanto de un elevado índice de mineralización.

En cambio una alimentación pobre, así como un bajo contenido mineral de las pasturas, tienden a la pérdida de la precocidad, al retardo en la soldadura de los huesos, al aumento del volumen de los mismos y por lo tanto al descenso del índice de mineralización.

ESTUDIO DEL INDICE DE MINERALIZACION DE LOS GANADOS DEL URUGUAY

Transcribimos los resultados de los análisis de muestras de 57 animales; cada animal corresponde a una tropa diferente y proceden de distintas zonas del país. La casi totalidad de las muestras fueron tomadas de tropas destinadas al sacrificio en los frigoríficos. De cada animal se analizó un húmero, una escápula y una 7.ª costilla, cuyos resultados se expresan por separado.

Los números expresan gramos de las respectivas sustancias correspondientes a 100 cm^3 del volumen de los huesos respectivos. Los valores en ceniza corresponden al *índice total de mineralización,* los valores en fosfato de calcio, óxido de calcio y óxido de magnesio a sus respectivos índices parciales.

El examen de estos cuadros nos revela algunos hechos interesantes. En primer lugar, de los tres tipos de huesos estudiados, la escápula es la más rica en sales minerales, luego le sigue la costilla y por último el húmero.

Considerando los valores en ceniza de las 7.as costillas, observaremos que los valores más altos corresponden a animales procedentes de los departamentos del litoral: Salto, Paysandú y Artigas; departamentos muy acreditados por sus pasturas y que los valores más bajos pertenecen a los departamentos de: Treinta y Tres, Cerro Largo, Rocha, Tacuarembó y Flores; los dos primeros muy azotados por la osteomalacia y en los otros también se han comprobado casos de esa enfermedad.

Es indudable que el número de análisis que aportaremos es insuficiente para sacar conclusiones generales; también debemos destacar que será necesario precisar mejor algunas condiciones para las tomas de muestras de huesos, sobre todo la edad de los animales, raza y sexo. Por otra parte, es muy importante establecer bien el origen de los animales, sobre todo la zona donde fueron criados y estudiar las tierras y las pasturas de la misma zona.

Si nosotros hemos agrupado en nuestros análisis, los animales por departamento, no ha sido para acordarle un valor de determinada clase de campo o fertilidad, desde que la división de nuestro país obedece a razones de orden administrativo, lo que lógicamente hace suponer la posibilidad que dentro de un mismo departamento hayan campos buenos, regulares o malos; aunque los elementos naturales utilizados como límites, (ríos, arroyos, etc.), unidos a cierta predominancia de una naturaleza geológica dada, determinan una desigual distribución de los campos fértiles, de donde resulta que considerados globalmente un departamento puede demostrar una mayor extensión de campos buenos que otro.

CUADRO N.º 6

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
34	49.15	43.91	1.75	0.54	72.70	64.27	3.64	0.81	65.13	57.57	3.35	0.73	Rio Negro
45	48.65	45.42	1.76	0.58	73.22	68.17	2.27	0.90	69.15	63.69	2.43	0.99	» »
59	45.77	42.50	1.27	0.57	71.37	65.95	2.50	0.74	68.32	63.68	2.07	0.70	Lavalleja
49	50.97	47.32	1.88	0.56	75.32	70.59	2.78	0.86	66.81	63.19	2.69	0.79	Soriano
21	(*)42.43	39.39	1.13	0.40	(*)63.53	58.40	1.69	0.66	(*)52.63	45.91	2.28	0.62	Treinta y Tres
55	46.87	42.04	2.15	0.56	69.15	64.67	3.71	0.80	64.10	58.15	3.35	0.79	» » »
14	(*)40.55	38.72	2.09	0.49	(*)64.90	60.84	1.48	0.71	(*)52.20	48.93	1.42	0.44	Rocha
23	48.07	42.72	1.87	0.56	67.66	58.54	3.27	0.72	67.11	59.70	2.86	0.67	»
42	(*)40.69	37.52	1.17	0.44	(*)63.68	57.66	2.29	0.66	(*)57.00	52.23	2.00	0.62	»
43	49.02	44.61	1.99	0.55	72.08	64.69	3.74	0.87	64.05	58.70	2.93	0.73	»

NOTAS: 1.ª Los números expresan gramos de las respectivas sustancias para 100 cm³ de volumen aparente del hueso.
2.ª Los asteriscos señalan los valores bajos (índice bajo de mineralización).

CUADRO N.º 7

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
1	(*)25.77	21.94	1.31	0.14	(*)30.42	26.66	2.32	0.20	(*)37.01 (*)33.70	30.22 28.76	2.27 2.10	— —	Cerro Largo » »
4	(*)41.23	37.65	1.29	0.45	(*)63.22	57.71	2.63	0.23	(*)59.52	54.21	1.87	0.67	» »
12	46.23	44.23	0.88	0.42	67.99	63.36	2.18	0.84	68.80	64.65	1.23	0.87	» »
15	46.20	43.48	1.52	0.53	65.74	62.24	1.37	0.66	64.19	60.84	2.07	0.66	» »
16	46.12	43.42	1.03	0.47	73.13	67.88	1.66	0.69	63.37	58.32	2.27	0.65	» »
18	42.50	38.25	1.52	0.41	69.95	62.33	3.47	0.70	69.85	62.88	3.33	0.74	» »
20	53.43	46.81	2.43	0.56	73.48	63.73	4.31	0.83	68.16	60.83	3.46	0.77	» »
22	46.94	42.09	1.69	0.50	(*)64.70	58.60	2.09	0.62	(*)54.68	49.97	1.62	0.56	» »
26	(*)36.89	33.50	1.21	0.43	(*)61.13	54.90	2.79	0.70	—	—	—	—	» »
30	46.61	44.65	0.57	0.55	72.32	68.84	1.19	0.87	64.99	58.12	2.92	0.75	» »
35	50.88	42.45	2.41	0.57	73.27	64.57	4.18	0.81	68.57	59.67	4.84	0.75	» »
60	47.74	45.28	1.06	0.49	68.84	63.96	2.37	0.74	68.53	65.32	1.31	0.73	» »
13	(*)41.83	38.76	0.94	0.50	(*)65.99	61.15	2.73	0.69	(*)54.85	51.24	1.68	0.63	» »

NOTA: La muestra N.º 1 corresponde a un caso de osteomalacia clínica, forma avanzada.

CUADRO N.º 8

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
3	48.15	43.24	1.98	0.26	75.02	66.79	3.83	0.39	—	—	—	—	Florida
9	43.47	39.54	1.34	0.58	(*)60.98	56.39	2.09	0.83	(*)56.14	51.31	2.80	0.79	»
10	44.07	41.43	1.06	0.49	(*)56.10	50.87	1.91	0.67	(*)48.63	45.11	1.98	0.63	»
32	41.56	39.09	0.66	0.46	(*)61.94	57.45	1.21	0.68	(*)50.72	47.77	0.93	0.60	»
40	44.32	41.58	1.11	0.52	70.15	64.56	2.70	0.84	63.24	58.53	1.93	0.71	»
47	(*)40.82	37.72	1.95	0.45	(*)59.93	54.77	2.73	0.77	(*)57.93	52.57	3.01	0.75	»
48	44.35	41.00	1.67	0.56	73.87	68.26	3.22	0.86	68.08	63.81	2.39	0.83	»
57	47.49	43.97	1.06	0.53	73.02	67.12	2.12	0.83	69.25	62.84	2.92	0.78	»
43 bis	46.28	41.95	2.41	0.54	67.22	61.02	3.42	0.77	61.09	55.71	2.88	0.73	»
8	(*)37.16	32.65	1.57	0.39	(*)56.87	48.54	4.85	0.60	(*)48.55	43.38	3.22	0.55	Flores

CUADRO N.º 9

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
19	(*)39.83	37.11	1.34	0.33	(*)63.33	56.90	2.89	0.67	(*)59.35	53.97	2.20	0.61	Salto
24	(*)40.63	36.73	1.59	0.41	(*)61.03	57.44	1.35	0.64	(*)60.43	56.46	2.00	0.77	»
31	50.63	48.32	1.08	0.61	72.44	66.17	2.48	0.83	69.24	62.68	3.00	0.74	»
37	48.20	45.65	0.87	0.56	69.79	63.94	1.95	0.82	67.40	60.50	2.85	0.76	»
44	47.09	43.67	1.18	0.55	70.61	65.87	2.35	0.86	66.01	59.58	3.95	0.80	»
46	49.52	46.33	1.40	0.60	78.17	72.00	3.73	0.88	72.12	66.63	2.55	1.01	»
51	52.96	49.76	1.84	0.61	73.68	68.36	2.94	0.83	65.54	60.78	2.70	0.72	»
53	47.24	43.85	1.82	0.60	74.87	68.69	3.26	0.99	71.55	64.79	2.66	0.95	»
5	42.95	39.02	1.41	0.37	68.49	62.77	1.82	0.74	64.94	58.70	2.25	0.48	Artigas
6	48.48	43.82	1.59	0.66	74.73	67.46	2.19	0.75	70.30	64.39	2.30	0.81	»
7	48.25	45.32	0.99	0.68	63.87	56.38	2.81	0.82	61.86	56.36	3.14	0.89	»

CUADRO N.º 8

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
3	48.15	43.24	1.98	0.26	75.02	66.79	3.83	0.39	—	—	—	—	Florida
9	43.47	39.54	1.34	0.58	(*)60.98	56.39	2.09	0.83	(*)56.14	51.31	2.80	0.79	»
10	44.07	41.43	1.06	0.49	(*)56.10	50.87	1.91	0.67	(*)48.63	45.11	1.98	0.63	»
32	41.56	39.09	0.66	0.46	(*)61.94	57.45	1.21	0.68	(*)50.72	47.77	0.93	0.60	»
40	44.32	41.58	1.11	0.52	70.15	64.56	2.70	0.84	63.24	58.53	1.93	0.71	»
47	(*)40.82	37.72	1.95	0.45	(*)59.93	54.77	2.73	0.77	(*)57.93	52.57	3.01	0.75	»
48	44.35	41.00	1.67	0.56	73.87	68.26	3.22	0.86	68.08	63.81	2.39	0.83	»
57	47.49	43.97	1.06	0.53	73.02	67.12	2.12	0.83	69.25	62.84	2.92	0.78	»
43 bis	46.28	41.95	2.41	0.54	67.22	61.02	3.42	0.77	61.09	55.71	2.88	0.73	»
8	(*)37.16	32.65	1.57	0.39	(*)56.87	48.54	4.85	0.60	(*)48.55	43.38	3.22	0.55	Flores

CUADRO N.º 9

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
19	(*)39.83	37.11	1.34	0.33	(*)63.33	56.90	2.89	0.67	(*)59.35	53.97	2.20	0.61	Salto
24	(*)40.63	36.73	1.59	0.41	(*)61.03	57.44	1.35	0.64	(*)60.43	56.46	2.00	0.77	»
31	50.63	48.32	1.08	0.61	72.44	66.17	2.48	0.83	69.24	62.68	3.00	0.74	»
37	48.20	45.65	0.87	0.56	69.79	63.94	1.95	0.82	67.40	60.50	2.85	0.76	»
44	47.09	43.67	1.18	0.55	70.61	65.87	2.35	0.86	66.01	59.58	3.95	0.80	»
46	49.52	46.33	1.40	0.60	78.17	72.00	3.73	0.88	72.12	66.63	2.55	1.01	»
51	52.96	49.76	1.84	0.61	73.68	68.36	2.94	0.83	65.54	60.78	2.70	0.72	»
53	47.24	43.85	1.82	0.60	74.87	68.69	3.26	0.99	71.55	64.79	2.66	0.95	»
5	42.95	39.02	1.41	0.37	68.49	62.77	1.82	0.74	64.94	58.70	2.25	0.48	Artigas
6	48.48	43.82	1.59	0.66	74.73	67.46	2.19	0.75	70.30	64.39	2.30	0.81	»
7	48.25	45.32	0.99	0.68	63.87	56.38	2.81	0.82	61.86	56.36	3.14	0.89	»

CUADRO N.º 10

Indice de mineralización de los huesos de animales bovinos de distintas zonas del país (Uruguay)

Muestra N.º	HUMERO				ESCAPULA				7.ª COSTILLA				Departamento de origen
	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	Ceniza	Fosfato de calcio	CaO de los carbonatos	Oxido de magnesio	
38	47.16	44.72	0.67	0.52	61.87	58.21	1.10	0.79	70.82	66.24	1.57	0.82	Paysandú
41	44.76	41.89	1.25	0.53	66.07	60.55	2.73	0.75	64.66	59.24	2.46	0.76	»
52	43.79	40.63	2.20	0.52	71.19	65.98	3.05	0.95	63.81	59.83	2.73	0.86	»
56	49.64	45.88	2.03	0.55	69.04	62.84	3.59	0.82	67.00	61.58	3.45	0.81	»
58	41.88	39.44	1.02	0.51	65.50	61.10	1.78	0.80	(*)52.19	48.73	1.16	0.62	»
2	40.51	38.37	0.88	0.38	68.80	60.31	3.64	0.65	—	—	—	—	Tacuarembó
11	47.79	44.85	1.27	0.53	68.67	62.89	2.77	0.84	64.00	61.05	1.56	0.66	»
25	41.26	35.93	2.32	0.50	64.48	58.35	2.48	0.99	(*)55.31	48.07	3.42	0.74	»
27	46.33	41.35	2.06	0.50	72.86	66.03	2.52	0.83	65.13	58.52	2.51	0.73	»
28	43.93	39.81	1.59	0.53	68.40	62.98	2.15	0.83	(*)54.65	48.59	2.61	0.68	»
29	46.35	41.64	2.05	0.61	67.88	62.54	2.41	0.75	59.70	54.80	1.95	0.70	»
50	40.31	38.16	1.08	0.47	68.37	63.55	2.60	0.76	59.38	56.12	1.82	0.68	Durazno
39	41.87	38.62	1.59	0.46	65.32	60.86	2.24	0.77	62.59	57.32	2.14	0.72	Origen indeter.

Es interesante comprobar que no obstante los reparos señalados, los altos índices de mineralización que figuran en los precitados cuadros, caen dentro de los departamentos acreditados por sus pasturas, y los índices bajos dentro de los departamentos en que la osteomalacia es frecuente o ha sido señalada.

MODIFICACIONES QUIMICAS DE LA SANGRE HIPOFOSFEMIA

En la osteomalacia se produce un descenso del valor del fósforo mineral de la sangre.

Para interpretar mejor esa alteración de la composición sanguínea, daremos primeramente una breve noción sobre el estado o combinaciones del fósforo en la sangre.

El fósforo se encuentra en el medio sanguíneo en diversas combinaciones; pudiendo diferenciarse en dos tipos: *fósforo orgánico* y *fósforo mineral.*

En el primer grupo se encuentran diversas combinaciones del fósforo con núcleos orgánicos; comprendiendo principalmente: fósforo protídico en combinación con sustancias albuminoides y que integran las nucleinas; fósforo lipídico, que integra el gran grupo de lipoides fosforados (o fosfo-lipinas) y el fósforo glucídico, en combinación con los hidratos de carbono, más frecuentemente con los hexosas (ácido-hexofosfórico). El *fósforo mineral* está formado en su casi totalidad por los fosfatos: de sodio, de potasio, de calcio y de magnesio. Existe una pequeña porción de fósforo mineral al estado de pirofosfato, pero que se encuentra sólo en los glóbulos (no en el plasma ni en el suero).

El contenido en fósforo total de la sangre (orgánico y mineral) oscila en el hombre entre 30 y 40 miligramos para 100 cm^3; de los cuales sólo un 10 % (3 a 4 miligramos) corresponden al fósforo mineral.

En los bovinos, parece que no hay datos precisos sobre el valor del fósforo total de la sangre, pero a juzgar por las cifras encontradas para el fósforo mineral, que también oscila en unos 4 miligramos para 100 cm^3 de sangre, cabe pensar que el fósforo total debe tener un valor aproximado al del hombre; aunque debemos advertir que los valores del fósforo sanguíneo son algo variables, dependiendo de algunas circunstancias, entre ellas la edad de los sujetos.

Con los términos de *Fosfemia* o de *Fosfatemia,* se comprende puramente el *Fósforo mineral* (al estado de ortofosfatos) de la sangre. No entran en esas expresiones el fósforo orgánico, ni el fósforo mineral al estado de pirofosfato; tampoco el llamado fósforo ácido soluble; este último es una fracción del fósforo orgánico solubilizado por los ácidos.

Estas consideraciones deberán tenerse en cuenta para la elección de los métodos de análisis; sobre todo de aquellos en que intervienen ácidos, que por una acción prolongada puedan introducir una causa de error elevando el valor del fósforo mineral.

La *fosfemia* o fósforo mineral sanguíneo es influenciada por la alimentación y por tal razón las muestras de sangre para los análisis, de los animales de galpón que reciben ración, deberán ser extraídas después de por lo menos 12 horas de ayuno. Además, el valor del fósforo mineral varía en la sangre extraída del animal y conservada a la temperatura ambiente; en las primeras horas hay un ligero descenso y después un aumento que puede ser muy elevado. Estas variaciones no ocurren con el plasma ni con el suero, a no ser que haya habido hemolisis. De manera que las dosificaciones del fósforo mineral en la sangre entera deberán ser hechas lo más pronto posible después de extraídas las muestras. Según *Martlan, Hansman* y *Robinson* el agregado de ácido-tricloro acético a la muestra de sangre evita en ella las variaciones del fósforo mineral.

En el raquitismo y en la osteomalacia el fósforo mineral de la sangre disminuye muy sensiblemente, y es un fenómeno constante en esas enfermedades. *Theiler* y *Green* demostraron que en un lote de terneros que estaban en un régimen deficiente en fósforo, el fósforo mineral era de 1,3 miligramos a 2,8 miligramos %; en cambio, en otro lote que recibía una ración suplementaria de fosfatos, era de 4 a 6 miligramos %. *Malan* repitió la misma experiencia en vacas, pastando en un mismo campo de pastoreo pobre en fósforo; de las cuales una parte recibían una ración suplementaria de fósforo en forma de harina de hueso. En éstas el fósforo mineral era de 2,5 a 4,3 miligramos %; y en el lote testigo sin suplemento de fósforo, de 1 a 3,6 miligramos %.

Las vacas en lactación experimentan, en régimen deficiente, una disminución mayor del fósforo mineral que las vaquillonas. Los recién nacidos tienen un porcentaje más elevado de fósforo mineral (unos 5 miligramos %) y no es influenciado por el régimen deficiente de la madre; pero después su contenido en fósforo disminuye comparado con el de los terneros de madres en régimen normal.

En los ovinos en régimen deficiente también se ha demostrado una disminución del fósforo mineral.

La disminución de la *Fosfemia*, o fósforo mineral sanguíneo, sería la alteración más precoz de los animales en régimen deficiente en fósforo; antes que la aparición de lesiones óseas. Pero para pronunciarse sobre sus resultados se deberá tener en cuenta las variaciones fisiológicas del fósforo; el recién nacido y los animales jóvenes tienen normalmente un valor sensiblemente más elevado que los adultos y sobre todo que las vacas en lactación.

ETIOLOGIA

Hay un conjunto de circunstancias que rodean la aparición y desaparición de la osteomalacia y que han orientado las investigaciones. En primer lugar la enfermedad hace su aparición en determinadas zonas de un país, y dentro de esas zonas en determinados establecimientos. Ataca además principalmente a las vacas jóvenes, aún en crecimiento, de razas perfeccionadas y con cría al pie; y los animales mejoran cuando se destetan los terneros. Por otra parte las lesiones de los animales enfermos consisten fundamentalmente en la desmineralización de los huesos.

Fuera de que se hicieron numerosas investigaciones, buscando una causa microbiana o tóxica, con resultados negativos, aparecía como idea lógica vincular la enfermedad a la alimentación, a las pasturas y como consecuencia a la composición de las tierras de los campos de pastoreo.

Comparando los análisis de las tierras de los campos de zonas de osteomalacia con los de los campos que llamaremos sanos, se comprobó muy pronto que los primeros son mucho menos ricos en algunos elementos, sobre todo en fósforo y calcio y que la enfermedad se superpone exactamente sobre las zonas que tienen un nivel bajo de fósforo, por debajo de cierto límite.

Estas comprobaciones fueron hechas en diversos países, principalmente en las colonias inglesas de Sud Africa, en Australia, Nueva Zelandia, etc.

Nuestros trabajos anteriores y los del Dr. *Murguía*, nos permitieron —para nuestro país— llegar a las mismas conclusiones, reafirmadas por nuestras últimas investigaciones.

Este cuadro pone de relieve la diferencia marcada, en el contenido en fósforo y calcio de los dos campos.

Está demostrado que una buena tierra debe contener 1 por mil de anhidrido fosfórico. En el campo I, de osteomalacia, sólo dos muestras llegan a 0,50 ‰, y la mayoría están muy por debajo de esa cantidad ya insuficiente, oscilando entre 0,08 y 0,20 por mil, valores estos extraordinariamente bajos. Si observamos la columna del anhidrido fosfórico soluble, notamos más acentuado aún el déficit; el índice de esa sustancia que corresponde al anhidrido fosfórico activo directamente asimilable, está calculado para una buena tierra en 0,25 por mil, cantidad que para algunas muestras del campo I, no es alcanzada por el anhidrido fosfórico total.

CUADRO N.º 11

Análisis de tierras de campos de pastoreo

I. — Campo de Osteomalacia				II. — Campo en que no fué observada la enfermedad			
Muestras	Anhidrido fosfórico total en gr. por mil	Anhidrido fosfórico soluble en gr. por mil	Oxido de calcio total en gr. por mil	Muestras	Anhidrido fosfórico total en gr. por mil	Oxido de calcio total en gr. por mil
N.º 1 Suelo	0,32	0,017	0,87	N.º 1 Suelo	0,64	3,58
" 2 Subsuelo .	0,20	0,005	1,24	" 2 Subsuelo .	0,14	1,60
" 3 Suelo	0,18	0,019	0,51	" 3 Suelo	0,51	2,05
" 4 Subsuelo .	0,15	0,0025	0,71	" 4 Subsuelo .	0,57	1,75
" 5 Suelo	0,51	0,0024	6,98	" 5 Suelo	0,89	5,65
" 6 Subsuelo .	0,10	—	19,93	" 6 Subsuelo .	0,56	3,70
" 7 Suelo	0,13	0,020	0,39	" 7 Suelo	0,97	3,40
" 8 Subsuelo .	0,15	0,005	2.09	" 8 Subsuelo .	0,27	2,24
" 9 Suelo	0,08	0,018	0,59	" 9 Suelo	0,67	3,59
" 10 Subsuelo .	0,52	0,0025	4,01	" 10 Subsuelo .	1,11	5,94

La composición química de las tierras se refleja fielmente sobre la composición de las pasturas. Tierra pobre en ácido fosfórico y calcio, da pasturas pobres en esas sustancias.

Esta influencia de la composición de las tierras sobre las pasturas se ejerce según dos direcciones: 1.º—Los pastos preexistentes o sembrados son pobres en ácido fosfórico y calcio. 2.º—Las especies botánicas normalmente ricas en esas sustancias, que son también las más nutritivas, tienden a desaparecer, porque son dominadas primero y sustituídas luego, por nuevas especies botánicas adaptadas a una vida mineral más pobre, siendo a la vez más duras y menos nutritivas.

El empobrecimiento gradual de la tierra modifica el panorama de la vegetación, y ésta a su vez tiende a modificar la vida animal, dificultando el aprovechamiento de las ventajas que brinda la explotación de las razas perfeccionadas.

Cuanto más rápido es el crecimiento de una especie, mayor riqueza mineral exige en sus alimentos. La riqueza mineral de la leche materna es un ejemplo demostrativo. En las especies de crecimiento rápido, la riqueza mineral de la leche materna es mucho mayor.

Por otra parte, la composición mineral de un buen pasto se aproxima a la composición mineral de la leche, a igualdad de calorías (no en peso).

Se ha comprobado que el pastoreo de los animales en campos

en que la riqueza en anhidrido fosfórico de los pastos cae por debajo de 0,2 % de materia seca, origina la osteomalacia.

Las lluvias tienen una influencia muy marcada sobre la riqueza mineral de los pastos. Aumentan la riqueza en ácido fosfórico y disminuyen el calcio de los pastos. Contrariamente, un período prolongado de sequía, disminuye marcadamente el fósforo y aumenta el contenido en calcio.

Estos hechos explican por qué la Osteomalacia se observa generalmente en nuestros países en los períodos de seca.

También explica por qué es más común en ciertos países del hemisferio austral, que son los más azotados por períodos de seca.

Las nociones que resultan de esta serie de hechos, según los cuales la Osteomalacia sería debida a una pobreza de las tierras y pasturas en ácido fosfórico; resultan confirmadas por una serie de experiencias; sobre prevención y curación de la enfermedad mencionada.

En primer lugar ya hemos hecho notar, que la Osteomalacia ataca principalmente, en algunas zonas casi exclusivamente, a las hembras jóvenes, sobre todo de razas perfeccionadas, con cría al pie, y que basta en estos casos destetar los terneros, para que las madres mejoren rápidamente y más aún si son cambiadas a potreros de mejores pasturas. *Theiler, Green* y sus colaboradores pudieron demostrar además, que la Osteomalacia podía ser evitada seguramente administrando a los animales una ración suplementaria de fósforo, ya sea en forma de fosfatos alcalinos o de calcio (harina de hueso). En un campo de pastoreo, con pasturas deficientes en fósforo (0,1934 de fósforo para 100 g. de materia seca) cuyos ganados sufrían de Osteomalacia, hicieron la siguiente experiencia: un lote de animales quedó como testigo sin recibir ración complementaria; un segundo lote recibió una ración suplementaria de calcio (en forma de carbonato); un tercero de ácido fosfórico y calcio (en forma de harina de huesos) y un cuarto rica en ácido fosfórico. Sólo los animales de los dos primeros lotes enfermaron de Osteomalacia; en cambio los del tercero y cuarto lote tuvieron un excelente desarrollo.

Esta experiencia demuestra bien que la Osteomalacia de los bovinos, es debida a un déficit alimenticio de ácido fosfórico.

Pero además de este factor que es decisivo para provocar la aparición de la Osteomalacia, hay otros elementos o factores que pueden intervenir acentuando los efectos del déficit en fósforo.

Mc Callum, sus colaboradores y otros investigadores, han demostrado en el raquitismo experimental, que la producción de esta enfermedad, que se superpone en su metabolismo a la Osteomalacia, no está sólo condicionada por el déficit en fósforo sino por la relación

en que se encuentran en los alimentos el calcio y el fósforo. Estableciendo que la proporción óptima de esos dos elementos sería $\frac{Ca}{P} = \frac{1}{0,484}$; y que una variación pronunciada tanto en el sentido de un aumento de calcio, como de disminución del fósforo; daría origen al raquitismo. Iguales observaciones hicieron *Mareck* y *Wellmann* para el lechón.

No es del todo seguro si la relación $\frac{Ca}{P}$, tiene la misma influencia sobre el desarrollo de la Osteomalacia en los bovinos. Para ilustrar esta cuestión *Theiler y Green* relatan la siguiente experiencia.

Se formaron 7 lotes de terneras de 9 a 24 meses de edad. Durante la experiencia los animales permanecían estabulados de noche, y de día eran llevados a un corral donde recibían el sol; el día solar era de 8 horas. La ración estaba compuesta de una mínima parte de heno, sangre desecada, endosperma de maíz y sal común. Resultaba así una ración insuficiente en Ca y P; y el contenido en estos elementos de la ración de los distintos lotes fué modificada por el agregado de carbonato de calcio, fosfato de calcio y afrecho. El lote número 7, recibía en lugar de heno, pasto verde para agregar vitaminas.

Esos investigadores señalan que la Osteomalacia apareció en todos los lotes en que había déficit de fósforo, independientemente de la relación $\frac{Ca}{P}$; sin embargo en sus protocolos sólo anotan el desarrollo de Osteomalacia avanzada en el lote N.º 3, en que a un déficit de fósforo se une la proporción más elevada de calcio, siendo en ese lote la relación $\frac{Ca}{P} = \frac{1}{0,107}$. Por otra parte durante todo el tiempo de la experiencia los animales estuvieron expuestos al sol 8 horas diarias. Es sabido que la irradiación solar, así como la vitamina *D*, tiende a compensar los efectos de un defecto en la relación $\frac{Ca}{P}$, evitando o retardando la aparición del raquitismo.

Un hecho que también estaría en el sentido de una influencia de la relación $\frac{Ca}{P}$, sobre el desarrollo de la Osteomalacia; es el ya mencionado de que en los períodos de seca que favorecen la aparición de esa enfermedad, los pastos al mismo tiempo que disminuyen su contenido en fósforo, aumentan su contenido en calcio.

En cuanto a la influencia de la vitamina *D*, podemos decir que en los animales bovinos, tiene poca o ninguna influencia, aunque experimentalmente está demostrado que la administración de vitamina *D*, bajo forma de ergoesterol irradiado, aceite de hígado de bacalao,

irradiaciones, etc., tiende a compensar los defectos de un régimen mineral, evitando o retardando la aparición de los trastornos orgánicos.

Fuera de los factores y circunstancias que dejamos mencionados, que son los habitualmente responsables del desarrollo de la Osteomalacia bovina, está demostrado que un exceso de sales de magnesio, en la alimentación, puede por sí solo determinar estados análogos.

Es conocido lo que podríamos llamar el antagonismo biológico de las sales de magnesio y de calcio. La administración de sales de magnesio al organismo animal, determina una eliminación o huída de las sales de calcio. Ya había sido planteada la posibilidad de que en algunos lugares la Osteomalacia fuera debida a un exceso de sales de magnesio: *Palmer, Eckles y Schutte,* ponen como causa de la severidad de la Osteomalacia en Minnesota el contenido elevado en sales de magnesio de las aguas que los animales beben en esa localidad.

PATOGENIA

El desarrollo de la Osteomalacia está condicionado en primer término por un déficit alimenticio en ácido fosfórico, favorecido por circunstancias fisiológicas que tienden a aumentar ese déficit.

Las condiciones óptimas para la aparición de esa enfermedad están realizadas, cuando al régimen deficiente en fósforo, se unen: el período de crecimiento del animal, la calidad de raza precoz que exige una mayor riqueza mineral y el período de preñez o parición de las hembras que requieren un suplemento de fósforo para la formación del feto o la alimentación láctea del ternero.

En un mismo campo, en que los animales de razas comunes se mantienen normales, pueden enfermar los animales de razas perfeccionadas, sobre todo las precoces.

Cuando el déficit en fósforo es muy pronunciado, como pasa con los campos pobres en período de seca, la enfermedad se extiende, atacando a los machos jóvenes y a los adultos como hemos tenido la oportunidad de observarlo.

La primera alteración que se nota en el organismo animal, es el descenso del fósforo mineral de la sangre (hipofosfemia); en cambio salvo en casos muy avanzados, el calcio permanece incambiado contrariamente a lo que pasa en la Tetania de pastoreo, en que se encuentra una hipocalcemia. En la Osteomalacia es el metabolismo del fósforo el que está afectado y las pérdidas del calcio de los huesos se debe a su arrastre por el ácido fosfórico.

A la hipofosfemia inicial, le siguen las alteraciones del esqueleto. Los primeros huesos atacados son los de médula roja, entre ellos las costillas, escápulas y demás huesos planos. A medida que la enfer-

medad avanza, las lesiones se extienden a todo el esqueleto. Las alteraciones químicas afectan a casi todos los componentes del tejido óseo. Hay pérdida de sustancia orgánica (oseína) y mineral, la pérdida de sustancia mineral es mayor; dentro de las sustancias minerales pierde más en fósforo y luego le sigue el calcio.

Aunque la Osteomalacia está caracterizada por un descenso del fósforo sanguíneo y empobrecimiento gradual de los huesos en fosfatos, deberá ser considerada como una profunda alteración del metabolismo fosforado en que la sustracción de fósforo del esqueleto es superior al que le aporta la sangre.

En efecto, al lado de los fenómenos de sustracción de fósforo vemos la formación de nuevos depósitos. Las formaciones de las tumuraciones óseas por aposiciones calcáreas son una demostración de ese hecho, y lo que es más interesante, según lo hemos podido comprobar, es la formación de depósitos calcáreos, en los cartílagos articulares, fuera del tejido óseo.

Ateniéndonos a la etiología y a la patogenia, la osteomalacia puede ser definida como una *Hipofosforosis;* el término de *Afosforosis,* creado por *Theiler,* probablemente por similitud con la avitaminosis, nos parece menos apropiado.

PROFILAXIA. TRATAMIENTO

La profilaxia de la *Hipofosforosis* deberá tener como base asegurar a los animales una alimentación suficiente en fósforo teniendo en cuenta, que las razas precoces, y sobre todo las hembras con cría al pie y las vacas lecheras, exigen una mayor riqueza alimenticia en ese elemento.

Los efectos de la deficiencia en fósforo de los campos puede ser compensada por varios métodos. El más racional sería el abonado de los campos con abonos fosfatados, por ejemplo, el *superfosfato.* Pero es indudable que en nuestro actual sistema pastoril, ese método ofrece serias dificultades por las grandes extensiones de los campos de pastoreo.

En Nueva Zelandia y en Australia, para obviar esos inconvenientes han recurrido a un sistema interesante y que parece dar muy buenos resultados.

En cada potrero, abonan solamente algunas hectáreas; los animales se acostumbran a ir a lamer el suelo y comer el pasto que crece en esos lugares, rico en sales minerales.

Se puede recurrir igualmente a las raciones suplementarias de heno o pasto verde cosechado en buenos campos o terrenos abonados. Como forraje es mejor la mezcla de gramíneas y leguminosas; las primeras son más ricas en ácido fosfórico y las segundas en calcio.

Para los ganados de campo, en grandes extensiones, puede ser muy útil, suministrarles el fósforo en forma de harina de hueso, en comederos, mezclada con sal común; también el fosfato bicálcico, que aunque algo más caro, es tres veces más activo, a igualdad de peso, que la harina de hueso.

Para las vacas lecheras, para los animales de galpón, se puede recurrir a los buenos forrajes; al afrecho, que constituye un buen aporte de ácido fosfórico, a la harina de hueso mezclada con las raciones, o a los fosfatos de amonio o bisódico disueltos en el agua.

Los animales enfermos mejoran rápidamente por el cambio a un buen potrero, por el suministro de una ración suplementaria o de harina de hueso o fosfatos. Unos 100 gramos diarios de esta harina o 60 gramos de fosfato bicálcico, son suficientes.

Las vacas enfermas de osteomalacia, en general, mejoran franca y rápidamente con el destete de sus terneros.

El empobrecimiento gradual de las tierras, de nuestros campos, crea un grave problema para la ganadería y para la vida humana.

El ciclo de los elementos minerales, necesarios para la vida y sobre todo del fósforo, a diferencia del nitrógeno, oxígeno, carbono y otros elementos, sólo está asegurado cuando los seres vivos: el hombre, los animales, nacen, crecen y mueren en el mismo lugar; devolviendo a la tierra, lo que de ella han extraido. Pero la civilización, con la vida urbana hipertrofiada, saca de la tierra los alimentos vegetales o animales, que luego arroja al mar en forma de deyecciones. En esta forma, la civilización ha violentado el ciclo que aseguraba la constancia de la riqueza mineral de la tierra.

En los países de regímenes pastoriles como los nuestros, el fenómeno está más acentuado aún, por la exportación al extranjero en grandes cantidades de animales faenados, lo que supone una pérdida extraordinariamente considerable de elementos minerales, entre ellos, de fósforo, que no se ha tratado de compensar en ninguna forma.

Sobre estos hechos, no se puede esperar otra cosa que un empobrecimiento gradual de nuestros campos con resultados desastrosos para la ganadería.

Es necesario tener en cuenta además, que los perjuicios derivados del empobrecimiento gradual en fósforo, no se refieren puramente a la aparición de la osteomalacia o hipofosforosis; sino que cuando el contenido en fósforo desciende a cierto límite, toda la ganadería sufre, perdiéndose la precocidad, el buen desarrollo, y la resistencia a las enfermedades.

Creo que esta cuestión plantea un serio problema en cuya solución todos debemos colaborar.

CAPACITÉ D'ABSORPTION DU SÉRUM SANGUIN POUR LA BILIRUBINE PURE

(CON LA COLABORACION DEL DR. B. VARELA-FUENTES

Publicado en *"Comptes rendus des séances de la Société de biologie"*. Société de biologie de Montevideo. (Séances des 2 et 16 juin, 1 juillet et 4 août 1932. — Tome CXI)

L'état où se trouve la bilirubine dans le sérum est encore matière à discussion; Hymans Van den Bergh a mis en relief les deux façons opposées de réagir, en présence du diazo-réactif de Ehrlich, des différents sérums ictériques; il accepte l'existence de deux bilirubines distinctes. Mais, postérieurement, d'autres investigateurs n'ont pas admis cette interprétation de Van den Bergh.

Pour contribuer à l'étude de ce problème, nous avons fait des expériences qui nous ont permis de constater un fait nouveau: la notable capacité d'absorption du sérum pour la bilirubine pure, malgré l'insolubilité de cette dernière dans l'eau. Le sérum, ainsi enrichi en bilirubine pure, acquiert des propriétés semblables à celles des sérums des ictères hémolytiques.

Technique des expériences. — On prépare d'abord des solutions de bilirubine pure (de Merck) dans le chloroforme et l'éther. Les premières s'obtiennent en traitant la bilirubine par le chloroforme et en filtrant aussitôt. Les solutions les plus concentrées contiennent de 10 à 15 mgr. p. 100 de bilirubine (1). Pour obtenir des solutions éthérées de concentration suffisante, on fait premièrement une solution chloroformique et on évapore le chloroforme dans un tube d'essai (chaleur modérée et basse pression) en ayant soin, par agitation continuelle, que la bilirubine reste déposée sur une grande surface dans le tube. On remplit ensuite le tube d'éther, qui dissout une bonne proportion de bilirubine. Avant de reprendre avec une nouvelle quantité d'éther le résidu de bilirubine resté dans le tube, nous le redissolvons avec du chloroforme, qui est évaporé, répétant l'opération précédente. Les fractions successives d'éther réunies peuvent atteindre une concentration de 1 mgr. p. 100 de bilirubine. Les solutions chloroformiques, de même que les solutions éthérées, furent préparées immédiatement avant d'être utilisées pour traiter le sérum.

(1) Les valeurs données ici pour la bilirubine s'expriment en mgr. pour 100 c.c. du solvant. Son dosage fut pratiqué, pour les sérums enrichis, par la méthode de Tannhauser et Andersen (*Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, 1921, t. *137*, p. 179). Dans les solutions chloroformiques ou éthérées, nous prenons 1 c.c. de la solution, nous évaporons le solvant, et reprenons la bilirubine adhérente au tube avec 0,2 c.c. de chloroforme et 0,8 c.c. d'alcool à 96°. On ajoute le diazo-réactif de Tannhauser: 0,5 c.c. On dilue ensuite avec de l'alcool chlorhydrique à 10 p. 100 jusqu'à ce qu'on obtienne une couleur comparable à l'étalon.

A) *Enrichissement du sérum à partir d'une solution éthérée de bilirubine.* — Si on introduit dans un tube d'essai 1 c.c. de sérum, et qu'on agite énergiquement le mélange, on observe que l'éther est décoloré lorsqu'il se sépare de nouveau. Si on traite le même échantillon de sérum avec de nouvelles proportions de 10 c.c. de la solution, l'éther continue à être décoloré jusqu'au troisième ou quatrième traitement, c'est-à-dire qu'il cède toute sa bilirubine au sérum qui acquiert une couleur jaune rouge intense. La capacité d'absorption du sérum normal pour la bilirubine est considérable. Alors que sa concentration dans l'éther employé est de 1 mgr. p. 100, le sérum peut acquérir ainsi des valeurs de 100 mgr. p. 100.

B) *Enrichissement du sérum à partir d'une solution chloroformique.* — Malgré la solubilité de la bilirubine dans le chloroforme, si on place une solution chloroformée concentrée en présence du sérum normal, une bonne proportion de la bilirubine est absorbée par le sérum.

Technique. — On introduit dans un tube à centrifuger des quantités égales d'une solution chloroformique et de sérum, on agite énergiquement le mélange et on centrifuge (½ heure à 3.000 tours). On sépare ainsi trois couches: une supérieure, de sérum limpide, une autre inférieure, de chloroforme transparent, et un anneau intermédiaire, demi-solide, blanchâtre, formé par l'émulsion du chloroforme dans le sérum. Il est facile d'extraire la couche supérieure et la couche inférieure, en aspirant avec des pipettes Pasteur, pourvues d'une boule et d'une extrémité effilée, pour déterminer la concentration finale de la bilirubine dans le sérum et le chloroforme, respectivement. (Les sérums normaux employés sont très pauvres en bilirubine: moins de 0,4 mgr. p. 100 de sorte que celle-ci n'influence pas sensiblement les résultats de l'analyse du sérum enrichi). Les expériences résumées dans le tableau ci-joint montrent les résultats obtenus.

Les deux expériences démontrent que les solutions chloroformiques cèdent une bonne part de leur bilirubine au sérum, comme l'indiquent les analyses pratiquées après sur ce dernier. Dans l'expérience I, on indique la proportion de bilirubine cédée par chaque solution chloroformique au sérum respectif, en observant que la proportion est plus grande lorsque la solution est plus concentrée. En diminuant la concentration au-dessous de 0,8 mgr. p. 100, comme on l'a fait dans l'expérience II, on observe que le chloroforme ne cède alors plus rien au sérum.

Propriétés des sérums enrichis artificiellement en bilirubine pure. — Ces sérums se comportent comme les sérums humains provenant des ictères hémolytiques et comme les sérums normaux qui contiennent exclusivement aussi de la bilirubine indirecte. En

effet: 1.º) en présence du réactif d'Erhlich ils ne donnent pas la diazo-réaction, sauf après l'addition d'alcool (diazo-réaction indirecte de Van den Bergh); seuls les sérums contenant plus de 20 mgr. de bilirubine peuvent donner une légère teinte rosée après quelques minutes (réaction directe retardée); 2.º) ces sérums cèdent une grande partie de leur bilirubine au chloroforme, mais en échange, ils ne cèdent rien à l'éther.

Absorption par le sérum normal de la bilirubine dissoute dans le chloroforme à concentrations décroissantes.

Tube N.º	Mélange initial: Sérum normal (c.c.)	Mélange initial: Solution chloroformique de bilirubine: Quantité (c.c.)	Mélange initial: Solution chloroformique de bilirubine: Concentration de la bilirubine (mgr. p. 100 c.c.)	Concentration finale de la bilirubine dans les solutions chloroformiques, après contact avec le sérum (mgr. p. 100 c.c.)	Proportion de la bilirubine cédée au sérum par les solutions chloroformiques p. 100
Expérience I:					
1	2	2	9,6	6,6	31
2			4,8	3,5	27
3			2,4	1,8	25
4			1,2	1	16
Expérience II:					
1	3	3	13,18	7,5	
2			6,59	4,8	
3			3,29	2,85	
4			1,64	1,25	
5			0,82	0,83	
6			0,41	0,66	

Collinson et Fowweather (2) admettent que la bilirubine du sérum normal et des ictères hémolytiques, qui donnent seulement la diazo-réaction indirecte, est de la bilirubine acide pure; cette thèse est acceptée par Newmann (3) et Esculies (4). Nos expériences qui permettent d'obtenir *in vitro* des sérums tout à fait semblables à ceux-là en incorporant de la bilirubine pure, viennent renforcer l'hypothèse de ces auteurs (5).

(2) Collinson et Fowweather. *Brit. Med. Journ.*, 1926, t. *1*, p. 1081.
(3) Newman. *Brit. Journ. exper. Pathol.*, 1928, t. 9, p. 112.
(4) Esculies. Thèse de doctorat chimique, Montevideo, 1931.
(5) Nous rappelons ici que les auteurs qui ont essayé d'enrichir artificiellement les sérums en bilirubine, ont commencé par dissoudre celle-ci dans un alcali dilué, pour pouvoir l'ajouter au sérum, incorporant ainsi en réalité un bilirubinate de sodium; ces sérums donnent la diazo-réaction directe. Avec notre technique, on arrive à incorporer au sérum la bilirubine pure, l'ayant auparavant amenée à un état de dispersion moléculaire dans un solvant approprié. Dans cet état de dispersion, le sérum la solubilise mieux encore que le chloroforme, et il y a lieu de croire que, au moment où se forme la bilirubine, dans les cellules du système réticulo-endothélial, elle se trouve dans cet état de fine dispersion qui lui permet d'être absorbée facilement par le sérum, où elle est retenue avec les caractères de la bilirubine indirecte.

Ces expériences démontrent d'ailleurs que la capacité du sérum normal pour absorber la bilirubine pure et la maintenir en solution, est très supérieure à celle que l'on pouvait supposer d'accord avec les concentrations maxima observées dans les sérums des ictères hémolytiques. Le sérum se comporte comme un solvant pour la bilirubine, supérieur au chloroforme et à l'éther, malgré l'insolubilité de celle-ci dans l'eau. Nos sérums peuvent atteindre des concentrations supérieures à 50 mgr. p. 100, sans perdre leur caractère de sérums à bilirubine indirecte.

Brulé, Garban et Weissman (6) n'acceptent pas la thèse de Van den Bergh de l'existence de deux bilirubines différentes dans les sérums ictériques et attribuent la diazo-réaction des sérums normaux et de l'ictère hémolytique à leur faible concentration en bilirubine (moins de 6 mgr. p. 100), comparée aux hautes concentrations des sérums à réaction directe, des ictères par obstruction (jusqu'à 50 mgr. p. 100). Mais les sérums de nos expériences donnent la diazo-réaction indirecte malgré leur haute concentration en bilirubine pure.

Il reste à étudier par quel mécanisme la bilirubine pure, qui est insoluble dans l'eau à un *p*H de 7,4, comme celui du sérum, se dissout si facilement dans ce dernier. Collinson et Fowweather admettent que cette bilirubine se trouve dans le sérum en état de dispersion colloïdale. Mais il est nécessaire d'éclaircir ses relations avec les autres colloïdes du sérum et spécialement avec les albumines et les électrolytes diffusibles. Le fait, observé par nous, que 50 p. 100 environ seulement de cette bilirubine peut être extraite du sérum par des traitements successifs avec le chloroforme et que, chez quelques-uns, elle soit encore plus facilement extraite par l'éther [Varela, Apolo et Viana (7)] démontre que toute la bilirubine indirecte ne doit pas se trouver dans les mêmes conditions physico-chimiques dans le sérum. Les sérums enrichis artificiellement avec de la bilirubine pure se prêtent très bien à la réalisation de ces investigations, grâce à leurs hautes concentrations. De plus, on peut les obtenir facilement, tandis que les sérums des ictères hémolytiques, les seuls dont on disposât jusqu'à ce jour pour ce genre d'expériences, sont très difficiles à obtenir avec la fréquence voulue et en quantités nécessaires.

(Clinique Varela-Rubino)

(6) Brulé, Garban et Weissmann. *Presse médicale*, 1922, p. 986.
(7) Varela, Apolo et Viana. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1931, t. *180*, p. 1014.

SUR LA NATURE DE LA BILIRUBINE INDIRECTE ÉTHÉRO-EXTRACTIBLE DES SÉRUMS ICTÉRIQUES

(CON LA COLABORACION DE LOS DRES. B. VARELA FUENTES y C. VIANA)

Publicado en *"Comptes rendus des séances le la Société de biologie"*. Société de biologie de Montevideo. (Séance du 8 novembre 1934. — Tome CXVIII, année 1935).

En 1933, nous avons commencé l'étude de la bilirubine indirecte éthéro-extractible du sérum; les résultats obtenus nous avaient conduits à admettre que ce pigment, une fois retiré du sérum par l'éther, se montrait identique, *in vitro*, à la bilirubine indirecte ordinaire extraite par le chloroforme. Pour expliquer la solubilité si différente de ces deux fractions de la bilirubine indirecte vis-à-vis du chloroforme et de l'éther, quand elles sont encore dans le sérum, nous avons admis que chacune d'elles était unie à un adsorbant différent. Il y aurait ainsi deux complexes: le premier, qui serait caractéristique de ces sérums exceptionnels, serait le complexe bilirubine indirecte-adsorbant B, soluble dans l'éther, mais insoluble dans le chloroforme, et le second, qui existerait dans la plupart des sérums ictériques, dans lesquels toute la bilirubine indirecte serait unie à un autre adsorbant A, soluble dans le chloroforme. Nous n'avons fait alors aucune hypothèse sur la nature de ces substances adsorbantes A et B (probablement lipoïde ou albumine) (1).

En 1934, Famulari a fait aussi quelques expériences pour éclaircir ce même point, en utilisant un seul sérum contenant la bilirubine indirecte éthéro-extractible et arriva à la conclusion suivante: la bilirubine indirecte éthéro-extractible serait une fraction de la bilirubine ordinaire, adsorbée par les globulines que ces sérums contiendraient en excès. Les globulines ne cèderaient cette fraction qu'à l'éther. Le reste demeurerait libre, comme dans les autres sérums ictériques, et serait facilement extrait par le chloroforme (2).

Nous avons répété les expériences de Famulari en utilisant 4 sérums différents qui contenaient la fraction éthéro-extractible, mais nos résultats ne furent pas les mêmes que ceux de cet auteur.

Expériences de précipitation des globulines de ces sérums. — D'aprés Famulari, les globulines de ces sérums, précipitées soit avec du sulfate d'ammonium, ou au moyen de la dialyse, soit, en même

(1) Varela Fuentes et Viana. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. *114*, p. 789.
(2) Famulari. *Biochimica e terepia sperimentale*, 1934, fasc. VI, p. 1193.

temps que les albumines, avec l'alcool, emmèneraient avec elles toute la bilirubine indirecte éthéro-extractible. Nos résultats furent les suivants.

a) *Précipitation des globulines avec le sulfate d'ammonium à demi-saturation.* — A 2 c.c. de sérum, on ajoute 2 c.c. de solution saturée de sulfate d'ammonium. Mélanger et laisser reposer 5 minutes. Filtrer. Laver le précipité de globulines sur le filtre avec des portions succesives de sulfate d'ammonium à demi-saturation. Les globulines précipitées sont séparées du filtre et dissoutes à nouveau dans le sérum physiologique en le ramenant au volume primitif du sérum.

b) *Précipitation des globulines par le CO^2.* — Nous employons ce moyen de précipitation qui permet d'obtenir les globulines sans ajouter des sels qui modifient les conditions d'extraction de la bilirubine indirecte. On dilue le sérum au $1/10^e$ avec de l'eau distillée et on fait barboter du CO^2 à travers le liquide, précipitant ainsi les globulines. Ces dernières sont facilement séparées par centrifugation. Les globulines se redissolvent dans le sérum physiologique, servant à ramener à un volume égal à celui du sérum.

Résultats. — Dans ces expériences, on a utilisé 4 sérums qui contenaient de la bilirubine indirecte éthéro-extractible. Les globulines de ces sérums, précipitées avec le sulfate d'ammonium, ou avec le CO^2 ne cédèrent de la bilirubine indirecte ni au chloroforme ni à l'éther. Ces globulines précipitées sont colorées en jaune par la bilirubine directe qu'elles entraînent: l'addition du réactif diazo provoque immédiatement la réaction rouge.

c) *Expériences de précipitation alcoolique des albumines et globulines réunies.* — A 1 c.c. de sérum, on ajoute de 2 à 4 c.c. d'alcool à 96°. Le précipité abondant, mélangé d'albumines et de globulines, est séparé par centrifugation et redissous dans du sérum physiologique, en le ramenant au volume primitif du sérum (liquide un peu trouble).

Le résultat de ces expériences fut uniforme. Le précipité alcoolique formé par les globulines et les albumines n'a entraîné rien ou seulement des traces de la bilirubine indirecte éthéro-extractible, avec les 4 sérums qui contenaient ce pigment. Il emporta, par contre, une petite quantité de bilirubine indirecte chloroformo-extractible. Le précipité est toujours jaune, à cause de la bilirubine directe qu'il contient; la diazo-réaction est positive directe immédiate.

La conclusion de ces expériences est que la bilirubine indirecte éthéro-extractible n'a été entraînée par les globulines précipitées du sérum, dans aucun de ces 4 sérums qui contenaient ce pigment.

Nous ne pouvons expliquer les résultats opposés obtenus par Famulari que par le fait que cet auteur employa pour ses expériences un sérum exceptionnellement riche en bilirubine indirecte éthéro-extractible (3,2 mgr. p. 100), semblable à 2 sérums que nous avons étudiés autrefois, mais que nous n'avons pu nous procurer pendant le cours de ces expériences. Mais les résultats négatifs obtenus par nous avec 4 sérums différents, contenant des quantités appréciables de bilirubine indirecte éthéro-extractible, démontrent que cette union intime des globulines du sérum avec cette forme de bilirubine, n'a pas existé dans nos 4 cas et, par conséquent, dans la majorité des observations.

Famulari a, de plus, appuyé son hypothèse sur l'existence du complexe bilirubine indirecte éthéro-extractible-globulines, sur des expériences, dans lesquelles il a ajouté au sérum des ictères communs (contenant seulement de la bilirubine indirecte chloroformo-extractible), des globulines retirées du sérum normal par précipitation avec le sulfate d'ammonium à demi-saturation ou au moyen de la dialyse. Dans tous les sérums ictériques ainsi enrichis en globulines, l'auteur trouva une fraction importante de bilirubine indirecte éthéro-extractible.

Nous avons répété ces expériences en ajoutant à 1 c.c. de sérum ictérique commun les globulines séparées de 2 à 4 c.c. de sérum normal, par précipitation, soit avec le sulfate d'ammonium à demi-saturation, soit par le CO^2, soit par dialyse. Le sérums ictériques ainsi enrichis en globulines sont laissés au repos pendant deux heures à 37°, et on extrait ensuite leur bilirubine indirecte, d'abord avec le chloroforme, puis avec l'éther.

La fraction éthéro-extractible n'apparut dans aucun de ces sérums ictériques communs, auxquels on ajouta des globulines obtenues par la précipitation du sérum normal avec le CO^2 ou par la dialyse. Une petite quantité apparut seulement dans un sérum auquel on ajouta des globulines obtenues par précipitation avec du sulfate d'ammonium. Mais ce résultat perd son intérêt si on tient compte que ce même sérum, additionné seulement de sulfate d'ammonium, donna un résultat semblable. Or, lorsqu'on ajoute au sérum des globulines obtenues par précipitation avec le sulfate d'ammonium, on ajoute en même temps une forte proportion de ce sel, qui imbibe le précipité de globulines; on ne peut donc affirmer que c'est l'addition de ces dernières qui fait apparaître la forme éthéro-extractible. Comme Famulari ne détaille pas les expériences d'addition de globulines, nous supposons que les résultats obtenus par cet auteur peuvent être attribués au fait qu'il a utilisé de préférence des globulines précipitées avec le sulfate d'ammonium, ce qui ôte de la valeur à ses conclusions.

Famulari admet que, dans les sérums ictériques contenant de

la bilirubine indirecte éthéro-extractible, il y aurait un excès de globulines avec réduction du quotient sérine-globuline. Mais il ne donne pas dans son travail des chiffres d' analyses du sérum. Nous n'avons pas trouvé non plus dans la bibliographie des données sur le dosage des globulines et des albumines dans le sérum ictérique. Nous avons demandé au Dr. A. Prunell d'analyser quelques sérums ictériques, ce qui fut pratiqué aves la méthode de Haw-Bergein, modifiée par Hubbard et Sly (3).

Les données du tableau ci-joint sont encore trop limitées pour pouvoir tirer des conclusions, mais elles parlent en faveur des

Sérine et globulines de 3 sérums ictériques avec bilirubine indirecte éthéro-extractible, et de 5 sérums ne contenant pas ce pigment.

N.° de l'observation	Bilirubine du sérum (mgr. p. 100 c.c.) bilirubine directe.	bilirubine indirecte chloro-formo-extractible	bilirubine indirecte éthéro-extractible	sérine (gr. p. 100)	globulines (gr. p. 100)	Quotient sérine / globuline	Observations
		A) Sérums avec bilirubine éthéro-extractible.					
1	13	0,7	1,7	3,4	5,1	0,67	Cholédoco-lithiase.
1	2	0,3	0	3,3	3,7	0,88	Cas précédent, analysé pendant la disparition de l'ictère.
2	18	0,8	0,6	3,4	5,0	0,68	Néoplasme de la vésicule biliaire.
3	29	1,1	2,7	2,9	5,7	0,56	Néoplasme du confluent cystique-cholédoque.
		B) Sérums sans bilirubine éthéro-extractible.					
5	10	0,5	0	2,9	3,6	0,78	Ictère catharral.
6	29	1,2	0	3,6	3,6	1,00	Cholédoco-lithiase.
7	0	11,0	0	4,3	3,6	1,19	Ictère hémolytique.
8	3	2,7	0	3,8	3,6	1,06	Ictère hémolytique avec cirrhose.
4	0	0,2	0	4,3	3,6	1,19	Sérum normal.
Valeurs normales avec cette méthode				4,0 à 5,0	2,0 à 3,0	1,30	

(3) *Journ. of Laborat. a. Clinical Med.*, 1933, p. 946.

prévisions de Famulari. Dans les trois sérums étudiés, qui contenaient la forme éthéro-extractible, on a trouvé une augmentation nette des globulines avec réduction du quotient sérine-globuline. Dans le cas I, ce quotient monta presqu'à la normale au moment où l'ictère rétrocédait, avec disparition de la forme éthéro-extractible. Dans les sérums des ictères sans forme éthéro-extractible, on ne trouva qu'une discrète augmentation des globulines.

Malgré le résultat négatif de nos expériences sur la précipitation des globulines, que nous avons déjà mentionnées, si l'on pouvait prouver, sur un nombre assez grand de ces sérums spéciaux, la coexistence d'une augmentation des globulines avec l'apparition de la bilirubine indirecte éthéro-extractible, il faudrait admettre un rapport entre les deux phénomènes. Nous croyons qu'il sera intéressant d'augmenter le nombre des observations.

Conclusions. — Dans 4 sérums ictériques qui contenaient de la bilirubine indirecte éthéro-extractible, les globulines précipitées n'entraînent pas des quantiés appréciables de ce pigment spécial.

Dans les sérums ictériques communs (qui contiennent seulement de la bilirubine indirecte chloroformo-extractible), l'addition de globulines provenant d'un sérum normal n'a pas fait apparaître de bilirubine indirecte éthéro-extractible.

On a trouvé une augmentation des globulines, avec diminution du quotient sérine-globuline dans 3 sérums qui contenaient de la bilirubine indirecte éthéro-extractible.

(Clinique Varela-Rubino.)

SOBRE UNA TECNICA PARA LA INVESTIGACION Y DOSIFICACION DE LA BILIRRUBINA EN LA ORINA

(CON LA COLABORACION DEL QUIMICO DON NICOLAS VOJEVODSKY)

Anales de la Asociación de Química y Farmacia del Uruguay (Revista). Tomo XLV - 1942
Número 1, pág. 25

En las aplicaciones del Laboratorio a la clínica, tiene siempre interés, el disponer de métodos de análisis, seguros, sensibles y a la vez sencillos.

Hasta hace pocos años, solo se disponía, para las investigaciones de la bilirrubina en la orina, de métodos muy poco sensibles, tales los de Gmelin y Grimbert. Posteriormente se introdujeron modificaciones a esos métodos, tales que los de Rosembach, Huppert-Cole, Naumann, etc., con lo cual la investigación de la bilirrubina para la clínica hizo progresos apreciables.

Desde hace algunos años, nosotros venimos trabajando, en el Laboratorio Jenner, una técnica que consideramos muy sensible y sencilla y por lo tanto muy adecuada para los análisis clínicos habituales.

Tomamos como base la Diazo-reacción de Erhlich, utilizada para la dosificación de la bilirrubina en el suero sanguíneo, la que es capaz de denunciar fracciones de miligramos por 100 c.c. de suero.

Las dificultades que se presentaban para la aplicación del reactivo Diazo, eran varias: en primer lugar las orinas presentan la propiedad, en algunos estados patológicos, de reaccionar con el reactivo, independiente, al parecer, de la presencia o ausencia de bilirrubina; en segundo lugar y esto es muy importante, hay numerosas orinas, que mismo agregándoles cantidades apreciables de bilirrubina, ya sea en forma de bilis, o de otra orina rica en bilirrubina, no reaccionan francamente con el Diazo, cuando este reactivo se agrega directamente.

Si con una misma bilis, tomamos dos series de diluciones crecientes, una con solución fisiológica de Cloruro de sodio y otra con orina normal, agregando a todos los términos una misma cantidad de reactivo Diazo, observaremos, que en la serie con suero fisiológico la reacción es Positiva a diluciones mucho mayores que en la serie con orina; por ejemplo. En una experiencia con bilis B, la

reacción en la serie con solución fisiológica era aún positiva en la dilución 1/160; en cambio en la serie con orina era ya Negativa en la dilución 1/40. Para obviar esos inconvenientes; es decir la posibilidad de sustancias reaccionantes independientemente de la bilirrubina y el poder de detención de la misma orina para la reacción, ensayamos el aislamiento previo de la bilirrubina por el cloruro de bario, tal cual se hace en el Grimbert y otras técnicas. En el precipitado de bilirrubinato de bario así obtenido y lavado hicimos actuar el reactivo Diazo con excelente resultado.

Como el reactivo Diazo, da la reacción característica solo con la bilirrubina, es decir no oxidada, es necesario hacerlo actuar en primer término sobre el precipitado de bario, agitando bien y esperando algunos instantes para que la reacción tenga lugar; solo después se hará actuar el alcohol ácido para la liberación de la azorrubina.

Es interesante constatar que para la liberación de la azorrubina, o sea su pase a solución, es necesario la presencia de alcohol y que no es indiferente el ácido a emplear. Tratando el precipitado bárico, por alcohol Clorhídrico en la misma concentración que para el Grimbert, solo una parte de la azorrubina pasa en solución, quedando siempre en el fondo el precipitado bárico más o menos coloreado por la azorrubina. En cambio el uso del ácido sulfúrico en cierta concentración se muestra muy favorable, pasando la azorrubina totalmente en solución, dejando en el fondo del tubo el precipitado bárico completamente blanco. Probablemente esta acción favorable al ácido sulfúrico se debe a la insolubilización del bario al estado de sulfato.

TECNICA. - REACTIVOS NECESARIOS

1.º Reactivo Diazo, de la siguiente fórmula:

Solución A

Acido sulfanílico	1 gr.
Acido Clorhídrico. - D. 1,19	1 c.c.
Agua destilada hasta	100 c.c.

Solución B

Nitrito de sodio	0gr.50
Agua destilada hasta	100 c.c.

2.º Solución de Cloruro de Bario al 5 %.

3.º Solución de Acido Sulfúrico al 10 % (en peso).

PROCEDIMIENTO

10 c.c. son colocados en un tubo de centrífuga y se le agrega 5 c.c. de la solución de bario; se agita bien y se centrifuga. Se arroja el líquido sobrenadante y se agrega agua destilada, mezclando y agitando bien para incorporar el precipitado. Se vuelve a centrifugar, se arroja el agua de lavado y sobre el sedimento se agrega UN c.c. del reactivo Diazo recién preparado, obtenido mezclando un c.c. de la solución A con una gota de la solución B. Después de mezclar se agrega un c.c. de la solución de ácido sulfúrico, se vuelve a mezclar y se agrega un c.c. de alcohol, se agita y se deja sedimentar o se centrifuga.

En el caso de la presencia de bilirrubina, el líquido sobrenadante toma una coloración violeta característica, más o menos intensa. Si no hay bilirrubina el líquido es incoloro o amarillento.

Hemos ensayado esta técnica desde el año 1932 hasta la fecha y jamás hemos encontrado un resultado discordante con la clínica.

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA HELMINTOSIS GASTRO-INTESTINAL DE LOS OVINOS DEL URUGUAY

(CON LA COLABORACION DEL DR. VARELA CALZADA)

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería N.° 6, Setiembre, Octubre y Noviembre de 1933

PRIMERA COMUNICACION

La presente comunicación, reúne los primeros trabajos, encaminados al conocimiento de la *Helmintosis* de los ovinos, "Lombriz", uno de los temas motivo de preferente atención de la Sección Patología Experimental, del Labortatorio de Investigaciones.

Aunque nuestros estudios tienen una finalidad eminentemente práctica, en el sentido de esforzarnos por obtener normas para establecer una profilaxis y terapéutica racionales, hemos debido empezar por precisar los elementos que permitan individualizar clínicamente la enfermedad, seguir su evolución, etc., para mejor estudiar así su etiología y patogenia.

Al hablar de *Helmintosis,* nos referimos a la enfermedad conocida por "Lombriz" y no lo hacemos en el sentido de dar por establecido que la enfermedad, o más bien enfermedades, conocidas en los lanares por ese nombre, sean de exclusivo origen parasitario, pues, pensamos, como uno de nosotros (Rubino) lo hizo conocer en la IX Conferencia Anual de Policía Veterinaria (Durazno), que esos estados que de un modo habitual se designan generalmente con el nombre de "Lombriz", no responden siempre a un mismo proceso morboso y puedan ser debidos a muy diversos factores: alimenticios (y esto en múltiples sentidos), parasitarios, etc.; de ahí que hayamos creído útil, estudiar los diversos elementos clínicos y auxiliares de Laboratorio, que permitan definir la o las enfermedades en juego.

Etiología. Parasitismo. — Aunque la etiología de la "Lombriz" es muy compleja, como ya lo hemos anunciado, y deben intervenir en ella numerosos factores, no hay duda alguna que el parasitismo tiene una participación importante.

A. Parasitismo. — El estudio sobre el parasitismo lo iniciamos con un lote de ovinos adquiridos, que ingresaron al Laboratorio con fecha 8 de Enero de 1933, señalados con los números 54 a 73 de nuestros protocolos. Este lote, compuesto por veinte animales de razas mezcladas (Merino, Lincoln y Romney) de 5 a 6 meses de

edad, presentaban diarrea de aspecto de barro, perversión del apetito (comían tierra frecuentemente) de estado desnutrido, hasta algunos caquécticos, lo que inducía a pensar que se hallaban fuertemente parasitados.

Al día siguiente de ingresados, muere el número 66, que presenta a la autopsia el cuadro anatomo-patológico conocido de la *Helmintosis:* intensamente desnutrido, aspecto acuoso o lavado de la carne, palidez general, etc. Además presenta lesiones de neumonía y pleuroneumonía, con focos purulentos y adhesiones fibrinosas de las pleuras en una zona de 6 a 8 centímetros de diámetro.

En el aparato digestivo se observa: gran cantidad de parásitos, en su mayoría *Haemonchus contortus,* también *Ostertagias* en el duodeno. Algunos *Trichocephalus* y *Oesophagostomum.* En el pulmón algunos *Dictyocaulus* (muy pocos).

Las muertes de varios de los ovinos de este lote, los números 56, 58 y 62 se sucedieron con intervalos de varios días, a pesar de un vermífugo, que se les administró. A la autopsia, aunque todavía parasitados, en ninguno se encontró la cantidad de vermes observados en el número 66.

En todos se comprobó un cuadro anatomo-patológico similar al número 66, con neumonía y pleuro-neumonía, a focos purulentos y adherencias fibrinosas de las pleuras.

TECNICAS USADAS

Deseamos hacer una referencia, aunque sea somera, de los métodos usados en nuestras investigaciones, dado que es fundamental, cuando se anuncian determinados resultados, expresar las condiciones de su comprobación, a fin de que otros colegas puedan formar su juicio sobre el grado de exactitud de los mismos y comprobar su veracidad.

Búsqueda de huevos. Examen directo. — La comprobación del parasitismo en un animal, puede hacerse por el examen directo de las materias fecales. Para esto, si bien es cierto que los huevos se encuentran distribuidos más o menos regularmente en todos los "crotins" y dentro de cada uno en todo su espesor, es conveniente, sin embargo, para mayor exactitud, preparar con uno o más "crotins" una pasta homogénea, utilizando para ello agua destilada o solución fisiológica (o en su defecto un agua que dé seguridad de no contener huevos o quistes, vivos o muertos, que puedan inducir a error). De esa pasta se toma una pequeña porción equivalente a una gota, la que colocada sobre un porta objeto, se diluye a su vez con una o más gotas de agua destilada o solución fisiológica, en forma de obtener una vez cubierto con el cubre objeto, una película bien clara. Se observará con un aumento de 200 a 400 diámetros.

Métodos de enriquecimiento. — Un examen directo negativo, no autoriza a afirmar que el animal esté libre de parásitos, debiéndose para mayor seguridad, repetir los exámenes o mejor recurrir a un método de enriquecimiento, que se presta, además, muy bien, para concentrar en una misma preparación un crecido número de huevos. Para hacer preparaciones para conservar, se presta bien el método de Telemann; pero para las comprobaciones es muy adecuado el de Fülleborn.

Este método tiene como base mezclar las materias fecales con una solución saturada de cloruro de sodio, que por su fuerte densidad, hace que los huevos asciendan y se adhieran a una lámina de vidrio, colocada sobre la superficie libre del líquido. Es esencial en este método, llenar las siguientes condiciones 1.º Que la solución sea bien saturada; para ello débese disolver el cloruro de sodio en exceso en agua en ebullición, agitando. 2.º Que se utilice una probeta cilíndrica a fin de que los huevos asciendan libremente hacia la superficie. 3.º Que el líquido rebase la probeta formando un menisco convexo, pero sin derramarse. 4.º Que la lámina esté perfectamente limpia y desengrasada. 5.º Que la lámina permanezca en contacto del líquido durante 15 a 30 minutos. 6.º Que se haga la observación dentro de la hora de hacer la dilución, porque después, los huevos se van nuevamente al fondo por su sobrecarga en cloruro de sodio. Para las preparaciones de huevos para coleccionar, este método es inadecuado, porque altera rápidamente los huevos.

Contage de huevos. Método de Brumpt, modificado. — Brumpt indica el siguiente método, para el contage de huevos de helmintos: tomar 5 gramos de materias fecales, desleirlas en su doble volumen de agua destilada, pasar por un tamiz metálico, de malla de un milímetro, agotar dos veces más las materias con agua, agregar 1/20 de formalina (formol comercial), dejar sedimentar 24 horas y decantar. Pesar el sedimento, tomar un gramo del mismo, contar cuántas gotas encierra dicho gramo y contar el número de huevos que contiene la gota, diluída en suero fisiológico; haciendo el cálculo, se obtiene el número de huevos, por gramo. Este método, ofrece el inconveniente de dos nuevas pesadas del sedimento semifluído, que resulta de la sedimentación espontánea y la valoración del número de gotas, lo que además de ser engorroso, se presta a errores apreciables.

Nosotros lo hemos modificado en la siguiente forma, que nos resulta mucho más seguro y práctico; operamos así: tomamos igualmente 5 gramos de materia fecal, diluímos en agua destilada, (unos 10 a 15 c.c.), en caja de Petri, haciendo una pasta homogénea, que pasamos por el tamiz de un milímetro a una probeta graduada, de unos 200 c.c., agotamos las materias, enjuagando la caja de Petri sucesivamente con varias porciones de agua que a su vez pasamos por el tamiz, revolviendo las materias con el agitador de Thoulet

para asegurar el pasaje del mayor número de huevos; formamos así en la probeta un volumen total de 140 c.c. Se agregan 10 c.c. de formalina, se agita bien y se deja decantar 24 horas. En tales condiciones, se forma en el fondo de la probeta una capa espesa de color verdosa, a superficie bien neta y encima una capa de líquido turbio. Se decanta la capa líquida, cuidando de no remover el sedimento, enrasamos el sedimento exactamente a 20 c.c. con agua destilada y se agita (mejor con el auxilio de una varilla) para distribuir uniformemente los huevos en la masa. Se toma un c.c. de esta mezcla, se cuenta cuántas gotas contiene y en una de estas gotas se hace el contage del total de huevos que contiene. Para esto se coloca la gota sobre un porta objeto, se diluye cuidadosamente con 2 o 3 gotas de agua destilada, se cubre el total con uno o más cubre objetos y se hace el contage utilizando un aumento de 200 a 400 diámetros, recorriendo el total de la preparación en el sentido de las abcisas u ordenadas. Luego se hace el siguiente cálculo. Los 5 gramos de materias fecales fueron llevados, después de la decantación, a 20 c.c.; es decir, que 4 c.c. del sedimento equivalen a un gramo de materia fecal. Supongamos que 1 c.c. de ese sedimento da 25 gotas y que la gota da 30 huevos, el número de huevos por gramo de materia fecal es $30 \times 25 \times 4 = 3{,}000$.

Búsqueda de parásitos. — A) En las materias fecales.

En general, la mayoría de los *Nemátodos,* salvo el caso de expulsión extemporánea, es poco frecuente encontrarlos en las materias fecales; tratándose de los ovinos debemos señalar sin embargo la expulsión constante de la forma larval del *Dictyocaulus,* en los animales infectados de verminosis pulmonar. De manera que deberá recurrirse a la autopsia.

En la autopsia. — B) La ubicación o comprobación de la residencia de los vermes en los órganos, tiene importancia, porque ayuda al diagnóstico microscópico, en ciertos casos. Por esto es conveniente retirar en la autopsia el aparato digestivo por partes, previa ligadura. Así procedemos nosotros, retirando los reservorios estomacales separados. El intestino delgado se retira en segmentos no mayores de 50 centímetros previa ligadura, y el intestino grueso en 4 partes; ciego colon (2 partes) y recto. Especialmente en el intestino delgado, es importante no remover el contenido, semiflúido, antes de ligar. Según la altura del intestino, son diferentes los vermes y también es diferente la técnica que debemos usar para encontrarlos.

Un método que nos da buen resultado, para aislar rápidamente los vermes muy pequeños, que a primera vista son de difícil visibilidad como los Ostertagia, es el siguiente: se escurre un poco del contenido duodenal, donde estos vermes son más abundantes, en un vidrio de reloj grande, agregando otro tanto de agua destilada o solución fisiológica.

Se toma una aguja de histología en posición casi horizontal; y se pasa repetidas veces, con cierta brusquedad, por la mezcla contenida en el vidrio de reloj, tocando el fondo del mismo con la punta de la aguja, en movimiento de derecha a izquierda, levantando cada vez. En esta forma los parásitos son levantados por la aguja y pasados a una caja de Petri con solución fisiológica, sumergiendo la aguja en ésta, y agitando suavemente, para que los parásitos se desprendan. En estas condiciones, los parásitos pueden ser fácilmente observados sobre fondo obscuro o con el auxilio de lentes.

Reconocimiento de huevos y larvas. — Para identificar bien, con fines experimentales, las distintas especies de huevos y larvas de helmintos, sin lugar a dudas, nosotros hemos procedido de la manera siguiente: tomamos con una aguja las hembras ovígeras, que son fáciles de reconocer e identificar perfectamente y las colocamos en agua de infusión de pastos verdes, en caja de Petri a la temperatura del laboratorio o a la estufa a 28°, en los días muy fríos. En el transcurso del mismo día ya vemos huevos, con ayuda del microscopio; en lo sucesivo ya a las 24-48 horas, según las especies, se ven larvas que van aumentando de número en los días siguientes, según el número de hembras que ponemos a cultivar. Con estos huevos y larvas, hacemos los estudios e identificaciones a mayores aumentos, previa fijación, montaje, etc.

Identificación de los huevos de los géneros Haemonchus y Ostertagia. — La forma de los huevos, sus dimensiones y su estructura, presentan caracteres suficientes para identificarlos.

Los huevos de *Haemonchus contortus* (según las microfotografías adjuntas), presentan la forma elipsoide, de 90 a 118 micras de largo por 55 a 75 de ancho. La mórula, generalmente no llena totalmente la cámara del huevo, dejando un espacio en ambos polos.

Los huevos de *Ostertagias* son más pequeños, de lados generalmente aplanados, dando a veces la impresión de un paralelepípedo a ángulos redondeados, de 60 a 75 micras de largo por 42 a 55 de ancho. Un ancho de 42 micras, es bastante constante.

Los huevos de ostertagias se presentan en las materias fecales recién emitidas, generalmente bajo la forma de la mórula fina o de plánula.

Los huevos de *Haemonchus contortus,* aparecen en las materias fecales recién depuestas, generalmente, o la mayoría, en mórula gruesa de 8, 16 o 32 blastómeros, más raramente en mórula fina. En ésta especie, la subdivisión de los blastómeros es más lenta que en los Ostertagias y por lo tanto también, el embrionamiento y la eclosión se hacen más tardiamente. En cambio jamás se ve, en las materias fecales, huevos de Ostertagias en mórulas gruesas. Ya uno de nosotros ("Calzada. Dos especies del Género *Ostertagia,* encontrados en los ovinos del Uruguay", IX Conferencia, Durazno

1931), hacía notar el hecho de la postura de estos huevos, en avanzado estado de madurez. Esta diferencia en la evolución de los géneros citados, es constante, y se presenta igualmente en los diversos medios de cultivo que hemos utilizado, para seguir su evolución.

La marcha evolutiva en su medio normal, el tubo digestivo, la hemos seguido, haciendo observaciones del contenido intestinal, desde el cuajar al recto. Para ello se ha ido extrayendo en la autopsia, como lo hemos indicado, los reservorios estomacales y los intestinos en segmentos, previa ligadura.

Sistemáticamente y en el menor tiempo posible, hemos hecho la observación de los huevos de *Haemonchus contortus* y *Ostertagias*, en los diversos segmentos. De este modo, hemos podido seguir, paso a paso, "*in situ*", las distintas etapas de la subdivisión morular. Se comprueba así que aún en las primeras porciones del intestino delgado, los huevos de Ostertagia se presentan ya bastante subdivididos, y que la subdivisión morular es progresiva, a través del aparato digestivo.

La evolución de los huevos, hasta la formación de la larva envainada, la hemos seguido por distintos medios y condiciones de cultivo.

Estos cultivos los hemos seguido ya a la temperatura ambiente del Laboratorio, en las cuatro estaciones del año, ya en la estufa a aire húmedo, a 28° destinada al cultivo de parásitos, o también en la estufa a 37°.

La temperatura tiene mucha importancia así como el agua. Desde este punto de visto no nos referimos a la humedad, que siempre es necesaria, sino a la mayor abundancia de agua, en los cultivos.

Forma de cultivos. — Aparte del agua clorofilada ya mencionada, que usamos para la postura de las hembras, usamos además, los cultivos con negro animal, que hacemos en la siguiente forma: se coloca en una caja de Petri, una capa de ½ centímetro de arena y encima una capa de 1 centímetro de espesor de una papilla que hemos preparado por separado, compuesta de 3 partes de materias fecales, por una de negro animal, remojando y mezclando con agua destilada. El negro animal actúa como antipútrido y deshodorizante. Para mantener la humedad permanente de los cultivos, colocamos al lado, otra caja de Petri con agua, y unimos ambas por una banda de papel filtro de tres o cuatro pliegues, de unos cinco centímetros de ancho; se coloca un extremo de la banda, debajo de la arena de la caja del cultivo y el otro extremo se sumerge en el agua de la otra caja. Cuando queremos mantener una capa de agua, por encima de la superficie de cultivo, colocamos en lugar de la caja de Petri con agua, un bocal con un nivel de agua, que iguale la altura del nivel que deseamos en el cultivo. En ambos casos la banda de papel fil-

tro, hace de sifón por capilaridad, transportando el agua de una caja a la otra.

Las larvas que nacen en este medio, se ven con ayuda de una lupa reptando en la superficie. Para extraerlas del cultivo, basta agregar una capa de agua, donde ellas acuden y nadan; se separa esta agua ya sea inclinando la caja de Petri o por medio de una pipeta. De ésta agua, que se obtiene generalmente bastante límpida, se pueden extraer las larvas con facilidad con ayuda de una aguja, bajo el microscopio.

También usamos como medio de cultivo, colocar los "crotin" infestados, directamente en agua destilada, cuyos resultados generales, narramos a continuación.

Resultados obtenidos en los cultivos en arena y negro animal.— En cultivos bien húmedos, a la temperatura ambiente del Laboratorio, en días calurosos del Verano, hemos obtenido larvas de *Ostertagias* a las nueve horas.

Las eclosiones más precoces, fueron de cinco horas, en cultivos hechos a 37-38 grados con mucha humedad.

Normalmente de las 24 a 48 horas, con temperatura ambiente, en días templados y con materias ricas en huevos, ya se obtienen larvas en abundancia, reptando en la superficie.

En la estufa a 37-38 grados si bien la eclosión es más precoz, no es la temperatura más favorable, el número de larvas es menor.

Cultivos dejados a la temperatura ambiente, en los días calurosos del verano, se han mostrado muy favorables, observándose un gran número de larvas con gran vitalidad.

También se obtienen buenos resultados, en la estufa de aire húmedo a 28 grados.

Entre los numerosos cultivos que hemos hecho, por el método descripto, podemos citar como ejemplo los cultivos 1A que seguimos su marcha haciendo observaciones diarias, durante 45 días, iniciado el día 17 de Abril de 1933 con materias del ovino número 75, en estufa a 28°. El 2A con materias del cordero número 68, iniciado el 21 de Abril de 1933, a la temperatura ambiente en días templados del otoño último. En ambos aparecen las primeras larvas a las 8 y 10 horas después, y a las 24 a 48 horas ya eran abundantísimas. En los innumerables cultivos que individualizamos con la serie A y también en otros, aparecen las larvas generalmente 6 horas después, aunque algunas demoran algunas horas más.

La eclosión se hace paulatinamente, así es como se ven, aún muchos días después, aunque raros, algunos huevos todavía en mórulas finas y huevos con embrión formado. En los huevos estériles, la estructura se modifica, se ven vacuolados, en aspecto de degeneración grasosa, con zonas claras, que se diferencian de los huevos fértiles, con sus blastómeros redondos, uniformemente distribuídos y

más o menos grandes, según su estado de subdivisión, que constituyen la mórula típica en estado de progresar.

La formación del embrión, se puede seguir muy bien en los huevos de *Haemonchus contortus,* por su evolución lenta y su tamaño, pero es muy bien visible en la *Ostertagia.* En un punto del ecuador de la masa granulosa, se inicia una escotadura que se hace muy amplia, imprimiéndole la forma de un riñón, luego esa escotadura se hiende, en la masa hacia uno de los polos o extremos, deteniéndose a cierta distancia del mismo, quedando así constituída la plánula, que en su evolución más avanzada aparece como un verme



Tres huevos de Ostertagias en el pasaje de plánula a embrión y un huevo de Haemonchus contortus en mórula fina. Los blastómeros están tan subdivididos que forman una substancia granulosa. No están teñidos.

doblado en V cerrada, con una rama bastante más larga que la otra. En un momento dado, se observan en el joven verme, la aparición de muy suaves movimientos en ondas, y luego de reptación. El cuerpo del embrión que era de aspecto granuloso, va presentando contornos más nítidos y sus movimientos se hacen cada vez más vivos y desenvueltos.

Sucesivamente va apoyando su boca que abre y cierra constantemente, en diversos puntos de la cara interna de la pared del huevo, como procurando debilitarlo o buscando un punto vulnerable por donde salir.

En un momento dado la cáscara se abre y el verme queda en libertad. La larva, corta y gruesa, continúa sus movimientos acompasados y lentos, primero, que se van activando después.

Las larvas se diferencian; las de *Haemonchus* se presentan delgadas, en su evolución posterior y muy activas en sus movimientos de reptación; desaparecen rápidamente del campo del microscopio. En cambio, las de *Ostertagias*, que al principio son cortas y gruesas, de movimientos más lentos, después de varios días crecen y se presentan más largas y más gruesas que las de *Haemonchus*, y siempre a movimientos lentos. No las hemos visto jamás envainadas.

El envainamiento, visible siempre en las larvas de *Haemonchus contortus*, cuando están en el agua, parece ser el fin del estado larval, libre, permaneciendo bajo esa forma, a la espera del huésped definitivo, no sufriendo aparentemente más modificaciones morfológicas. Las larvas envainadas, aún son muy activas en sus movimientos, por lo cual no debería considerarse como un verdadero enquistamiento.

En los cultivos de arena y negro animal, hemos mantenido larvas vivas durante 45 días, y este tiempo debe ser más largo aún, no pudiendo pronunciarnos sobre el plazo máximo por haber abandonado la observación por causas accidentales.

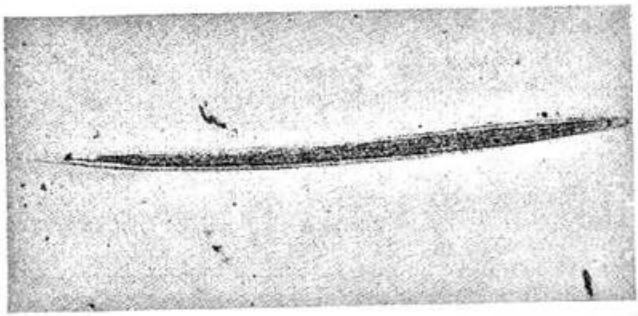
Evolución de los huevos de Haemonchus y Ostertagias dentro de los "crotins". — Creyendo siempre en la preponderancia de las materias fecales, en la diseminación de la infestación parasitaria gastrointestinal del ovino, resolvimos hacer una serie de experiencias, con el fin de aclarar algunos puntos que creímos de gran interés, entre ellos las distintas circunstancias de humedad, aereación y temperatura sobre la evolución del huevo dentro del "crotin", tratando de igualar las distintas condiciones naturales y muy especialmente, de ver si para la evolución larval completa y para la diseminación de las larvas en el campo, era necesario o no, la disgregación del "crotin" como algunos lo han supuesto (Díaz L. O.).

a) Cultivos de "crotins" sobre arena húmeda, con una ligera capa de agua. — En una cápsula de porcelana o caja de Petri, se coloca una capa de arena de un centímetro más o menos de espesor, agregando agua una o dos veces por día, para mantener el nivel, o en su defecto adoptando el sistema de sifón con papel filtro, ya citado. Los "crotins" se mantienen así húmedos, embebidos por capilaridad. Diariamente se hace la investigación de a uno, comprobándose que en estas condiciones los huevos y las larvas evolucionan dentro de la masa fecal, sensiblemente igual que en los demás medios de cultura descriptos.

b) Cultivos de "crotins" en agua. — Las comprobaciones que en los cultivos precedentes hicimos, respecto a la acción favorable del agua, en cuanto a la lozanía de los mismos, acción manifestada

en diversos aspectos, nos llevó a hacer culturas colocando directamente las materias depuestas espontáneamente o extraídas a propósito del recto, en agua destilada o corriente, en caja de Petri. Esta forma la hemos utilizado innumerables veces, habiéndose prestado para realizar interesantes observaciones y además porque puede parangonarse con el charco de agua del campo, demostrando que por pequeño que este sea, se presta para el cultivo de los huevos de helmintos, en determinadas circunstancias.

La marcha de estos cultivos y sus resultados, son, sin embargo, muy contingentes, si no se observan algunas condiciones. Es necesario que el agua no cubra totalmente los "crotins" pues parece que los huevos, para seguir su evolución completa necesitan aire. Así por ejemplo, cuando los "crotins" son cubiertos desde el primer momento, con agua totalmente, y mantenidos en esta forma permanen-



Larva de Haemonchus contortus envainada. Tinción por Lugol

temente, agregando agua para sustituir la evaporada, el cultivo es mediocre, encontrándose muy pocas larvas, permaneciendo la mayoría de los huevos, en un estado incambiado de evolución. Si luego se deja evaporar toda el agua, queda en el fondo una capa de humedad con las larvas y las sustancias que estaban en suspensión o dilusión. Los elementos parasitarios se mantienen perfectamente por algún tiempo, pues si se agrega agua nuevamente, con mucho cuidado, al cabo de media a una hora, se verán en ella numerosas larvas.

En las condiciones que hemos expuesto ("crotins" con poca agua) ya a las doce horas, en días templados, empiezan a verse las primeras larvas y a las 24 horas son ya muy abundantes, si el estado de infestación de las materias en cultivo es tal. Bajo el microscopio se ven fácilmente, las de *Haemonchus contortus* reptando activamente y las de *Ostertagias* con movimientos más lentos. Unas

y otras pueden presentar en ciertos momentos, movimientos muy lentos y también detenerse totalmente inmóviles en el fondo del agua, tendidas cuan largas son, o algunas apenas incurvadas, pero basta tocarlas con la aguja para que empiecen a moverse, o también cuando se presenta éste fenómeno, que es frecuente en invierno, basta llevar las culturas media a una hora a la estufa para activarlas.

Colocadas entre porta y cubre, con solución fisiológica, se mantienen constantemente en actividad, pero basta colocar debajo de la lámina un trozo de hielo, para que se detenga instantáneamente; si retirado el hielo se devuelve el calor aplicando la yema del dedo, comienzan a moverse nuevamente. Este fenómeno puede repetirse, tantas veces se quiera. Esta misma diferencia de movilidad, por la influencia de la temperatura, se observa también bajo la acción de la temperatura ambiente, en días fríos o calurosos.

En esta agua hemos seguido la vitalidad de las larvas hasta durante casi cinco meses: en dos cultivos iniciados el 5 de Mayo de 1933, se veían algunas larvas vivas en los últimos días de Setiembre último.

Las larvas de *Haemonchus contortus* en el agua envainan siempre; ya a los diez días están generalmente todas envainadas. El envainamiento comienza generalmente después del 6.º día y se reconoce porque envolviendo el cuerpo de la larva se ve una especie de cápsula, separada del verme, por un espacio claro, según se ve en la microfotografía adjunta.

El fenómeno del envainamiento presenta diversos aspectos. La larva se retrae con libertad dentro de su vaina, de ahí que la cámara se hace visible ya en la parte oral ya en la parte caudal o en ambas a la vez. Generalmente la cámara es visible en la parte caudal. Parece depender también de fenómenos de ósmosis, etc., pues en el agua, esta cámara es constante y netamente visible, pero en ciertas circunstancias desaparece temporariamente. Un hecho que robustece ésta observación es el siguiente; una larva de *Haemonchus contortus* aparentemente no envainada, fué muerta por alcohol caliente y montada para la colección, la vaina no era visible, pero después de varios días, por desecación o por la acción de los reactivos, la vaina comenzó a hacerse visible, no obstante estar muerta la larva desde hacía varios días, lo que prueba que la vaina existía, pero no era visible.

En ciertas circunstancias, cuando el agua corriente que usamos para estos cultivos ha presentado ciertas variantes en su composición química, la evolución no ha marchado satisfactoriamente.

También hemos utilizado como procedimiento de control de estos cultivos, la extracción de las materias del recto, con cucharas esterilizadas, en cajas de Petri esterilizadas, usando el agua destilada,

también esterilizada, comprobando que estas precauciones son completamente innecesarias.

Seguramente la vitalidad de las larvas en el agua, es superior a los cinco meses anotados, tiempo en que nosotros las seguimos, pues esta observación fué abandonada para dedicarnos a otros aspectos del problema.

Las larvas envainadas acusan movimientos muy activos, de manera que éste estado no puede ser considerado como un verdadero enquistamiento.

Los "crotins" que se colocan en el agua para cultivar, mantienen intacta su forma exterior, hasta en los cultivados durante cinco meses y las larvas salen de adentro de la masa, sin necesidad de desmenuzamiento, contrariamente a lo que supone Díaz.

Estos hechos, la facilidad con que los huevos evolucionan dentro de los "crotins" en ambiente húmedo (cuando el agua no los cubre totalmente), y el pasaje de las larvas de las mismas, al agua ambiente aún sin disgregarse, inducen a pensar de su importancia en la diseminación y contaminación parasitaria.

c) *En corriente de aire húmedo.* — Al efecto montamos un aparato ideado por uno de nosotros (Rubino) que consta de una campana, en que se mantiene una corriente constante de aire cargado de humedad. En esa campana colocamos 3 cajas de Petri con materias de los ovinos Nos. 75, 13 y 68 y dos termómetros, uno seco y otro húmedo, destinados a medir la temperatura y el grado de humedad respectivamente.

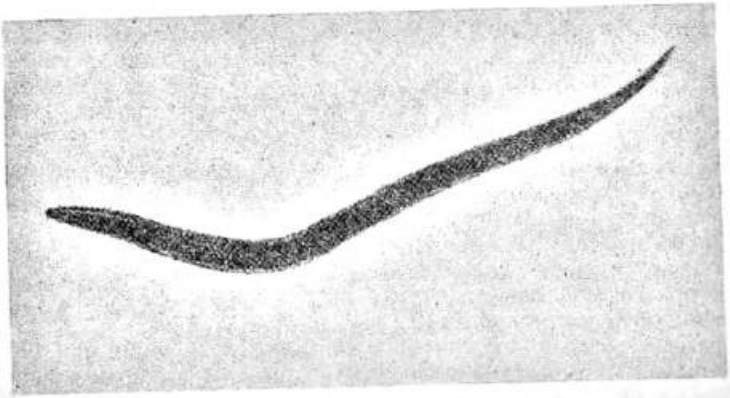
La atmósfera húmeda la obtenemos haciendo pasar una corriente de aire por un depósito con agua y trozos de vidrio, de donde sale cargado de humedad y es conducido por un tubo de goma unido a otro de vidrio, que va al fondo de la campana de cultivo. (Véase el grabado). La corriente de aire la mantenemos por un dispositivo de agua, acoplado también a la campana, por su parte superior. La salida del agua del depósito por su grifo inferior, arrastra, por desplazamiento el aire, estableciendo la corriente. La velocidad de la corriente del aire puede ser graduada regulando la salida del agua del depósito aspirador. Un tubo de goma de la canilla de agua corriente, alimenta el depósito de agua, cuando lo deseamos. Las temperaturas registradas en la campana oscilaron, desde el 15 de Junio en que empezó la experiencia, hasta el 17 de Julio, entre 9 y ½ y 14 grados, y la humedad se mantuvo constante en 82.

Con fecha 15 de Junio de 1933, colocamos en la campana 3 cajas de Petri llenas de "crotins" de los ovinos números 13, 75 y 68 y diariamente retiramos después, un "crotin" de cada una, de los que hicimos una preparación con un pequeña partícula que investigamos, y el resto lo colocamos, casi entero, en una cápsula de porcelana con arena húmeda, a la temperatura ambiente, para verificar,

en caso de que la evolución no continuara dentro de la campana, podría hacerlo en arena y comprobar así, hasta cuántos días duraba la resistencia dentro de los "crotins" en la campana. Se hicieron observaciones y anotaciones minuciosamente, según puede verse en el cuadro respectivo, diariamente o con algunos días de intervalo.

La evolución de los vermes continuó normalmente dentro de los "crotins" de materias fecales y las larvas fueron siendo cada vez más numerosas, desapareciendo los huevos correlativamente, en lo referente a *Haemonchus* y *Ostertagias*.

A partir del 7 de Julio, las observaciones se hicieron más espaciadas, hasta el 17 del mismo mes, en que comprobando la continuidad de la vida de las larvas en la campana, retiramos diez



Larva de Ostertagia no envainada. Tinción por Lugol

"crotins" de cada caja, que dejamos expuestos al aire y al sol en el Laboratorio y a los diez dias, el 27 de Julio, se coloca uno de cada uno, por separado, en agua y poco a poco se fueron desmenuzando suavemente a fin de no destruir las larvas si aún estaban con vida. Media hora después se ven larvas en abundancia bien móviles y activas. Estos "crotins" estaban completamente secos. La evolución, en sus diversos estados, morulación, formación de huevos embriones y larvas, en los "crotins" mantenidos en la campana, es sensiblemente igual a lo observado en la evolución normal, en los diversos cultivos.

Seguidamente, el 1.º de Agosto próximo pasado, tomamos el resto de "crotins" de la campana y lo expusimos a la acción de los rayos solares, continuando las observaciones quincenalmente y comprobando que en estas condiciones tan desfavorables por la sequedad, continuaba la vida de las larvas de *Haemonchus contortus* y *Ostertagias* el 15 de Setiembre último (dentro de los "crotins"), es decir,

a los cuarenta y cinco días de exposición al sol y noventa de excretados.

Seguramente, la vida de las larvas en estas condiciones, es aun mayor; nuestras observaciones fueron finalizadas con la terminación de las materias fecales. Correlativamente hicimos también la siguiente experiencia: El 1.º de Agosto último, tomamos una cantidad de materias fecales del ovino número 75 y las colocamos al aire, y expuestas permanentemente a la acción de los rayos solares. El mes de Agosto último, fué todo primaveral con muchos días a temperaturas y sol casi estivales. Los "crotins" se secaron rápidamente y se presentaban tan duros y secos que arrojados violentamente contra la caja de Petri rebotaban produciendo ruido casi metálico. Se hicieron tres observaciones de las materias, quincenalmente. Agosto 15, Setiembre 10 y 15, partiendo en 4 porciones cada "crotin" y colocándolas en agua. Media hora después, en las tres observaciones citadas, se observaron larvas vivas y móviles de *Ostertagias* reptando en el fondo y horas más tarde también de *Haemonchus contortus*. En estas condiciones las larvas se mantuvieron vivas durante 45 días.

Las observaciones que hasta entonces habíamos hecho de estas materias, fué colocando a remojar cada "crotin" y desmenuzándolo delicadamente poco a poco, pero para acercarnos más a las condiciones naturales, colocamos algunos de éstos en el agua dejándolos en reposo. Ya 24 horas después, comienzan a verse algunas larvas, aumentando de número más tarde, conservando el "crotin" su forma intacta; es decir, que una vez humedecidos, las larvas salen fuera espontáneamente y reptan libres en el agua. Es obvio insistir sobre la importancia de esta constatación, que aclara algunos fenómenos todavía inexplicables, respecto a la acción de las lluvias en los recrudecimientos de las epizootias.

Formas de diseminación. — ¿Tiene influencia la rumia?

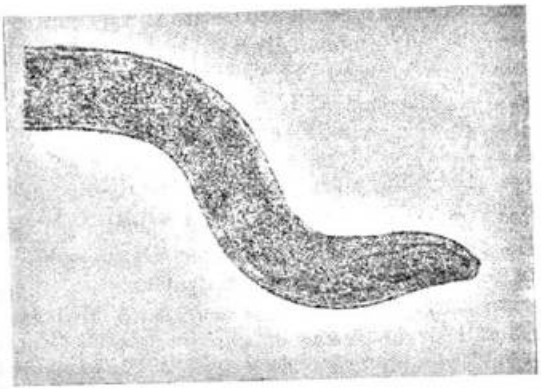
Según se desprende de todas nuestras experiencias, los huevos de parásitos siguen su evolución dentro de las materias fecales, aun en condiciones severas de sequedad y exposición al sol, dando larvas que se mantienen vivas durante largo tiempo, que pasan al medio exterior, cuando se producen condiciones favorables de humedad, y sobre todo cuando se ponen dentro del agua; lo que parece probar acabadamente que la expulsión de los huevos, con las materias fecales, constituye el principal factor de diseminación de estos parásitos y de infectación de las majadas. No obstante, dadas las afirmaciones hechas en nuestro país por el doctor Díaz, de haber encontrado huevos de los helmintos gastrointestinales, en el bolo de la rumia, y la consideración que hace, de que es un factor importante de diseminación parasitaria, resolvimos hacer algunas investigaciones con el fin de comprobar si realmente en la rumia de los la-

nares, existen los huevos de esos parásitos y en proporciones de que puedan constituir factores apreciables de contaminación.

Nosotros no hemos encontrado huevos de helmintos gastrointestinales, en el bolo de la rumiación, en ninguno de nuestros ovinos que hemos investigado, a pesar de haber recurrido a los métodos de enriquecimiento corrientes, Fülleborn, Telemann y Carles Bartelhemy, según puede verse en el cuadro respectivo.

Advertimos que en estas investigaciones hemos utilizado siempre ovinos libres, o muy pocos parasitados con *Dictyocaulus*, verme que se anida en los bronquios y puede inducir a error.

Estos hechos hacen muy problemática la posibilidad de que



Extremidad oral de una larva de Ostertagia, se ve la expansión rabditiforme, en el ap. digestivo. Tinción por Lugol

la rumia pueda constituir un factor de algún valor, en la diseminación parasitaria.

Datos tomados de las investigaciones realizadas en Sud Africa, señalan, que un ovino medianamente parasitado de las vías intestinales, puede llegar a emitir la fantástica cantidad de tres millones de huevos en las 24 horas.

INVESTIGACION DEL AGUA DE LOS BEBEDEROS

Prosiguiendo nuestras pesquisas, hemos hecho la observación del agua de los bebederos, donde se abrevan numerosos corderos bien infestados, con el resultado que va a leerse.

Corral número 1 guarda 13 corderos, todos parasitados, tiene dos bebederos.

El 9 de Junio dejamos agotar un poco, para concentrar más las larvas si las hubiera, puesto que sabemos que viven con preferencia en el fondo, y recogemos el residuo. Observamos esta agua, que alcanza a un litro y medio, por pequeñas porciones en caja de Petri bajo el microscopio. No hemos logrado, a pesar de la minuciosidad de nuestra búsqueda, ver una sola larva. Centrifugada una parte de esta agua hemos hecho preparaciones con el sedimento, no encontrando tampoco ningún huevo.

Con fecha 14 del mes citado repetimos la observación del mismo bebedero en igual forma que la anterior, con resultados también negativos.

El mismo día hacemos el examen del agua del bebedero número 2, del mismo corral; esta vez tomamos más cantidad de agua, casi tres litros, que agotamos igualmente poco a poco, en caja de Petri, observando bajo el microscopio y haciendo también centrifugación y preparaciones en todos los casos; el resultado fué negativo en cuanto a larvas y huevos de helmintos gastrointestinales.

REPRODUCCION EXPERIMENTAL

Con el fin de verificar cual o cuales son los elementos infestantes de la enfermedad, hemos procedido a hacer algunos ensayos que aun prosiguen y que pasamos a narrar:

1.ª Experiencia: 2 corderos, Nros. 132 y 133, nacidos en el Laboratorio y apartados de la madre inmediatamente de nacer, se colocan en un box desinfectado previamente y diariamente, previo lavado de la ubre con alcohol yodado, un peón da de mamar a la mano a los corderos fuera del box y son abrevados con agua corriente.

Se les administra a cada uno 50 gramos de materias fecales recién emitidas por los ovinos Nros. 125 y 126, infestados con 700 huevos por gramo, más o menos. Estas materias fueron administradas previa dilución en 400 C.C. de agua.

RESULTADOS OBTENIDOS

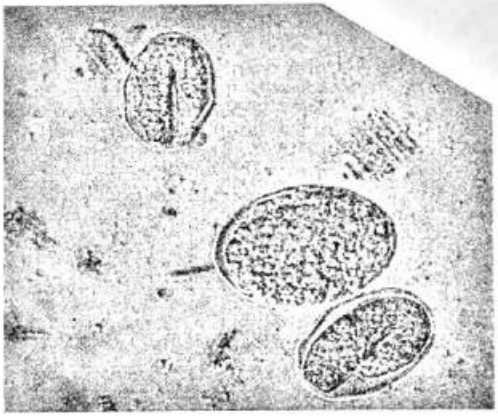
A partir del 2.º día se hace la investigación de las materias fecales, encontrándose huevos de helmintos, lo que se repitió durante varios días. A partir del 8.º día y hasta la fecha, no se han encontrado más huevos en las materias de estos corderos. Según parece, los huevos han pasado de largo a través del tubo digestivo.

2.ª Experiencia: Con fecha 23 de Octubre próximo pasado, se toman otros dos corderos, Nros. 134 y 135, nacidos en el Laboratorio y mantenidos también, guardándose las mismas precaucio-

nes que los anteriores. Como en aquéllos se hace el análisis previo de las materias fecales (método Fülleborn) con resultado negativo. Se les administró entonces, en la fecha indicada, agua de cultivos de "crotins" infestados. Esta agua estaba cargada de larvas de *Haemonchus* y *Ostertagias* de cinco días de edad.

El 16 del corriente, es decir 24 días después de la infestación, se investigaron las materias fecales por el Fülleborn y se encontraron numerosos huevos de *Haemonchus contortus* y de *Ostertagias.*

En nuestros trabajos en marcha estudiamos si las larvas son infestantes en cualquier período de su evolución o si solamente una vez envainadas.



Un huevo de **Haemonchus contortus** en mórula fina y dos de Ostertagias en plánula avanzada.

HEMATOLOGÍA. — CASOS NORMALES O APARENTEMENTE NORMALES

Los ovinos destinados a esta parte de nuestros estudios ascienden a 34. De estos, los indicados en nuestros protocolos son los números 1 al 14, corresponden a ovinos con larga permanencia en el vivero del Laboratorio, algunos nacidos en él, y que al examen coprológico, repetidas veces, no se encontraron parasitados. Los veinte restantes, indicados en nuestro protocolo, con los números comprendidos entre 23 y 53, corresponden al primer lote de ovinos comprados en Setiembre del año próximo pasado. Se trataba de corderos en muy buen estado de nutrición, seguramente no parasitados o

muy poco parasitados, según las autopsias que se hicieron de algunos de ellos.

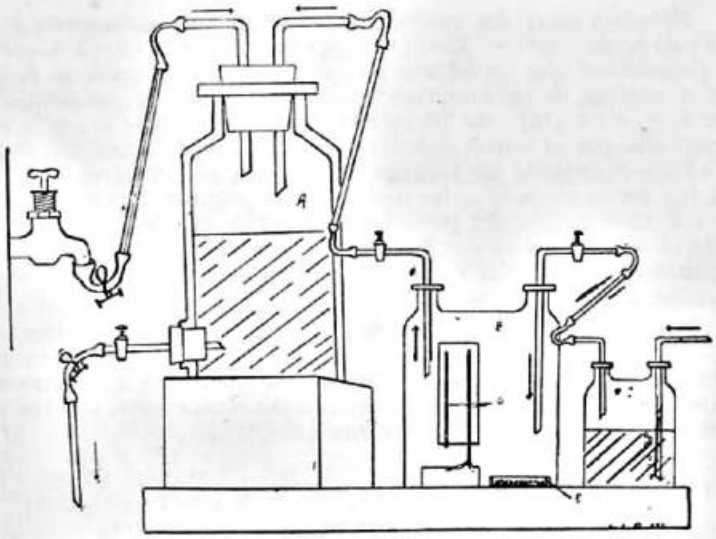
El estudio hematológico de estos ovinos, cuyos datos anotamos a continuación, se refieren al dosage de la hemoglobina (Hellige y Sahli) las numeraciones de los eritrocitos y leucocitos y la fórmula leucocitaria.

Entre los resultados obtenidos, hacemos notar que el ovino número 14 presenta 14.000.000 de eritrocitos por milímetro cúbico. Se trata de un valor excepcional, notado en un solo animal, que bien puede tratarse de una hiperglobulia, que obedezca a alguna causa.

El mínimo de eritrocitos corresponde al corderito número 13, de tres días de edad, con 9.700.000 glóbulos rojos.

Los valores más frecuentes están entre 10 y 12 millones, siendo la mediana de todos los valores 11.300.000 que se aproxima precisamente al valor medio encontrado, que fué de 11.000.000 de corpúsculos rojos.

APARATO DESTINADO AL CULTIVO DE PARÁSITOS Y HUEVOS DE HELMINTOS EN ATMOSFERA HUMEDA — (ORIGINAL)



A, Depósito de agua. — B, Campana — C, Frasco donde el aire se carga de humedad — D, Termómetros — E, Caja de Petri conteniendo los "crotins".

En estos animales, el valor máximo de la hemoglobina corresponde al ovino número 14 con 97 %, escala de Hellige y 76 de Sahli y el mínimo del cordero número 2 con 65 y 52, respectivamente. La mediana de hemoglobina sacada de todos los valores es de 83'3 Hellige, oscilando el mayor número entre 80 y 90 de la misma escala. En cuanto a los leucocitos, los resultados, como puede verse, varían mucho, encontrándose valores entre 3.900 y 13.000 por milímetro cúbico, por lo cual, aún cuando estos valores coinciden con los encontrados por otros autores, no hacemos caudal de ello por el momento.

Valores de los animales parasitados. — El lote destinado al estudio hematológico de los animales parasitados ascendió a 40 ovinos. Se trata de animales enfermos, presentando los síntomas clínicos de la enfermedad. En éstos los glóbulos rojos habían descendido, en diversos grados, presentando el mínimo de eritrocitos el ovino número 74 con 2.271.000 glóbulos por milímetro cúbico.

La hemoglobina también se encontró sensiblemente disminuída siendo el mínimo registrado, en el ovino 74 mencionado más arriba, con 20 % escala de Hellige y 17 de Sahli.

Los Leucocitos en estos animales frente a los normales no presentan variantes dignas de tenerse en cuenta.

Relación entre los valores de los elementos sanguíneos y el grado de parasitismo. — Con el propósito de relacionar la evolución del parasitismo con los valores de los elementos sanguíneos, se les hizo el análisis, de las materias fecales y de la sangre, contemporáneamente, a un grupo de 16 animales, estableciéndose el grado del parasitismo por el número de huevos, por gramo de materia fecal, utilizando el método de Brumpt modificado por nosotros, y a los 5 ½ a 7 meses después se les repitió ambos análisis, comprobándose que a la disminución del parasitismo (notable en algunos de ellos) siguió el aumento de los eritrocitos y correlativamente también de la cantidad de hemoglobina. Al lado de ésto, el estado general y de nutrición mejoró gradualmente.

Estos ovinos, como la totalidad de los usados en nuestras experiencias, están sometidos a un régimen adecuado de buena alimentacción (alfalfa) agua corriente y relativo abrigo. En tales condiciones, se han ido deshelmintisando espontáneamente, algunos en el momento actual en forma casi total.

CUADRO DEMOSTRATIVO DE LA MARCHA EVOLUTIVA DE HAEMONCHUS CONTORTUS Y OSTERTAGIAS DENTRO DEL CROTIN DE MATERIA FECAL, COLOCADOS EN LA CAMPANA CON RENOVACION DE AIRE HUMEDO

Orden de las observaciones	Animales — Número de orden	Fecha de la exerción y colocación de la materia en la campana	Fecha de las observaciones	Mórulas gruesas	Mórulas finas	Plánulas	Huevos con embrión formado	Larvas móviles	OBSERVACIONES
1.ª Observación	75	Junio 15 1933	Junio 16 1933	4	9	2	—	—	
	13	» 15 1933	» 16 1933	2	5	1	—	5	
	68	» 15 1933	» 16 1933	1	19	2	—	—	
2.ª Observación	75	Junio 15 1933	Junio 17 1933	3	17	—	3	2	Con el presente cuadro no se quiere demostrar la marcha evolutiva de determinado verme; sino de algunos vermes dentro del crotín. Las observaciones posteriores no se incluyen porque ya no se encuentran sino larvas y algún huevo alterado que no progresa más.
	13	» 15 1933	» 17 1933	—	1	2	1	16	
	68	» 15 1933	» 17 1933	—	1	1	9	—	
3.ª Observación	75	Junio 15 1933	Junio 20 1933	—	—	3	4	8	
	13	» 15 1933	» 20 1933	—	—	—	—	37	
	68	» 15 1933	» 20 1933	—	1	—	14	1	
4.ª Observación	75	Junio 15 1933	Junio 22 1933	—	1 alterada	—	—	25	
	13	» 15 1933	» 22 1933	—	—	—	—	35	
	68	» 15 1933	» 22 1933	—	1 alterada	—	4	8	
5.ª Observación	75	Junio 15 1933	Junio 23 1933	—	—	—	3	10	
	13	» 15 1933	» 23 1933	—	—	—	—	16	
	68	» 15 1933	» 23 1933	—	—	—	8	8	
6.ª Observación	75	Junio 15 1933	Junio 24 1933	—	—	—	2	11	
	13	» 15 1933	» 24 1933	—	1 alterada	—	1	11	
	68	» 15 1933	» 24 1933	—	3 »	—	—	12	

CUADRO DEMOSTRATIVO DE LA MARCHA EVOLUTIVA DE HAEMONCHUS CONTORTUS Y OSTERTAGIAS DENTRO DE LOS CROTINS DE MATERIA FECAL, COLOCADOS EN LA CAMPANA CON RENOVACION DE AIRE HUMEDO

(Continuación)

Orden de las observaciones	Animales — Número de orden	Fecha de la excreción y colocación de la materia en la campana	Fecha de las observaciones	Mórulas gruesas	Mórulas finas	Plánulas	Huevos con embrión formado	Larvas móviles	OBSERVACIONES
7.ª Observación	45	Junio 15 1933	Junio 28 1933	—	1 alterada	—	—	16	
	13	» 15 1933	» 28 1933	—	2 »	—	1	9	
	68	» 15 1933	» 28 1933	—	1 »	—	3	14	
8.ª Observación	75	Junio 15 1933	Julio 6 1933	—	—	—	—	13	
	13	» 15 1933	» 6 1933	—	—	—	—	10	
	68	» 15 1933	» 6 1933	—	1 alterada	—	—	9	
9.ª Observación	75	Junio 15 1933	Julio 12 1933	—	—	—	—	22	
	13	» 15 1933		—	—	—	—	11	
	68	» 15 1933		—	—	—	—	14	

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION DE HUEVOS DE HELMINTOS, EN LA MATERIA FECAL Y EN LA RUMIA, SIMULTANEAMENTE

Animales N.º de orden	FECHAS DE LAS OBSERVACIONES	Huevos por gramo de materia fecal, obtenidos por el método de Brumpt modificado	EXAMEN DE LA RUMIA		
			Métodos	Número de observaciones	Resultado en cuanto a huevos de vermes intestinales
63	Junio 8 de 1933	637	Directo	2	Negativo
63	» 8 » 1933	—	Telemann	1	»
63	» 8 » 1933	—	Fülleborn	1	»
75	» 9 » 1933	702	Directo	2	»
75	» 9 » 1933	—	Carles Barthelemy	1	»
75	» 9 » 1933	—	Fülleborn	1	»
63	» 9 » 1933	680	Directo	2	»
63	» 9 » 1933	—	Fülleborn	1	»
63	» 9 » 1933	—	Telemann	1	»
13	» 12 » 1933	320	Directo	3	»
13	» 12 » 1933	—	Carles Barthelemy	1	»
84	» 13 » 1933	122	Directo	3	»
84	» 13 » 1933	—	Fülleborn	1	»
84	» 13 » 1933	—	Telemann	1	»
68	» 14 » 1933	289	Directo	3	»
68	» 14 » 1933	—	Fülleborn	1	»
63	» 14 » 1933	620	Telemann	1	»
63	» 14 » 1933	—	Directo	2	»
63	» 14 » 1933	—	Fülleborn	1	»
84	» 15 » 1933	126	Directo (se hace además un cultivo)	2	»
126	Agost. 31 » 1933	700	Directo y Fülleborn	2—1	»

HEMATOLOGIA: ALGUNOS VALORES DE ANIMALES CONSIDERADOS NORMALES

Animales — N.° de orden	FECHAS DE LOS ANALISIS	Razas	Edad	Sexo	Leucocitos	Eritrocitos	HEMOGLOBINA %	
							Hellige	Sahli
1	Junio 10 de 1932 ..	Mestizo	8 meses	Macho	4.800	11.780.000	76 %	62 %
2	» 16 » 1932 ..	»	8 »	»	5.200	11.240.000	65 »	52 »
3	» 8 » 1932 ..	»	8 »	»	10.500	10.470.000	72 »	58 »
4	» 11 » 1932 ..	»	8 »	»	8.200	9.880.000	69 »	56 »
5	Julio 7 » 1932 ..	»	8 »	»	8.000	10.000.000	70 »	57 »
6	» 9 » 1932 ..	»	3 años	Hembra	5.800	11.200.000	75 »	61 »
7	» 8 » 1932 ..	»	3 »	»	8.400	10.100.000	75 »	61 »
8	» 13 » 1932 ..	»	3 »	»	6.000	11.890.000	87 »	70 »
9	» 12 » 1932 ..	»	4 »	Macho	4.500	10.940.000	83 »	67 »
10	» 19 » 1932 ..	»	4 »	Hembra	7.400	10.450.000	83 »	67 »
11	» 20 » 1932 ..	»	4 »	»	4.100	12.370.000	84 »	68 »
12	» 21 » 1932 ..	»	4 »	»	6.100	10.800.000	81 »	65 »
13	Agosto 12 » 1932 ..	»	3 días	»	9.500	9.790.000	78 »	63 »
14	Octubre 4 » 1932 ..	»	1½ meses	Macho	5.200	14.000.000	97 »	78 »
23	Noviembre 17 » 1932 ..	Mestizo L.	5 meses	Hembra	7.200	10.800.000	95 »	76 »
24	» 17 » 1932 ..	» »	5 »	»	6.200	12.030.000	93 »	74 »
25	» 18 » 1932 ..	» »	5 »	Macho	5.800	13.210.000	77 »	62 »
26	[illegible] 18 » 1932 ..	Mestizo	5 »	»	4.800	11.070.000	82 »	66 »
27	» 21 » 1932 ..	Mestizo L.	5 »	»	4.700	10.330.000	82 »	66 »
28	» 21 » 1932 ..	» »	5 »	Hembra	8.100	10.140.000	72 »	58 »
31	» 26 » 1932 ..	» »	5 »	»	9.000	11.920.000	91 »	74 »
32	» 28 » 1932 ..	» »	5 »	»	9.700	10.150.000	91 »	74 »
35	» 29 » 1932 ..	» »	5 »	»	10.300	10.410.000	94 »	75 »
36	» 28 » 1932 ..	» »	5 »	»	9.700	10.150.000	80 »	65 »

HEMATOLOGIA: ALGUNOS VALORES DE ANIMALES CONSIDERADOS NORMALES (Continuación)

Animales — N.º de orden	FECHAS DE LOS ANALISIS	Razas	Edad	Sexo	Leucocitos	Eritrocitos	HEMOGLOBINA %	
							Helligo	Sahli
37	Noviembre 28 de 1932 ..	Mestizo L.	5 meses	Macho	6.800	13.020.000	92 %	70 %
38	» 28 » 1932 ..	» »	5 »	»	9.900	10.810.000	80 »	65 »
39	Diciembre 5 » 1932 ..	» »	5 »	»	9.200	12.530.000	94 »	73 »
40	» 1.º » 1932 ..	» »	5 »	»	10.100	11.280.000	91 »	70 »
41	» 21 » 1932 ..	» »	5 »	Hembra	9.600	13.050.000	94 »	73 »
42	» 15 » 1932 ..	» »	5 »	»	11.200	12.800.000	96 »	76 »
44	» 5 » 1932 ..	» »	5 »	Macho	8.000	10.940.000	80 »	65 »
51	» 14 » 1932 ..	» »	5 »	Hembra	13.000	11.370.000	91 »	73 »
52	» 14 » 1932 ..	» »	5 »	»	5.200	11.990.000	89 »	72 »
53	» 15 » 1932 ..	» »	5 »	»	9.500	12.450.000	86 »	68 »

HEMATOLOGIA: ALGUNOS VALORES DE ANIMALES PARASITADOS

Animales — N.º de orden	FECHA DE LOS ANALISIS	Grado de infestación. Número de huevos por gramo de materias fecales	Edad	Sexo	Raza	Leucocitos por m³	Eritrocitos por m³	Hemoglobina %	
								Hellige	Sahli
54	Enero 9 de 1933..	—	6 meses	Macho	Mestizo c/r.	8.700	4:680.000	43	35
55	» 9 » 1933..	687	6 »	»	» »	4.800	6:290.000	58	47
56	» 26 » 1933..	—	6 »	»	» »	6.600	5:020.000	42	34
57	» 13 » 1933..	—	6 »	Hembra	» »	6.600	5:360.000	49	40
58	» 20 » 1933..	760	6 »	»	» »	7.600	4:440.000	28	22
59	» 23 » 1933..	532	6 »	»	» »	8.700	7:050.000	68	55
60	» 12 » 1933..	580	6 »	»	» »	8.400	7:120.000	54	43
61	» 23 » 1933..	640	6 »	»	» »	5.500	6:940.000	43	35
62	» 13 » 1933..	—	6 »	»	» »	8.300	5:330.000	50	40
63	» 11 » 1933..	808	6 »	Macho	» »	7.500	5:690.000	48	31
64	» 9 » 1933..	980	6 »	»	» »	6.200	5:270.000	64	52
65	» 9 » 1933..	—	6 »	Hembra	» »	7.600	9:070.000	63	51
67	» 12 » 1933..	—	6 »	Macho	» »	8.900	5:530.000	50	40
68	» 12 » 1933..	462	6 »	»	» »	7.000	9:710.000	61	49
69	» 14 » 1933..	720	6 »	»	» »	5.500	6:690.000	52	42
70	» 14 » 1933..	1.550	6 »	»	» »	5.700	4:950.000	41	33
71	» 21 » 1933..	—	6 »	Hembra	» »	4.800	6:220.000	52	42
72	» 25 » 1933..	—	6 »	»	» »	8.300	3:420.000	31	25
73	» 20 » 1933..	—	6 »	»	» »	7.500	6:040.000	55	44
74	» 19 » 1933..	—	6 »	»	» »	8.900	2:271.000	21	17
75	» 22 » 1933..	1.158	6 »	»	» »	4.600	5:120.000	39	31
76	Febrero 9 » 1933..	—	7 »	»	» c/l.	8.600	9:710.000	70	56
77	» 9 » 1933..	—	7 »	»	» »	8.100	8:560.000	86	66
78	» 11 » 1933..	630	7 »	Macho	» »	5.900	5:630.000	66	53

HEMATOLOGIA: ALGUNOS VALORES DE ANIMALES PARASITADOS (Continuación)

Animales — N.º de orden	FECHA DE LOS ANALISIS	Grado de infestación. Número de huevos por gramo de materias fecales	Edad	Sexo	Raza	Leucocitos por m³	Eritrocitos por m³	Hemoglobina %	
								Hellige	Sahli
79	Febrero 11 de 1933..	680	7 meses	Hembra	Mestizo c/l	6.700	8:840.000	64	52
80	» 13 » 1933..	460	7 »	»	» »	7.800	7:650.000	7[illegible]	62
81	» 13 » 1933..	780	7 »	»	» »	7.500	7:800.000	[illegible]	52
82	» 13 » 1933..	—	7 »	»	» »	8.000	4:170.000	35	28
83	» 14 » 1933..	384	7 »	»	» »	5.800	8:100.000	58	46
84	» 14 » 1933..	140	7 »	»	» »	8.400	10:200.000	72	58
85	» 14 » 1933..	—	7 »	»	» »	7.800	4:210.000	38	29
86	» 14 » 1933..	320	7 »	»	» »	10.600	9:190.000	82	66
87	» 15 » 1933..	68	7 »	»	» »	7.100	9:350.000	65	52
88	» 15 » 1933..	—	7 »	»	» »	6.700	5:090.000	47	37
89	» 16 » 1933..	530	7 »	»	» c/m.	7.000	9:200.000	68	55
90	» 16 » 1933..	410	7 »	Macho	» »	6.800	9:190.000	57	46
91	» 16 » 1933..	—	7 »	Hembra	» c/l.	7.300	10:530.000	71	56
92	» 17 » 1933..	—	7 »	»	» c/m.	3.500	8:770.000	52	41
93	» 18 » 1933..	—	7 »	»	» »	9.900	9:490.000	65	52
94	» 18 » 1933..	1.100	7 »	»	» c/l.	7.100	4:180.000	41	31

CUADRO COMPARATIVO DE LA MARCHA DE ALGUNOS VALORES DE LA SANGRE, RELACIONADOS CON EL GRADO DE PARASITISMO

PRIMEROS ANALISIS							ANALISIS POSTERIORES					
N.º de orden del animal	Fechas de los análisis	Grado de infestación. Número de huevos por gramo de materias fecales	Valores de los elementos de la sangre				Fechas de los Análisis	Grado de infestación. Número de huevos por gramo de materias fecales	Valores de los elementos de la sangre			
			Leucocitos m³	Eritrocitos × m³	Hemoglobina				Leucocitos	Eritrocitos	Hemoglobina	
					Heliige	Sahli					Heliige	Sahli
55	I - 9 - 1933	687	4.800	6:290.000	58 %	47 %	Después de 7 meses IX - 4 - 1933	355	5.800	10:180.000	84 %	68 %
61	I - 23 - 1933	640	5.500	6:940.000	43 »	35 »	6 ½ meses después VIII - 2 - 1933 ...	220	8.100	9:650.000	72 »	58 »
63	I - 11 - 1933	808	7.500	5:690.000	48 »	38 »	6 ½ meses después VII - 31 - 1933 ...	151	9.500	9:150.000	64 »	50 »
68	I - 12 - 1933	562	7.000	8:710.000	61 »	49 »	7 ½ meses después IX - 1.º - 1933 ...	160	9.300	10:080.000	74 »	59 »
75	III - 22 - 1933	1.158	4.600	5:120.000	39 »	31 »	4 ½ meses después VIII - 3 - 1933 ...	176	6.500	8:730.000	60 »	48 »
78	II - 11 - 1933	630	5.900	5:630.000	66 »	53 »	6 ½ meses después IX - 1.º - 1933 ...	160	6.900	11:860.000	76 »	61 »
79	II - 11 - 1933	680	6.700	8:840.000	64 »	52 »	5 ½ meses después VIII - 1.º - 1933 ..	572	6.900	9:030.000	66 »	53 »
80	II - 13 - 1933	460	7.800	7:650.000	79 »	62 »	5 ½ meses después VIII - 1.º - 1933 ..	134	8.100	9:010.000	79 »	62 »
81	II - 13 - 1933	780	7.500	7:800.000	64 »	52 »	5 ½ meses después VIII - 2 - 1933 ...	115	8.500	11:350.000	82 »	66 »
83	II - 14 - 1933	384	5.800	8:100.000	58 »	46 »	5 ½ meses después VII - 31 - 1933 ...	217	6.500	9:690.000	68 »	55 »
84	II - 14 - 1933	140	8.400	10:200.000	72 »	58 »	5 ½ meses después VIII - 2 - 1933 ...	000	8.000	11:300.000	72 »	58 »
86	II - 14 - 1933	320	10.600	9:190.000	82 »	66 »	6 ½ meses después IX - 4 - 1933	260	9.000	10:080.000	82 »	66 »
87	II - 15 - 1933	68	7.100	9:350.000	65 »	52 »	5 ½ meses después VIII - 3 - 1933 ...	24	9.000	10:060.000	69 »	56 »
89	II - 16 - 1933	530	7.000	9:200.000	68 »	55 »	5 ½ meses después VIII - 1.º - 1933 ..	484	6.800	9:280.000	69 »	56 »
90	II - 16 - 1933	410	6.800	9:190.000	57 »	46 »	5 ½ meses después VIII - 2 - 1933 ...	198	6.400	9:990.000	68 »	55 »
94	I - 18 - 1933	1.100	7.100	4:180.000	41 »	32 »	6 ½ meses después VIII - 1.º - 1933 ..	300	10.800	11:000.000	68 »	55 »

VACUNA Y VACUNACIONES CONTRA LA TIFOSIS Y COLERA AVIARIOS

(CON LA COLABORACION DE LOS DRES. A. TORTORELLA Y M. ESPANTOSO)
Publicado en el Boletín de Policía Sanitaria Animal · Año XIX · N.° 3 · 1935

TIFOSIS AVIARIA

Desde el principio de la instalación del Laboratorio de Investigaciones de la Policía Sanitaria de los Animales, uno de los problemas que mereció interés, fué el estudio de las enfermedades de las aves, de los puntos de vista del diagnóstico preciso y de la profilaxis.

Los análisis realizados, probaron acabadamente que las enfermedades más generalmente responsables de la mortandad de las aves de corral, son la Tifosis y el Cólera aviarios, predominando marcadamente las formas de Tifosis. Por tales razones, pues, tratamos de preparar vacunas para combatir ambas enfermedades.

Para la Tifosis aviaria, seguimos la técnica general de Wright, de vacunas muertas, análogas a las utilizadas para la preparación de las vacunas contra la tifoide y paratifoide humanas. Usamos por lo menos seis cepas de Bacterium gallinarum aisladas de establecimientos de distintas zonas del país. Además, en ciertos casos, incorporamos a la vacuna la misma cepa aislada del establecimiento a que está destinada la vacuna.

Nuestra vacuna tiene una concentración microbiana de 450 millones de gérmenes por c.c., muertos por una hora de calentamiento a 60°, y luego el agregado de ácido fénico en proporción del 0.5 %, para asegurar su conservación.

Al principio recomendamos tres inyecciones por vía subcutánea, en la región del pecho, con intervalos de 10 días: la primera de ½ c.c., las segunda y tercera de 1 c.c. cada una; pero dadas las dificultades para aplicar tres inyecciones, sobre todo en campaña donde las gallinas frecuentemente se encuentran sueltas, generalmente quedan reducidas a dos inyecciones: la primera de ½ c.c. y la segunda de 1 c.c., en total, unos 675 millones de gérmenes. Para los pavos recomendamos dosis dobles.

En tales condiciones, la vacuna se muestra sin peligro alguno, pudiendo ser aplicadas sin inconveniente en los momentos epizoóticos.

A los pocos días de la primera inyección, la mortandad cesa o disminuye, para desaparecer totalmente después de la segunda inyección.

Algunos casos de muerte que siguen a la primera vacuna, deben atribuirse a animales ya infectados.

A continuación, hacemos un breve resumen de los resultados obtenidos.

REFERENCIAS ACERCA DE LOS RESULTADOS DE LA APLICACION DE LA VACUNA CONTRA LA TIFOSIS AVIARIA

Departamento de Canelones

Establecimiento: Del señor A. G.
Ubicación: Primera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias sobre la enfermedad: Diarrea amarilla, alas caídas y profunda somnolencia.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 70 aves.
Resultado: Declaración escrita del señor A. G. a la Inspección Veterinaria de Canelones: "Aplicada la primera vacuna, murió una sola ave; suministrada la segunda, desapareció la peste. Esto fué en Abril del año pasado. Desde aquella fecha hasta el presente, el estado sanitario de mis aves es completamente satisfactorio". (Octubre 30 de 1934).

Establecimiento: Del señor E. I.
Ubicación: Cuarta sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias sobre la enfermedad: Diarrea, plumas erizadas y permanecen 2 a 3 días enfermas antes de morir.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 78 aves.
Resultados: Párrafos de una carta del Sr. E. I. a la Inspección Veterinaria de Canelones: "La vacunación me ha dado los mejores resultados y durante todo el tiempo ya transcurrido, (Febrero del año pasado a la fecha), no han enfermado más aves". (27-X-934).
Establecimiento: Del señor P. D.
Ubicación: Primera sección, Paso de la Cadena.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 130 aves.
Resultados: Carta del señor P. D. "A mi criterio la vacuna que usted emplea del Laboratorio de la Policía Sanitaria de los Ani-

males, da buen resultado, pues desde que vacuné en el mes de Enero, paró la mortandad". (Octubre de 1934).

Establecimiento: Del señor C. B.
Ubicación: Primera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Tristeza, somnolencia, diarrea gris-verdosa.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 71 aves.
Resultado: Carta del señor C. B. al doctor Badano: "Habiéndome usted vacunado mis gallinas con fecha 2 y 12 de Febrero en número de 71, cortóse la enfermedad por completo. Ahora desearía volver a vacunar teniendo entre gallinas y pollos 250 aves. (26-X-1934).

Establecimiento: Del señor M. M.
Ubicación: Primera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Tristeza, diarrea, plumas erizadas y muerte en uno, dos o tres días; algunas el mismo día que se enferman mueren.
Aplicación de la vacuna: 19 aves.
Resultados: Según carta: "Después de la vacunación que usted efectuó en mis gallinas, no han aparecido más síntomas de peste". (Octubre 26 de 1934).

Establecimiento: Del señor J. P.
Ubicación: San Ramón.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Diarrea, tristeza y muerte rápida.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: En número de. . .
Resultado: Transcripción de unos párrafos de la carta del señor J. J. P. al doctor Gaggero: "Me ha dado óptimo resultado, ya que después de aplicar murió sólo un pollo y, lo más notable es que el resto de las aves a las que se siguió alimentando en igual forma, cambiaron completamente de aspecto, poniéndose muy lindas". (Junio 19 de 1934).

Establecimiento: P. M.
Ubicación: Séptima sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Diarrea verdosa, plumas erizadas, no comen y mueren en cantidad.

Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: Número de aves. . .
Resultado: Comunica el doctor Gaggero que los resultados fueron excelentes, habiendo cesado la mortandad. (Junio 19-934).

Establecimiento: De los señores P. y S.
Ubicación: Tercera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Antes de morir se encuentran tristes, con diarrea y las alas caídas.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 150 aves.
Resultados: Dice el doctor Badano: "Estamos en condiciones de asegurar, por repetidas manifestaciones del interesado y miembros de su familia, que luego de la segunda vacunación, paró totalmente la mortandad de aves". (Octubre 31 de 1934).

Establecimiento: De los señores S. B.
Ubicación: Primera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad:

Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 150 aves.
Resultados: "Se vacunó y paró la mortandad por completo". (Doctor Badano). (31-X-934).

Establecimiento: Del señor G. E.
Ubicación: Primera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Síntomas de Tifosis.
Diagnóstico del Laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 197 aves.
Resultados: Recabó informes el doctor Badano, de que cesó la mortandad después de la segunda vacunación.

Establecimiento: Del señor C. C.
Ubicación: Primera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Diarrea, erizamiento de las plumas, somnolencia.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 257 aves.
Resultados: Según informes de la Inspección Veterinaria de Canelones, después de la primera vacuna, murió sólo un ave; luego de la segunda, no murieron más. (31-X-934).

Establecimiento: Del señor V. de S.
Ubicación: Tercera sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Síntomas de Tifosis.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 118 aves.
Resultados: Informe del doctor Badano. "Después de la primera vacuna murieron al decir de los dueños, 7 aves: 3 que en momentos de la vacunación estaban muy afectadas y que el suscripto anticipó que no salvarían; 1 gallo, que fué vacunado y no mostraba señales de enfermedad y 3 gallinas sobre las que no tenemos seguridad de haber vacunado, pues al practicar la vacunación volaron del gallinero 6 a 8 gallinas. Después de la segunda vacunación, murió otro gallo, noticiándonos hoy que las aves tienen ya mejor aspecto y que no murieron más". (31-X-934).

Departamento de Cerro Largo

Establecimiento: Del señor J. L. y L.
Ubicación: Sexta sección, Zapallar.
Especies de aves afectadas: Gallinas y pavos.
Referencias de la enfermedad: Tristeza, diarrea, erizamiento de las plumas, inapetencia.
Aplicación de la vacuna: Alrededor de 400 aves.
Resultados: Textualmente de una carta del señor J. L. y L.: "Después de la primera vacuna murieron algunas aves; pero a partir de la segunda, no murieron más, tan es así, que a un lote de pavos evité de darle la tercera vacuna. El resultado pues no puede ser más halagador". (Marzo 28-934).

Departamento de Treinta y Tres

Establecimiento: Del señor A. A.
Ubicación: Sección... Corrales.
Especies de aves afectadas: Gallinas y pavos.
Referencias de la enfermedad: Que mueren después de estar tristes y con diarrea.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: Alrededor de 200 aves.
Resultado: No se han podido recabar aún.

Establecimiento: Del señor A. V.
Ubicación: Sección...
Referencias de la enfermedad: Sin datos.
Aplicación de la vacuna: Ciento y tantas.

Resultado: El señor V. dice: "Cuando vacuné las aves estaban muriendo y continuó durante los primeros días, cuando le dí la segunda vacuna, ya no morían; lo mismo después de la tercera. A los 6 a 7 meses de vacunadas noté aves enfermas y se murieron varias". (Octubre 30 de 1934).

Departamento de Salto

Establecimiento: Del doctor E. G. M.
Ubicación: Ciudad de Salto.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Diarrea, anorexia, tristeza, plumas erizadas.
Aplicación de la vacuna: 50 aves.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Resultados: Dice el doctor G. M.: "Antes de la primera vacunación habían muerto 4 gallinas; a los 6 días de la primera vacuna y después de cuatro días de la segunda vacunación murió otra, y la última murió dos días después de la tercera vacunación, no muriendo más hasta la fecha". (Octubre 23-934).

Departamento de Río Negro

Establecimiento: Del señor E. G.
Ubicación: Paso de los Mellizos.
Referencias de la enfermedad: Mueren después de estar tristes y con diarrea.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 54 aves.
Resultados: Al vacunar, 3 estaban enfermas de dos a tres días; una de las enfermas murió a los 5 días; todas las demás están bien. (Agosto 29-934).

Departamento de Colonia

Establecimiento: Del señor A. C.
Ubicación: Rosario Oriental.
Especies de aves afectadas: Gallinas y pavos.
Referencias de la enfermedad: Que se sucedía una gran mortandad.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: 180 gallinas y un gran número de pavos.
Resultado: Según el doctor Alvaro Paiva Olivera: "El resultado de la vacuna fué eficacísima. Cuando inoculé la primera vacuna

murieron 3 gallinas; después de la segunda y tercera inoculación no se registró ninguna muerte y todo marcha en este momento bien". (23-X-934).

Departamento de Florida

Establecimiento: Del señor H. P. U.
Ubicación: Sección...
Especie de aves afectadas: Gallinas.
Referencias de la enfermedad: Triste y con diarrea.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: Alrededor de 80 a 100 aves.
Resultado: Informe del Dr. Berninzoni: "Que se ha obtenido excelente resultado". (20-X-934).

Establecimiento: Sociedad V. U.
Ubicación: La Cruz.
Especie de aves afectadas: Gallinas.
Referencia de la enfermedad:...
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: Alrededor de 100 aves.
Resultado: "No se produjeron pérdidas posteriores a las inoculaciones, notándose solamente una pequeña reacción en los animales inyectados, expresada por síntomas de tristeza e inapetencia, pero que desaparecen en breve término". (Dr. Berninzoni). (20-X-934).

Establecimiento: Del señor F. N.
Ubicación: Vecino de la Ciudad de Florida.
Especie de aves afectadas: Gallinas.
Referencia de la enfermedad: Con síntomas de tifosis.
Diagnóstico del laboratorio: Tifosis.
Aplicación de la vacuna: De 80 a 100 aves.
Resultado: Dr. Berninzoni: "Que invariablemente se ha obtenido excelente resultado con su aplicación". (20-X-934).

VACUNA CONTRA EL COLERA AVIARIO

La preparación de vacunas contra el cólera aviario, ofrece algunas dificultades. La vacuna Pasteuriana a virus vivo atenuado, sería el ideal; pero en general no ha dado resultados en la práctica, y su uso se halla casi abandonado. Los motivos principales residen en que es difícil ajustar un grado de virulencia adecuado que resulte eficaz y, no peligroso para las aves. Por otra parte, los cultivos de Pasteurelas son pocos fijos en su virulencia. Además, la aplicación de vacunas vivas pueden producir infecciones prolongadas que, a

la par que dificultan el establecimiento de un buen grado de inmunidad, producen el enflaquecimiento y mismo la muerte de las aves. Por tales razones, ha sido necesario recurrir a la inmunización pasiva y al uso de vacunas muertas especiales. (En esta comunicación nos ocuparemos solamente del uso de vacunas a virus muertos). A este respecto la Pasteurela muerta también tiene un comportamiento especial. Mientras es relativamente fácil obtener una buena inmunidad para la Tifosis Aviaria con Bacterium Gallinarum muerto, así como con la mayoría de los gérmenes del grupo Colitífico para las respectivas enfermedades, la Pasteurela muerta se comporta en general como un malo o mediocre antígeno, siendo necesario recurrir a técnicas especiales, para obtener resultados apreciables. Los mejores resultados hasta la fecha, parece han sido obtenidos con el uso de agresinas, de las cuales hay dos tipos: las agresinas naturales, conocidas por los trabajos de Bail, y las agresinas artificiales, obtenidas por diferentes procedimientos fundados principalmente en los trabajos de Wassermann y Citron. Nuestra vacuna está preparada con una mezcla de agresina natural obtenida por inoculación de Pasteurela en el peritoneo de cobayo, y de agresina artificial. Los gérmenes son muertos por el calor a 56°, durante una hora. La dosificación de esta vacuna en cuanto a número de gérmenes, es difícil, porque varía según la agresina obtenida de cada animal. La recomendamos en las siguientes condiciones:

Dos inyecciones por vía subcutánea, la 1.ª de 1/2 c.c., la 2.ª de 1 c.c., con intervalo, una de otra, de 8 a 12 días.

VACUNA CONTRA EL COLERA AVIARIO

Departamento de Montevideo

Establecimiento: Del señor P. B.
Ubicación: 11.ª sección.
Especie de aves afectadas: Gallinas, patos y pavos.
Referencias de la enfermedad: Algunas mueren después de una convulsión sin previo síntoma alguno; otras después de uno a dos días, teniendo diarrea verde, están aisladas y muy tristes.
Dignóstico del laboratorio: Cólera.
Aplicación de la vacuna: 60 aves.
Resultado: Manifiesta el Sr. B. haber parado por completo la mortandad después de la primera vacunación. (Marzo 28/934).

Establecimiento: Del Sr. L.
Ubicado: Sección .....
Especies de aves afectadas: Gallinas.

Referencias de la enfermedad: Mueren según el Dr. Sciandro con síntomas de cólera.
Dignóstico del laboratorio: Cólera.
Aplicación de la vacuna: Alrededor de 50 aves.
Resultados: Según el Dr. Sciandro, óptimos.

Departamento de Canelones

Establecimiento: De los Sres. S. y B.
Ubicado: 3.ª Sección.
Especies de aves afectadas: Gallinas.
Referencia de la enfermedad: Muerte rápida.
Dignóstico del laboratorio: Cólera.
Aplicación de la vacuna: Alrededor de 150 aves.
Resultados: Dr. Badano: muy bueno. (31-X 34).

EN RESUMEN

1.º Ateniéndonos a los materiales de aves remitidas al Laboratorio de Investigaciones, la Tifosis y el Cólera Aviarios son las enfermedades infecciosas más comunes en las aves domésticas de nuestro país, y las que causan mayores mortalidades, predominando francamente la primera.

2.º En la profilaxis de la Tifosis Aviaria, se ha mostrado muy eficaz una vacuna preparada con varias cepas de Bacterium gallinarum muertos por el calor, inyectada por vía hipodérmica en dos inoculaciones con intervalo de 10 días, y en que la 1.ª de las vacunas lleva 225 millones de gérmenes y la 2.ª, 450 millones.

3.º Una vacuna preparada con mezcla de agresinas naturales y artificiales, ha dado muy buenos resultados en la profilaxis del Cólera Aviario.

EL ABORTO EPIZOOTICO O ENFERMEDAD DE BANG DEL GANADO

(Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería. Año XIX, N.º 10, 1935)

Resumen de la conferencia pronunciada en el Ateneo del Departamento de Paysandú, el 11 de Noviembre de 1935, bajo los auspicios de la Sociedad Rural del Departamento.

MOTIVOS DE LA DISERTACION

Esta disertación obedece al plan de la Dirección de la Policía Sanitaria de los Animales, de difundir en el medio rural los conocimientos más útiles sobre las enfermedades que afectan a nuestros ganados, a fin de obtener una más amplia colaboración de los ganaderos, en la lucha contra aquellas.

El tema elegido, para hoy, fué el del Aborto Epizoótico, por dos motivos: primero porque los ganaderos de la zona han demostrado interés por él y segundo porque en realidad es un tema nacional, por la difusión que esa enfermedad ha adquirido en el país, por los perjuicios que causa y la perentoria necesidad de oponerle una barrera a su extensión o por lo menos aminorar las pérdidas que su permanencia produce.

Dado el fin que se persigue, será más bien una simple disertación que una conferencia y en el curso de ella trataré de usar un lenguaje sencillo, aminorando los términos técnicos, pero de todos modos me pongo a las órdenes de Udes. para aclarar cualquier punto que deseen y que esté a mi alcance.

¿QUE ES EL ABORTO EPIZOOTICO?

El Aborto en las hembras de nuestros animales domésticos puede ser provocado por muchas causas. En general se debe a infecciones por microbios que producen alteraciones graves en los órganos en que se desarrolla el feto, útero y membranas en que está envuelto el feto. Así la Fiebre Aftosa cuando toma un carácter grave puede provocar numerosos abortos.

También pueden ser provocados por infecciones anteriores; por ejemplo, el caso de una vaca o de otro animal que después de un parto no ha expulsado bien las membranas fetales o "par". En

estos animales suele quedar una infección crónica que provocará abortos. El número de animales que abortan por estas causas, dentro de un establecimiento es generalmente muy reducido.

Pero hay otra forma de aborto que se distingue de las que hemos mencionado, por varias circunstancias:

1.º En un ganado aparentemente sano, en que no se observa ningún síntoma de enfermedad, un momento llega, generalmente cuando las vacas han entrado ya en el 5.º mes de preñez, que se empiezan a producir abortos sin causa justificada. — 2.º Estos abortos siguen produciéndose en los meses sucesivos y en aumento. — 3.º Se repite en el mismo rodeo en años sucesivos. — 4.º Cuando se han llevado algunos de estos animales a otros rodeos de vacas, el aborto aparece en estos últimos.

Cuando se hayan producido estos hechos, se puede estar casi seguro que se está en presencia del Aborto Epizoótico, es decir, de una enfermedad que se contagia de un animal a otro provocando un porcentaje elevado de Abortos.

En cuanto a la forma en que se inició en el país, es presumible que el Aborto Epizoótico, haya venido infiltrándose en nuestros rodeos de tiempo atrás, con las importaciones de reproductores bovinos, especialmente de hembras lecheras, habiendo quedado limitada la infección al principio a rodeos de pocos establecimientos, y luego ha ido extendiendo gradualmente por la diseminación de animales infectados.

LA CAUSA DEL ABORTO EPIZOOTICO

La causa del Aborto Epizoótico reside en la presencia de un microbio especial, descubierto en 1897 por el sabio dinamarqués Bang, por eso se le llama también Enfermedad de Bang.

Se trata de un microbio muy pequeño, de forma ovoide, cuyo tamaño en el eje mayor llega apenas de 1 a 2 milésimos de milímetros. Este microbio una vez que entra en el animal, al principio invade todo el organismo, dando lo que se llama una septicemia o infección general, después se anida en algunos órganos, los llamados ganglios linfáticos, en la ubre en las hembras, en los testículos en los machos.

COMO SE REALIZA EL CONTAGIO

Durante mucho tiempo se creyó que el principal factor de contagio lo constituía el toro, el que llevaría por el acto de la monta, los gérmenes de la vaca enferma a la vaca sana.

En estos últimos años los estudios experimentales han demos-

trado acabadamente que la vaca infectada constituye el agente más importante de diseminación de los gérmenes infecciosos y por lo tanto del contagio de la enfermedad.

El material más infectante lo constituye el "Nonato" sobre todo el líquido y las membranas que lo envuelven. Estos materiales son extremadamente ricos en los microbios de la enfermedad y cuando caen infectan las pasturas del campo, el piso de los galpones y corrales, etc. También debemos recordar que las vacas abortadas, continúan durante algunos días, a veces meses, arrojando líquido infectante por la vulva.

Los animales se contagian fácilmente comiendo el pasto infectado. Se ha demostrado también de un modo concluyente, que no es necesario que los animales ingieran el material infectante para adquirir la enfermedad, sino que basta colocar ese material sobre la piel mismo sana.

Así Hardy y sus colaboradores infectaron animales de Laboratorio, cuises, colocando sobre la piel sana virus de la enfermedad; Cotton, Buck y Smith aplicaron cultivos del microbio del Aborto Epizoótico sobre la piel de 20 vacas y vaquillonas en estado de preñez. En cuanto de ellas la zona de la piel donde se aplicó el cultivo fué antes escarificada y en las 16 restantes se dejó intacta. En todos los animales se tomaron las precauciones suficientes para que no absorbieran el virus por la boca. El resultado fué el siguiente: Del primer lote se infectaron cuatro animales y del segundo lote, con la piel intacta se infectaron 10 sobre 16. A este respecto son muy demostrativas las experiencias de los investigadores Bang y Bendixen, presentadas al Congreso de Medicina Comparada de 1931. Ellos probaron que colocando el líquido de los nonatos procedentes de vacas enfermas, sobre la piel de las patas y de la ubre de vacas y vaquillonas sanas, pero preñadas, los animales adquieren la infección.

Estas experiencias tienen mucha importancia porque demuestran la facilidad con que las vacas sanas pueden adquirir la enfermedad cuando se acuestan sobre los pastos o los pisos de los corrales o establos donde se han producido abortos.

La leche de las vacas infectadas contiene muy frecuentemente el microbio de la enfermedad, se puede calcular que en un rodeo enfermo, el 40 o 50 % de las vacas arrojan el virus por la leche. Se podría suponer que los terneros mamones de esas vacas deberían adquirir la infección; pero no es así. Los terneros de pocos meses pueden ingerir con la leche u otros alimentos infectados, gran cantidad de virus sin que adquieran la infección permanente. Los microbios ingeridos se difunden, pasean por el organismo, pero son rápidamente eliminados sin dejar rastro. Esto se debe a que el Aborto Epizoótico ofrece la particularidad que solo ataca a los ani-

males cuando ya tienen sus órganos de reproducción con cierto desarrollo, es decir, cuando han entrado en la pubertad.

Es así que la leche tiene poca importancia para el contagio de la enfermedad entre los animales; pero en cambio veremos que tiene bastante para el contagio del hombre.

El toro también se infecta, como las vacas; pero tiene menos importancia como factor de contagio. Sin embargo se citan casos ciertos en que el contagio de las vacas se debe a la monta por toros infectados y esto se deberá tener en cuenta para precaverse de la enfermedad.

COMO SE DESARROLLA LA INFECCION EN LOS ANIMALES

El microbio del Aborto Epizoótico una vez de haber entrado en el organismo animal, se difunde en él, por medio de la sangre y después se deposita o anida en algunos órganos. El microbio tiene mucha preferencia sobre todo por los órganos de la reproducción: El útero en las vacas preñadas, los testículos en los machos enteros. El anidamiento del microbio en el útero motiva alteraciones en el mismo que son las responsables del aborto.

Pero el microbio del Aborto Epizoótico ofrece aún otras particularidades: una vez instalado en el animal, permanece mucho tiempo. El animal está aparentemente sano, pero está infectado. Cuando la vaca entra en nueva preñez, los microbios se movilizan de sus nidos y van a instalarse nuevamente en el útero, provocando a veces un nuevo aborto.

Así continúa por algunos años, viviendo en comunidad el microbio con el animal, como si existiera un convenio entre ambos sin que ninguno de los dos se resienta de esa vida en común.

PODER DE CONTAGIO DE LA ENFERMEDAD

El Aborto Epizoótico tiene un poder de contagio muy grande. Basta introducir en un rodeo libre de infección un animal que aborte, para que en la próxima parición se noten los resultados. Al principio pueden producirse pocos abortos, pero en la parición siguiente se producirán un mayor número, pudiendo llegar a un 40, 50 o más por ciento. Cuando un animal aborta por primera vez, lo hace en los primeros meses de preñez, generalmente al 5.º o 6.º mes, en los años sucesivos en el mismo animal los abortos se producen más tarde, hasta volver al parto normal.

Resulta así que en un rodeo infectado, el número de abortos después del 2.º año va disminuyendo gradualmente hasta desaparecer casi por completo. Sin embargo frecuentemente quedan al-

gunos animales con una infección crónica del útero que los lleva al aborto continuado. Otros animales por causas análogas se vuelven estériles quedando inútiles para la reproducción.

Para poner de relieve el poder de difusión del Aborto Epizoótico, voy a mencionar un caso que tuvo su origen en un establecimiento ubicado en una zona relativamente próxima a ésta. Se trataba de un establecimiento infectado y los propietarios resolvieron liquidar, no se si una parte o la totalidad del ganado. Sucedió que al año siguiente el Laboratorio de Investigaciones fué consultado por la aparición del Aborto Epizoótico, en tres establecimientos, uno en Durazno, otro en Flores y el otro en Florida; que coincidían en que la enfermedad hizo su aparición después de haber adquirido animales del mismo establecimiento que hemos mencionado.

Debemos agregar, que la velocidad del contagio, el grado de difusión, son mayores en los establecimientos en que hay mayor aglomeración de animales, o que hay estabulación; tales como en los tambos y cabañas. Esto es muy fácil de comprender, porque la aglomeración y estabulación hacen mucho más probable el contacto del animal sano con el material infectante que arrojan los enfermos. Es una ley general para todas las enfermedades infecciosas que se cumple también para el Aborto Epizoótico.

EL ABORTO EPIZOOTICO EN OTRAS ESPECIES ANIMALES

Todo lo que hemos manifestado hasta ahora, se refiere casi exclusivamente al ganado vacuno; pero el Aborto Epizoótico ataca también a otras especies animales: caprinos, ovinos, cerdo, equinos y ocasionalmente a otras especies y al hombre.

Fué en los caprinos que se conoció por primera vez la enfermedad habiendo sido estudiada por el sabio inglés Bruce en la Isla de Malta: por eso a los microbios que la producen se le conocen con el nombre genérico de Brucellas y la enfermedad es denominada a veces Fiebre de Malta.

Las cabras como las vacas no muestran ningún síntoma aparente, solo el aborto que se produce en ciertas circunstancias hasta en un 90 %, denuncia la infección. En los años sucesivos el número de abortos decrece rápidamente.

En los ovinos la enfermedad tiene una marcha análoga a la de las cabras y en las dos especies es producida por un mismo microbio que se diferencia en algo del que produce el aborto en las vacas y sobre todo posee la particularidad importante de ser muy infeccioso para el hombre. Felizmente en el Uruguay no existe la enfermedad en esas especies, pero sí en algunas provincias de la República Argentina y será necesario precaverse contra su invasión.

Los cerdos son también fácilmente atacados, con producción de aborto, aunque en menor número que en las otras especies. El control del aborto ofrece sin embargo algunas dificultades porque las cerdas tienen el hábito de comer a sus nonatos.

Por otra parte parece demostrado que en los cerdos la infección se elimina más rápidamente, quedando libre de ella en pocos meses; contrariamente a lo que pasa en las otras especies, sobre todo en los bovinos, que como lo hemos manifestado, permanecen infectados por varios años.

Al decir que en los cerdos la infección se elimina más rápidamente, nos referimos al animal individualmente y no a la piara o criadero, en la que la enfermedad se continúa por los contagios sucesivos que se producen.

El microbio que produce habitualmente la enfermedad en los cerdos, tiene algunas diferencias con los otros y entre ellos infecta al hombre con más facilidad que la variedad de los vacunos, pero en grado menor que la variedad de las cabras.

Los equinos pueden ser infectados; pero la enfermedad es completamente distinta a la producida en las otras especies. No hay abortos en las hembras y el microbio se localiza superficialmente produciendo supuraciones muy prolongadas, en la nuca, en la cruz, etc.

En los equinos hay también Aborto Epizoótico, pero producido por un microbio completamente distinto de las Brucellas.

LA ENFERMEDAD EN LA ESPECIE HUMANA

El microbio del Aborto Epizoótico de los animales ataca también a la especie humana, hombre o mujer aunque en ciertos casos mucho más frecuente al primero. Es curioso también constatar, que así como en los animales, en el hombre la infección se produce a partir de la edad del desarrollo sexual o pubertad, es así que no existe o por lo menos es excepcional en menores de 10 años.

El hombre toma su infección de las cabras, ovinos o bovinos.

La infección de las cabras y ovinos, es producida por la misma variedad de Brucella y es la más infectante para el hombre, en quien produce una enfermedad, muy prolongada, grave, que se conoce con el nombre de Fiebre de Malta o Fiebre Ondulante.

COMO SE CONTAGIA LA ENFERMEDAD AL HOMBRE

El hombre puede contagiarse en muchas circunstancias. En primer lugar debo repetir, lo que ya he dicho, que la infección de las cabras y los ovinos es la más contagiosa para el hombre, y en las zonas en que existe es más frecuente la Fiebre Ondulante. Luego

le sigue la infección del cerdo, que también comunica al hombre una enfermedad bastante severa. Y por último, la infección de los vacunos, la que ofrece algunas particularidades al respecto. Pues, mientras en algunos países y en zonas de los mismos, donde existe la Enfermedad de Bang, se observan con cierta frecuencia casos de infección humana, en otros no se han comprobado y hasta se ha llegado a negar la posibilidad de su contagio.

El hombre puede tomar la infección, por contacto con los animales, por ejemplo cuando se ha producido el aborto de una vaca y manipula las membranas fetales que a veces quedan retenidas. Esto ocurre con frecuencia en algunos países a los profesionales veterinarios y granjeros.

Las manipulaciones, en los Frigoríficos, Saladeros y Mataderos, de la carne de animales infectados, sobre todo de cerdos, es causa frecuente de la infección humana. El Dr. Molinelli (R. A.) se ha ocupado del estudio de ese problema, habiendo hecho una investigación minuciosa y comprobó un grado elevado de infección en los obreros de esa clase de establecimientos en la República Argentina.

También puede motivar el contagio humano el consumo de leche cruda procedentes de animales infectados; aunque este factor, fuera de la vida de campo, interviene en una proporción reducida dado el hábito de hervir antes aquel alimento.

Mayor importancia tienen el consumo de la crema y de la manteca, por dos razones: 1.º Porque más generalmente se consumen sin hacerles sufrir la acción del calor y 2.º porque la crema al separarse del resto de la leche, por cualquier procedimiento, se enriquece en microbios de la enfermedad; esto se entiende cuando la leche está infectada.

CÓMO SE RECONOCE LA ENFERMEDAD EN EL GANADO

Desgraciadamente, no hay ningún síntoma, ninguna manifestación visible, que nos permita saber tempranamente cuando un animal está infectado por el Aborto Epizoótico. Esto constituye una desventaja seria para la lucha contra la enfermedad, porque imposibilita un diagnóstico precoz que facilitaría la aplicación más oportuna de medidas sanitarias; evitando que animales infectados condenados al aborto fueran movilizados transportando el contagio a otros rodeos del mismo o de otros establecimientos.

Fuera de algunas alteraciones que suelen presentarse a veces en los órganos genitales de la hembra difíciles de apreciar en el campo, sólo la producción del Aborto, que culmina la evolución de la enfermedad, tiene un valor real.

Y a ese respecto debemos recordar lo que hemos dicho al principio de esta disertación, cuando planteamos las diferencias entre el Aborto Epizoótico y las otras clases de Abortos; ello es, que el Aborto Epizoótico, de un modo general se reconoce en un rodeo por la producción de Abortos sucesivos en hembras ya entradas en el 5.º mes de preñez. Estos Abortos se repiten en años subsiguientes en los mismos rodeos, aunque declinando el número.

Pero si no disponemos de recursos para reconocer la enfermedad por el examen externo de los animales, en cambio disponemos de varios medios, llamados reacciones biológicas, que permiten reconocer la infección en un alto porcentaje de animales.

Estas reacciones biológicas tienen como base los siguientes hechos. 1.º En los animales que se infectan con el microbio del Aborto Epizoótico se producen alteraciones en la sangre, que son propias de la enfermedad y que se pueden comprobar en el Laboratorio. — 2.º Cuando se inyecta en la piel de los animales enfermos ciertos productos de los microbios cultivados en el Laboratorio, se produce en ese lugar de la piel una pequeña inflamación local, que no se produce en los animales sanos.

El primer método, el de buscar en el Laboratorio las alteraciones de la sangre, es por ahora el más conveniente y usado.

Aunque esto es un poco difícil de comprender para las personas que no cultivan la medicina, pueden sin embargo imaginárselo, pensando en que pasa algo análogo a lo que ocurre con la práctica muy generalizada en medicina humana y que todos ustedes conocen. Cuando un médico quiere saber si su enfermo está atacado de Sífilis, le saca una muestra de sangre de una vena del brazo y la remite a un Laboratorio. El Laboratorio hace con la sangre lo que se llama la reacción de Wassermann y contesta: Positiva o Negativa; equivalente en el primer caso a que el sujeto tiene Sífilis y en el segundo no, a que no tiene Sífilis, sino a que en la sangre no hay señales de Sífilis, aunque algunas veces el sujeto puede tener no obstante la enfermedad.

Bien, como les decía, con el Aborto Epizoótico ocurre algo muy semejante. Extrayendo sangre a los animales y remitiéndola al Laboratorio de Investigaciones o a otro Laboratorio competente, con la indicación: "Para buscar Aborto Epizoótico"; el Laboratorio contestará para cada muestra de sangre analizada: Positiva o Negativa. También en el Aborto Epizoótico, como en la Sífilis del hombre la palabra Positiva tiene un valor casi absoluto en el sentido de que la enfermedad está presente; pero la expresión negativa sólo quiere decir que en la sangre no hay señales "visibles" de la infección, aunque el animal pueda estar algunas veces infectado, lo que ocurre en un pequeño porcentaje de enfermos.

Algunas de las reacciones que practica el Laboratorio para in-

vestigar el Aborto Epizoótico, pueden ser hechas con buen resultado por personas que pongan interés y algún cuidado en practicarlas.

Yo haré una breve reseña de la más sencilla. Con los microbios del Aborto Epizoótico que se cultivan en el Laboratorio en medios nutritivos adecuados, se hace una emulsión o mejor dicho una suspensión en un líquido especial; esta suspensión de microbios es un líquido blanquecino, de un aspecto muy semejante al que se obtiene cuando se hechan algunas gotas de leche en un poco de agua. Ahora bien, si esta suspensión se mezcla en ciertas proporciones con el suero de sangre de un animal pueden pasar dos cosas: 1.º que la suspensión quede incambiada, es decir uniformemente blanquecina, lechosa; en este caso decimos es una reacción "negativa". — 2.º Que en la suspensión, al cabo de algunos minutos, comience a notarse la formación de pequeños grumos y después toma un aspecto que recuerda muy bien lo que pasa cuando disolvemos jabón en agua de pozo salobre; el jabón se corta y forma grumos. Cuando pasa esto decimos que la sangre ha dado reacción "positiva", lo que equivale decir que el animal está infectado por el Aborto Epizoótico. Esto ocurre porque la sangre de los animales infectados por ese microbio. tiene la propiedad de pegar los microbios los unos a los otros formando primero montoncitos microscópicos, los que después se unen entre ellos y forman grumos visibles a simple vista, mientras el líquido en que están suspendidos se pone transparente, perdiendo su aspecto lechoso.

No obstante ser relativamente sencillo practicar algunas reacciones para el diagnóstico de la enfermedad de Bang, cuando se tiene una experiencia personal bastante completa, lo mejor es remitir las muestras de sangre a un Laboratorio competente, porque pueden presentarse causas de errores no previsibles y además dificultades para interpretar matices de reacciones.

MODO DE EXTRAER LAS MUESTRAS DE SANGRE

La extracción de muestras de sangre de los animales es muy útil conocerla y sencilla. En primer término se debe poseer tubos de vidrio, de unos 5 a 10 c.c. de capacidad, con tapón de goma o corcho y esterilizados por calor; además los tubos deberán estar secos por dentro, pues la presencia de agua produce lo que se llama hemolisis de la sangre y el suero de la misma queda coloreado en rojo lo que ofrece algunos inconvenientes para las reacciones por la presencia de la hemoglobina. El Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Policía Sanitaria de los Animales, proporciona los tubos ya prontos y envases apropiados para remitirlos.

Supongamos que debemos extraer sangre de un vacuno; se puede extraer de las orejas o de las venas del pescuezo. Para lo pri-

mero debo recordar que en la cara posterior de la oreja se notan algunas venas superficiales, que se distinguen fácilmente apretando la base de la oreja con los dedos de la mano formando pinza, en esta forma las pequeñas venas se llenan de sangre, conviene antes cortar el pelo con tijera. De entre todas las venas, hay una, la que está más cerca del borde posterior, por eso se llama marginal, que se presta mejor; una vez cortado el pelo se frota la región con un algodón empapado en alcohol, puede utilizarse un buen alcohol azul de quemar, después se deja secar. Entonces se vuelve a apretar la base de la oreja con los dedos de la mano, dispuestos en pinza como decíamos, la vena se abulta y se hace muy aparente y luego se punciona con una aguja o la punta de un corta-plumas bien afilado, dando un golpecito firme, la sangre saldrá en gotas que se recogerá en los tubos que hemos mencionado. También se puede hacer un corte de la piel y vena con una "Gillette" o un corta-plumas. Debo recomendar que lo que se use para puncionar o cortar la piel y vena debe ser muy afilado, porque si no puede resultar que los bordes de la vena queden pegados y entonces no saldrá sangre; cuando esto ocurra conviene frotar bien la piel cortada con un algodón seco; mientras todo esto ocurre y hasta obtener la cantidad de sangre deseada deberá mantenerse la compresión de la base de la oreja.

Para extraer sangre de las venas del pescuezo se procederá en la siguiente forma: un peón pasará una cuerda o un lazo por la base del pescuezo y tirará hacia atrás tratando de comprimirlo fuertemente; entonces aparecerán las venas repletas de sangre en forma de un cordón saliente que se dibuja uno a cada lado del pescuezo, cerca del borde anterior, en la especie de hendidura o gotera, muy visible en los animales flacos, que se extiende desde la quijada hasta la entrada del pecho o degolladero. Para asegurarse que se trata de la vena, se tantea con los dedos el cordón aparente para ver si es elástico y mientras se hace esto se ordena al peón que afloje momentáneamente la cuerda del pescuezo, si es realmente la vena, la sangre se irá y el cordón desaparecerá. Se ordenará entonces hacer nuevamente la compresión de la base del pescuezo, y sobre la vena, en punto ubicado en el límite aproximado entre los dos tercios inferiores con el tercio superior, se cortará el pelo con tijera, se frotará la piel con algodón empapado en alcohol iodado y luego con una aguja de inyecciones, de unos cinco a seis centímetros de largo y de uno y medio a dos milímetros de diámetro (o más), previamente desinfectada en agua hirviendo, se puncionará primero la piel, tomándola con los dedos y haciendo un pliegue; luego de haber atravesado la piel se dirige la aguja en posición de atravesar la vena de un lado a otro y se da un golpe firme, si la aguja ha entrado bastante (los dos tercios por lo menos) y no saliera sangre, se retirará un poco por si la punta hubiera entrado en la pared opuesta de la vena. Se

dejará salir un poco de sangre (para limpiar la aguja del agua que pueda tener de la esterilización) y después se recojerá en el tubo. Antes de retirar la aguja deberá ordenarse retirar la cuerda del pescuezo para evitar el derrame de sangre debajo de la piel.

Cuando se deba extraer sangre a varios animales sucesivamente, es necesario disponer de varias agujas, que se mantendrán en agua hirviendo; si esto no se hiciera es esencial que una aguja usada, antes de volverla a usar para otro animal, sea bien lavada, lo más cómodo con una jeringa de agua hervida.

La cantidad de sangre a remitir al Laboratorio será por lo menos de un centímetro cúbico, aunque es conveniente remitir unos 5 c.c. por si hubiera necesidad de repetir las reacciones.

GRADO DE DIFUSION DE LA ENFERMEDAD EN EL PAIS

Según nuestros datos, podemos decir en primer término, que en nuestro país no existe actualmente, o por lo menos no ha sido comprobada, en las cabras y ovinos, tampoco ha sido comprobada en los equinos, aunque es muy probable, y vuelvo a recordar que en esta especie, la enfermedad se presenta en forma completamente distinta a las otras especies, no provocando abortos.

En cuanto al hombre, se han comprobado algunos casos en Montevideo, otros en Salto y también algunos en este Departamento (Paysandú); es posible también en otros departamentos.

En cambio, en los vacunos, la enfermedad reina en el país con un grado de difusión realmente alarmante. Tiene importancia considerar a este respecto, la clase de establecimiento. Es mayor la presencia en los tambos, luego siguen las cabañas y por último las estancias en grados muy diversos según las zonas y forma de trabajo.

A continuación daré un resumen de los resultados registrados en el Laboratorio de Investigaciones, comprendiendo el período entre Mayo de 1932 a Setiembre de 1935.

Total de reacciones practicadas en todas las especies: . .	4.692	
Reaccionantes . .	1.262	
	27,1	%
Vacunos: Total	3.613	
Reaccionantes . .	1.130	
	31,2	%
Por Departamentos:		
Montevideo. Tambos	1.883	
Reaccionantes . .	650	
	34,48	%

Canelones. Total examinados ...	255	
Reaccionantes ..	81	
	31,7	%
Florida. Total examinados	363	
Reaccionantes ..	197	
	54,2	%
San José. Total examinados	92	
Reaccionantes ..	40	
	43,4	%
En otras especies:		
Cerdos. Total examinados	293	
Reaccionantes ..	0,30	%

Equinos, Ovinos y Caprinos. No se comprobaron reaccionantes.

GRADO DE DIFUSION EN LA REPUBLICA ARGENTINA

He creído conveniente suministrar algunos datos sobre el desarrollo del Aborto Epizoótico en la República Argentina, en primer lugar por su proximidad e intercambio ganadero con nuestro país y en segundo lugar, porque en estos últimos tiempos, se me ha hecho saber que en algún ambiente Argentino se hacía argumento contra la importación de nuestro ganado, pretendiendo fundarlo en que la Enfermedad de Bang estaría muy difundida en nuestros rodeos.

Los datos numéricos que daré proceden de publicaciones científicas Argentinas y son por lo tanto insospechables.

Análisis de sangres de animales sacrificados en el Frigorífico y Matadero Municipal de Buenos Aires. Total examinados	288	
Reaccionantes ..	31,5	%
Esos mismos animales distribuídos, según provincias de origen:		
Santa Fe. Reaccionantes	44,4	%
Entre Ríos. Reaccionantes	34,7	%
Corrientes. Reaccionantes	34,3	%
Córdoba. Reaccionantes	17,6	%
Neuquen. Reaccionantes	60,0	%
De otros animales examinados de la Provincia de Buenos Aires. Total examinados	73	
Reaccionantes ..	37	
	50,6	%
Cerdos. Total examinados	256	
Reaccionantes ..	4,6	%
Provincia de Mendoza. Cabras	32	
Reaccionantes ..	32	
	18,6	%

Podríamos agregar más datos, pero los transcriptos son suficientes para demostrar que en la República hermana, hay un grado de infección en los vacunos por lo menos igual al nuestro y además que existe el Aborto Epizoótico en las cabras y con un índice elevado de infección en los cerdos, lo que no ocurre con iguales especies en nuestro país.

PROBLEMAS QUE PLANTEA EL ABORTO EPIZOOTICO. NECESIDAD DE SU PROFILAXIS

La existencia de esa enfermedad plantea para el país cuestiones de interés según dos direcciones:

1.º Del punto de vista de la salud humana. 2.º Del punto de vista de la economía del país, por lo que afecta a la producción pecuaria.

En cuanto a lo primero ya hemos manifestado que el Aborto Epizoótico se trasmite al hombre produciendo a veces una enfermedad grave.

Aunque en el momento actual, felizmente para nuestro país, solo existe un índice elevado de infección en el ganado vacuno y ya hemos dicho que es la forma menos contagiosa y la menos grave para el hombre; sin embargo, se han producido varios casos severos en diversos Departamentos y es imposible predecir lo que pueda ocurrir más adelante.

Por otra parte se han comprobado algunos casos, pocos sin duda solo un 0,3 % de infección en los cerdos; pero esto puede extenderse con facilidad y tomar proporciones mayores lo que agravaría sensiblemente el problema del contagio humano.

Por último, si bien no existe la infección en las cabras de nuestro país, ella está bastante difundida en algunas Provincias Argentinas y ya hemos dicho que la infección de las cabras se contagia a los lanares y es sumamente trasmisible al hombre, produciendo una enfermedad grave. Habrá pues que precaverse contra este posible peligro; no dificultando el intercambio ganadero, pero si tomando las medidas sanitarias adecuadas.

En cuanto a los perjuicios de orden económico, ya hemos mencionado el enorme porcentaje de abortos que produce, pudiendo llegar cuando la enfermedad se inicia en un establecimiento a un 40, 50 o más por ciento, y aunque decrece en cantidad se repite en los años sucesivos. Además las nuevas hembras que se van incorporando a la reproducción anualmente, van siendo víctimas de la infección, y de ese modo ella toma carta de ciudadanía para siempre dentro del establecimiento con todo el cortejo de pérdidas que suponen los abortos repetidos y la esterilidad consiguiente de un cierto número de hembras.

PROFILAXIS

La profilaxis o la lucha contra el Aborto Epizoótico, puede orientarse según varias direcciones; por el uso de vacunas, de medidas sanitarias o de métodos combinados.

El uso de vacunas. — En cuanto al uso de vacunas, esa enfermedad ofrece algunas particularidades que dificultan su aplicación o que por lo menos disminuyen su eficacia.

Ya hemos mencionado al principio de esta disertación, que el Aborto Epizoótico, contrariamente a otras enfermedades, es una infección que permanece en el animal varios años, semejante a lo que ocurre con la Tristeza y con la Tuberculosis en los animales y la Sífilis en el hombre. Esto significa que el animal no llega a vencer la infección de un modo total hasta eliminarla, es decir, que no se vacuna con facilidad.

Es de imaginarse, que si la misma infección tan prolongada no produce la vacunación del animal, será difícil conseguirla con una simple inyección.

Pero si con el uso de vacunas no se llega a obtener una verdadera vacunación preventiva, en el sentido de que el animal quede libre de la infección y resista su contagio, se pueden aminorar los efectos perjudiciales, disminuyendo el porcentaje de abortos.

Hay dos tipos de vacuna a emplear; unas las llamadas a "virus muerto", porque los microbios que contienen están muertos por el calor o por substancias químicas. Estas vacunas se pueden usar libremente porque no acarrean ningún peligro de contagio.

Desgraciadamente ateniéndonos a la información mundial, la eficacia de estas vacunas sería muy dudosa; sin embargo, se relatan casos de resultados muy favorables, mismo en nuestro país y creo siempre conveniente emplearlas por vía de ensayo.

Al otro tipo pertenecen las llamadas vacunas a "virus vivo". En estas, como su designación lo hace presumir, el microbio está vivo.

Esta clase de vacunas, goza del prestigio, de una opinión casi general de que son eficaces en el sentido de que su aplicación disminuye sensiblemente el número de abortos, pero ofrecen el inconveniente de que infectan a los animales, contagian la enfermedad y por esa circunstancia su uso, necesariamente debe quedar limitado a los establecimientos que tengan los rodeos ya infectados. Por otra parte está prohibido su libre uso, siendo necesaria la autorización previa de la Dirección de la Policía Sanitaria de los Animales.

Debo agregar que las vacunas que hemos mencionado, para obtener resultados favorables con ellas deberán ser aplicadas dentro de los meses que preceden al "entoramiento" de las vacas.

Medidas sanitarias. — Estas medidas tienen por objeto, por una parte, impedir la entrada de la infección a un establecimiento libre de ella y por otra limitar la infección dentro de un establecimiento, ya sea con el fin de que la infección no se difunda a otros rodeos o de extinguirla totalmente, es decir, de sanear el establecimiento.

Resumiré a continuación los distintos casos que pueden presentarse y las medidas que estimo aplicables:

Primer caso. — Un establecimiento libre de infección. No se deberá introducir ningún reproductor, hembra o macho, sin asegurarse que procede de un establecimiento libre de infección. En este caso no debe bastar que el animal no sea reaccionante a las pruebas de Laboratorio.

Segundo caso. — Un establecimiento tiene una infección ligera; es decir que en ese momento hay pocos animales reaccionantes. Convendrá la eliminación de todos los reaccionantes. Si no se pudiera dar cumplimiento a esa medida porque los animales no estuvieran prontos para la venta o porque se deseara conservar algunos ejemplares por sus líneas de sangre, se deberá disponer un potrero depósito para aislamiento de esos animales.

Tercer caso. — El establecimiento tiene varios potreros con ganado reaccionante. Se puede proceder en dos formas: a) Como en el segundo caso, es decir eliminando de los potreros infectados todos los reaccionantes; ya sea destinándolos a la venta o ya colocándolos en potreros especiales. — b) Sacando los terneros mamones hembras que se criarán aparte, aislados, para con ellos iniciar la formación de un rodeo sano.

Cuarto caso. — El establecimiento está totalmente infectado. Fuera de la eliminación total de los animales que sería aplicable solamente en establecimientos chicos, se podrá proceder en la siguiente forma: a) Vacunación del total de las hembras, con vacunas a virus muertos o a virus vivos, para disminuir los perjuicios económicos que derivan de los abortos. — b) Formación de rodeos sanos por eliminación gradual de los reaccionantes y por aislamiento de los terneros hembras en potreros especiales.

Hemos hecho una breve reseña del Aborto Epizoótico, de los perjuicios de orden sanitario y de orden económico que de él derivan. También hemos expuesto someramente los principales recursos de que disponemos para combatirlo. Sólo deseo haber despertado en vosotros la atención que merece esa Epizootia, invitándoos para iniciar la lucha, para cuyo fin nos ponemos a vuestra disposición.

SUERO-AGLUTINACION EN EL DIAGNOSTICO DE LAS BRUCELOSIS ANIMALES

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y DE LOS ELECTROLITOS A DISTINTAS CONCENTRACIONES

(CON LA COLABORACION DEL Dr. ANGEL TORTORELLA)
(Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería. Año XXI, N.º 3, 1937)

PRIMERA PARTE

La profilaxis de las Brucelosis, como la mayoría de las enfermedades infecciosas, exige en primer término la posibilidad de poder establecer un diagnóstico preciso para identificar el mayor número de animales poseedores de la infección que integran un rodeo, así como para defender a los rodeos sanos evitando el ingreso de animales infectados.

En Medicina Veterinaria, no es posible contar para el diagnóstico con manifestaciones clínicas de los infectados, ni con métodos tales que los hemocultivos. Pasado el episodio culminante, que es el aborto, que por otra parte no es general para todas las hembras, el organismo, podríamos decir, entra en silencio en breve plazo sin que ningún signo exterior los diferencie de los animales sanos.

En cuanto a los hemo-cultivos, del punto de vista del diagnóstico, especialmente para la especie bovina, que más nos interesa, ofrecen pocas probabilidades de éxito, no obstante los progresos alcanzados en estos últimos tiempos con el perfeccionamiento de los medios nutritivos y otras condiciones que los favorecen. Por otra parte, no son aplicables para trabajos de la índole que exigen la profilaxis de la Brucelosis en un medio rural.

Felizmente existen varias reacciones biológicas que permiten, por lo menos para un gran porcentaje de casos, llegar a un diagnóstico suficientemente preciso.

Esas reacciones tienen como fundamento los siguientes hechos:

a) Correlativamente al desarrollo de la infección aparecen en la sangre y en otros líquidos del organismo aglutininas específicas.

b) Igualmente aparecen amboceptores que en presencia de la brucela como antígeno producen la fijación del complemento.

c) En el animal infectado se desarrolla un estado alérgico, que se revela por reacciones orgánicas locales, más o menos características frente a la inyección de brucelas o productos de su metabolismo.

Estos principios sirven de base para otros tantos métodos especiales de diagnóstico, que aunque indirectos, en el sentido de que se fundan en modificaciones humorales del sujeto infectado, revisten en determinadas condiciones un alto valor diagnóstico.

Sin entrar a discutir el valor relativo de estos distintos métodos, no cabe duda alguna, sobre todo para la especie bovina, que, actualmente, la investigación de aglutininas en el suero sanguíneo constituye el procedimiento de elección para el diagnóstico de las brucelosis.

Es muy probable que para otras especies, tales que los caprinos y ovinos, puedan las pruebas alérgicas adquirir valor igual o preponderante.

La circunstancia de que la Dirección de Ganadería haya dispuesto medidas para la importación de reproductores e incluído entre sus propósitos, la organización de un plan de lucha contra las Brucelosis, ha determinado que el Laboratorio de Investigaciones de la Institución, a cargo de uno de nosotros, se preocupara de estudiar y adoptar la técnica más adecuada para el diagnóstico.

METODOS Y TECNICAS

Para que la suero-aglutinación preste el máximum de utilidad debe responder por lo menos a las siguientes exigencias: Especificidad, sensibilidad y regularidad en los resultados y para ello es necesario:

1.º — Condicionar los factores que puedan intervenir en la reacción a fin de darle exactitud, precisión.

2.º — Eliminar o reducir a un mínimo los factores perturbadores.

3.º — Establecer las normas para la interpretación de los resultados.

4.º — Fijar los "test" de antígeno para que los resultados se equivalgan a través del tiempo.

En el curso de nuestros numerosos exámenes se nos presentaron frecuentemente serias dificultades para la lectura clara de los resultados, especialmente, fenómenos de floculación de distintos aspectos, que unas veces simulaban una reacción positiva y otras ocultaban tras de sí una verdadera reacción positiva, no visible por la intensidad del floculado superpuesto, haciendo difícil, y aún mismo imposible a veces, un pronunciamiento categórico.

Estas floculaciones pueden encontrarse en los sueros de cualquier origen; pero son mucho más frecuentes en aquellos que llegan con retardo de algunos días al Laboratorio, en contacto con el coágulo sanguíneo, y más si han sido obtenidos con asepsia deficiente, como es frecuente por las dificultades inherentes a nuestro medio rural, pues, la pululación microbiana en las muestras, al principio discreta por la misma barrera que opone el suero, en su concentración natural, se acentúa luego por la dilución a que es llevado al montar la reacción y la permanencia prolongada en la estufa (12 a 24 horas) a temperaturas eugenésicas para algunas especies microbianas, tal que la de 37° en las técnicas habituales.

Estos hechos nos llevaron a estudiar los factores capaces de amortiguar o inhibir esos cofenómenos, estudiando por una parte la acción de diversas temperaturas y por otra la influencia de la concentración en electrolitos.

En el presente trabajo, expondremos los resultados de nuestras investigaciones, comenzando primeramente por la descripción de los elementos principales de los métodos utilizados.

ELEMENTOS DE LA TECNICA. — ANTIGENO, SUERO Y SISTEMA DE DILUCIONES

Empleamos técnicas de "métodos lentos" y de "métodos rápidos", según los principios de Huddleson, dando preferencia a los primeros, que nos sirven de "Standard" para el pronunciamiento definitivo de los resultados. Más adelante indicaremos el lugar que el "método rápido" ocupa en nuestra rutina de diagnóstico, utilizando una técnica modificada.

Del antígeno. — Utilizamos para la preparación de nuestro antígeno, 3 cepas de *Brucella bovis*, numeradas 1, 2 y 3, de distintos orígenes, probadas no espontáneamente aglutinables. Estas cepas son cultivadas por separado en superficie sobre gelosa peptonada durante 72 horas a 37° y luego suspendida la capa microbiana en solución de cloruro de sodio al 8,5 por mil. La gelosa debe ser dura y la capa microbiana extraída, respetando en lo posible la gelosa, a fin de no incorporar partículas de esta sustancia.

La suspensión concentrada obtenida por la recolección en 50 c.c. de solución salina para 150 centímetros cuadrados de gelosa cultivada, es primeramente filtrada por papel estéril en rigurosas condiciones de asepsia; luego calentada a 65° durante ¾ de hora y estandardizada sin ningún agregado de antiséptico (1).

Antes hemos usado para los cultivos gelosa-hígado, en cuyo medio el crecimiento es más abundante, pero algunas irregulari-

(1) Hemos hecho varios ensayos sobre el agregado de antisépticos para la conservación de las suspensiones, especialmente el formol, pero lo hemos abandonado, porque hace perder sensibilidad al antígeno.

dades observadas en los antígenos nos decidió a abandonar ese medio, que, no obstante, seguimos utilizando para la preparación del antígeno de Huddleson.

La filtración cuidadosa de la suspensión por papel filtro, antes del calentamiento, la conceptuamos muy útil para separar grumos y particulas y, especialmente, para evitar el "error gelosa" (tendencia a la auto-aglutinación).

Para la concentración del antígeno tomamos como base, desde el comienzo de nuestras investigaciones una opacidad aproximada a la que usamos habitualmente para las pruebas de Tifus humano. Esa concentración contiene 1800 millones de gérmenes por c.c. (contage por los métodos de Breed y de Wrigh, tomando el promedio) y equivale a la opacidad obtenida con la mezcla de 0.5 c.c. de una solución de Cloruro de Bario $\frac{m}{100}$ (2 grs. 46 por litro), 0.5 c.c. de una solución de ácido sulfúrico al 1 por mil, más 4 c.c. de agua destilada. Medida con el comparador de Walpole.

La uniformidad en la concentración de las suspensiones o más bien la uniformidad en los resultados, está además asegurada por la conservación de tubos "Standard", cerrados a la lámpara y por la comparación de los resultados de aglutinación de la nueva suspensión con la anterior, frente a mismos sueros.

La concentración de la suspensión utilizada por nosotros, equivale aproximadamente al tubo N.º 2 de Brown — y la de la mezcla suero + suspensión (reacción montada), al tubo N.º 1.

De los sueros. — Utilizamos los sueros activos. Sólo hemos recurrido a la inactivación (calentamiento a 55-56º-20 minutos) en aquellos casos en que fenómenos de floculación intensa hacían imposible la apreciación de los resultados, sobre todo antes de utilizar las modificaciones de técnica que mencionaremos más adelante, las que eliminan casi completamente la intercurrencia de esos fenómenos; además los sueros libres de glóbulos y límpidos los que son centrifugados cuando se encuentran turbios, o con glóbulos en suspensión.

Por otra parte, recomendamos las siguientes instrucciones para la obtención de sueros en las mejores condiciones:

Extracción de sangre de las venas yugulares a fin de obtener con facilidad la cantidad requerida y en forma de relativa asepsia. Cuando se deba extraer de varios animales y no se disponga de numerosas agujas, se cuidará de enjuagar bien cada aguja antes de pasar a otro animal usando para ello una jeringa cargada con solución salina fisiológica estéril, siendo recomendable dejar salir algunos centímetros cúbicos de sangre antes de recoger la muestra. Con estas precauciones y utilizando para la recolección tubos bien secos se evitará además la hemolisis. Una vez extraída la muestra

es colocada en el envase colectivo (2) evitando el enfriamiento inmediato, lo que facilita una buena coagulación y separación del suero (especialmente recomendable en invierno). Las muestras llegadas al Laboratorio de Investigaciones son revisadas y si no se ha producido una buena exudación del suero, se desprenden los coágulos de la pared de los tubos y son colocadas en la estufa a 37° durante 1 ó 2 horas para que termine el proceso de retractilidad y luego pasados a la heladera hasta el momento de iniciar el montaje de las reacciones.

Del montaje de las reacciones. — Nosotros utilizamos, dos diluciones previas de los sueros, una dilución 1/10 y otra al 1/120 obtenidas en la siguiente forma:

Dilución A:

Suero en examen ..... 0.2 c.c.
Solución de Na. Cl. al 8.5 por mil 1.8 c.c.

Dilución B:

Solución A ..... 0.5 c.c.
Solución de Na. Cl. al 8.5 por mil 5.5 c.c.

El esquema completo comprende 11 tubos, y los sueros, solución salina y antígeno son distribuidos según el siguiente cuadro, igualando el volumen de 1 c.c. Los tubos son los habituales para pruebas de hemolisis, de 9 a 10 mm. de diámetro por 8 a 9 centímetros de alto. Para las pruebas habituales de rutina trabajamos con los 4 primeros tubos, que extendemos al tubo 9 ó al 11 cuando existe interés, en sueros altos, en conocer el título exacto. Además el aumento regular de las diluciones en los primeros 9 tubos se presta muy bien para las experiencias comparativas.

CUADRO N.° 1

Tubos Nos.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Suero en examen Diluc. A	0.4.	0.2.	0.1.	0.05.	—	—	—	—	—	—	—
Suero en examen Diluc. B	—	—	—	—	0.4.	0.3.	0.25.	0.20.	0.15.	0.10.	0.05.
Solución Salina	0.1.	0.3.	0.4.	0.45.	0.1.	0.2.	0.25.	0.30.	0.35.	0.4.	0.45.
Antígeno	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.	0.5.
Título de dilución:	1/25	1/50	1/100	1/200	1/300	1/400	1/480	1/600	1/800	1/1200	1/2400

(2) El Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería provee con regularidad, tanto a los particulares como a los servicios oficiales, de tubos estériles, secos, rotulados y envasados para su remisión por correo.

Las diluciones de los sueros se distribuyen con pipetas al 1/10, mejor al 1/20 de c.c., luego la solución salina, mezclando bien y sólo después se agrega el antígeno y se vuelve a agitar. Los soportes con las reacciones son colocados en estufa a 37°, durante 18 a 24 horas. Más adelante especificaremos las modificaciones sugeridas por nuestras experiencias.

La lectura de los resultados se hace primeramente sin agitar los tubos, anotando el grado de clarificación de la suspensión: Completa, casi completa y parcial, seguida inmediatamente de la lectura a la lupa (x 4) del grado de aglutinación, que distinguimos para cada tubo con los signos de (—) a ++++ comprendiendo así ocho grados de aglutinación en cada dilución de suero, desde + hasta ++++.

SUERO AGLUTINACION CON ANTIGENO CONCENTRADO

(Según Huddleson)

Técnica adoptada en la rutina del Laboratorio de Investigaciones

Huddleson, muy probablemente inspirado en los trabajos de Kahn, para las reacciones de floculación en el diagnóstico de la Sífilis, introdujo algunas modificaciones muy importantes en las técnicas para la suero-aglutinación en la Enfermedad de Bang.

Las modificaciones introducidas por Huddleson, son esencialmente:

a) El uso de una solución salina concentrada (12 %) para la preparación del antígeno.
b) Un antígeno altamente concentrado.
c) La mezcla con el antígeno de suero sin diluir en proporciones decrecientes.

Nuestras investigaciones comparativas, con los métodos lentos nos permiten asegurar su alto valor práctico, pero hemos encontrado algunas discordancias en los valores bajos, no específicos, probablemente por seudo aglutinaciones provocadas por un fenómeno de floculación en algunos sueros. Por otra parte la distribución de tan pequeñas cantidades de suero no diluido, a la par que exige pipetas especiales, expone con más facilidad a errores de medida, sobre todo en los laboratorios que deben manipular numerosos análisis.

No obstante pensando en las grandes ventajas de un método rápido, hemos modificado la técnica, adaptándola para despistar los sueros positivos o con indicios de aglutininas, sueros que son luego examinados por una "técnica lenta standard".

Nuestra modificación consiste en la preparación de dos antígenos concentrados, titulados en forma de que mezclados gota a gota con los sueros en examen, uno de los antígenos sea sensible a partir de títulos aglutinantes de 1/25 y el otro de títulos aglutinantes de 1/50, valorados estos títulos con los métodos lentos.

Preparación y titulación del antígeno. — Para la preparación del antígeno, se sigue exactamente las indicaciones de Huddleson en cuanto a cultivo, solución salina concentrada, calentamiento y agregado de colorantes (violeta de genciana y verde malaquita).

Terminada esta primera parte, se centrifuga para darle el máximo de concentración, se retira la totalidad del líquido y luego se agrega sólo una pequeña cantidad de solución salina al 12 %, fenicada al 0,5 %, suficiente para que mezclada con la capa microbiana permita hacer mediciones exactas con pipetas.

Para la titulación, al igual que en la técnica original de Huddleson, se requieren sueros de valores aglutinantes determinados, para nuestra técnica de 1/25 y de 1/50. Pero dado que no siempre se dispone de sueros que respondan con suficiente exactitud a esos títulos, nosotros partimos de sueros frescos, de valor aglutinante superior a 1/50 y si es posible inferior a 1/100, y hacemos mezclas en distintas proporciones con un suero normal, que previamente hemos examinado, que no modifique el título aglutinante del primero, en ningún sentido (ni en más ni en menos). Este examen del suero normal a utilizar se hace, preparando con él, las diluciones A y B, o A solo (según el título del suero aglutinante elegido) que mencionamos en nuestra técnica (ver pág. 511), utilizando para ello en lugar de la solución salina que se indica, el suero normal en examen y disponiendo después por separado dos reacciones según el cuadro N.º 1, por un lado el suero aglutinante en examen y por otro del mismo suero aglutinante pero hechas las diluciones A y B con el suero normal en examen.

La elección de un suero normal, para preparar con el suero aglutinante las mezclas (ver cuadro N.º 2) con los títulos aglutinantes deseados (de 1/25 y 1/50) responde al objetivo de evitar el posible error de Albúmina en menos en la titulación del antígeno concentrado colocando así la experiencia en las mismas condiciones de la práctica.

Hecha la elección de los sueros aglutinantes y normal se procede luego a la preparación y elección de las mezclas adecuadas para los títulos que se desean, para lo cual utilizamos los siguientes esquemas:

1.º Preparación de las mezclas. (3).

(3) El esquema será modificado, según exigencias del suero aglutinante elegido de tal manera que su título resulte rebajado al grado necesario.

CUADRO N.º 2

Tubos Números:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Suero aglutinante . .	1cc.	1cc.	1cc.	1cc.	1cc.	1cc.	1cc.	1cc.	1cc.	etc.
Suero normal elegido	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1cc.	etc.

2.º Titulación de las mezclas.

Con cada una se hará la reacción según se indica:

CUADRO N.º 3

a) Mezcla de suero 0,3
Sol. Fisiolg. . . . 1,2

b) Mezcla de suero 0,2
Sol. Fisiolg. . . . 1,8

Tubos Números:	1	2	3	4	5	6	7	8
Mezcla de suero dilución a)	0,3	0,24	0,20	0,15	—	—	—	—
Mezcla de suero dilución b)	—	—	—	—	0,24	0,20	0,17	0,15
Sol. Fisiolg. . . .	0,3	0,35	0,4	0,45	0,36	0,40	0,43	0,45
Antígeno (lento Standard) . .	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Títulos de dilución	1|20	1|25	1|30	1|40	1|50	1|60	1|70	1|80

Se eligen las dos mezclas de suero, que correspondan una de ellas a un título máximo de un 50 o 75 % de aglutinación en 1/25 y la otra en las mismas condiciones de aglutinación a 1/50.

Se dispone así de sueros adecuados, procediéndose a la titulación del antígeno concentrado, para lo cual se harán diluciones crecientes del mismo, según el cuadro N.º 4.

CUADRO N.º 4

Tubos Números:	1	2	3	4	5	6	7
Antígeno concentración inicial . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Solución salina al 12 % fenicada	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7

Se procede entonces a confrontar cada dilución de antígeno, con las dos mezclas de suero de títulos adecuados, eligiendo las dos diluciones de antígeno que mezcladas gota a gota dé una de ellas una aglutinación de igual grado al adoptado con el suero titulado

1/25 y la otra con el titulado 1/50, estableciendo un tiempo determinado, cinco minutos, para la lectura de los resultados.

Las medidas de los sueros y de los antígenos para esas reacciones podrá hacerse con pipetas graduadas al 1/20, tomando volúmenes iguales (1/20 c.c.) de cada uno, lo que es más exacto y así lo hacemos nosotros; pero para la adopción en la práctica diaria de la técnica de gota a gota deberá hacerse entonces una corrección del antígeno, dado que las gotas de suero y de antígeno no se corresponden en volumen para pipetas de igual sección. Esta corrección se obtendrá fácilmente, contando el número de gotas de antígeno y de suero para un volumen de 1 c.c. y llevando el volumen del antígeno que debería resultar, según la dilución elegida, al volumen que resulte del cociente del mismo sobre la relación:

$$\frac{\text{número de gotas de antígeno. (4)}}{\text{número de gotas del suero}}$$

Aparentemente todo el proceso de titulación descripto sería muy complicado, pero en realidad no lo es así, para los que tengan el hábito de trabajos en suerología, y por otra parte, tal procedimiento u otro equivalente se hace necesario para obtener resultados concordantes.

Está demás advertir, que en la técnica por gotas deberá darse a las pipetas siempre la misma posición, a fin de obtener gotas uniformes, siendo preferible adoptar la posición vertical, más fácilmente controlable en las manipulaciones de rutina.

Debemos agregar que los antígenos concentrados, preparados de acuerdo con la técnica que hemos descripto, están especialmente adaptados para la búsqueda de aglutinas en los sueros de la especie bovina y son aplicables a los sueros de las especies ovina y suina; pero no del mismo modo a los sueros equinos, los cuales presentan con esos antígenos, frecuentemente, fenómenos de seudo-aglutinación no específica, lo que, sin embargo, reviste poco interés práctico del punto de vista de la profilaxis, por la reducida importancia de esa especie en la lucha contra la Enfermedad de Bang y, además, por el contralor sistemático con la técnica lenta, que siempre deberá aplicarse. En cuanto a la especie caprina, no nos podemos pronunciar por tener muy reducida experiencia.

(4) Un ejemplo ilustrará mejor: Supongamos que por las pruebas realizadas (cuadro N.° 4), corresponda elegir para antígeno 1/25 la dilución tubo N.° 4, o sea la correspondiente a 0.5 c.c. de antígeno en examen más 0.4 c. c. de solución salina al 12 %. El examen por gotas con una pipeta de determinada sección, elegida para la práctica de las reacciones da para 1 c.c. XXXVI gotas para ese antígeno y XXX para un suero, la relación sería 36/30 = 1.20 y el cociente del volumen 0,9 c.c. (a que debería ser llevado el antígeno por 1.2 = a 0,75 c.c., de donde resulta que para 0,5 c.c. del antígeno en examen deberá agregarse 0,25 c.c. de solución salina en lugar de 0.4.

En la práctica disponemos las reacciones de un modo análogo al indicado por Huddleson: sobre una placa de vidrio, cuadriculada, colocamos primeramente los sueros por gotas, 2 por separado para cada suero; terminada la distribución de los sueros en una placa, se distribuyen a continuación los antígenos, también por gotas, con pipetas de igual sección, comenzando por el antígeno titulado 1/25 y luego el titulado 1/50. Se mezclan bien con mondadientes o con finas varillas de vidrio (extremos de las pipetas Pasteur cortadas a la lámpara), y por movimientos de báscula de la placa; se espera 5 minutos a contar de la mezcla de los elementos y se hace la lectura en la caja de iluminación (según Huddleson). Sistemáticamente recurrimos a una lupa (X 4) para distinguir bien las aglutinaciones parciales. Los resultados son anotados para cada título de antígeno, utilizando el sistema de (—) a ++++ indicado en el "Método lento".

DEL LUGAR DE LAS TECNICAS "RAPIDA" Y "LENTA" EN LA TAREA DIARIA DE SUERO - DIAGNOSTICO

La elección de un método o del otro depende en gran parte de la magnitud del trabajo diario que se deba realizar. Tratándose del examen de un reducido número de sueros, no habrá ninguna dificultad en aplicar directamente la técnica "lenta" que es la que servirá siempre de Standard para apreciar los resultados en última instancia. El problema es distinto en los Laboratorios que deban realizar el examen diario o frecuente de numerosos sueros, en cuyo caso se encuentra el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería a nuestro cargo.

Nosotros hemos adoptado el siguiente procedimiento: Todos los sueros son primeramente examinados por el "método rápido", y luego, los sueros que dan aglutinaciones, aún mismo parciales con el antígeno 1/25, son vueltos a examinar por el "método lento". En esta forma y dada la sensibilidad del antígeno utilizado por nosotros, se puede estar seguro de la eliminación de un primer grupo de "sueros negativos". En los casos de la aglomeración de grandes cantidades de sueros, el método rápido puede servir igualmente para la catalogación de un grupo de sueros "seguramente positivos", incluyendo en éstos aquellos que dan una aglutinación completa o casi completa con el antígeno 1/50 y esta seguridad puede ser de un grado mayor, repitiendo la reacción con el "método rápido", pero utilizando para cada suero tres gotas, de las cuales una se mezclará con antígeno 1/25, otra con 1/50, y otra con *IIgotas* de antígeno 1/50. Las aglutinaciones en este último término aseguran un título aproximadamente 1/100 o superior.

DE LA CLASIFICACION DE LOS RESULTADOS DEL PUNTO DE VISTA DEL DIAGNOSTICO

Este es un punto importante de la cuestión, dado que del criterio adoptado dependerá en gran parte el valor diagnóstico del método y la eficacia de su aplicación en la profilaxis de la Enfermedad de Bang.

Si tomáramos en consideración, solamente los "títulos aglutinantes" dados como base para clasificar los resultados y nos concretamos aún únicamente a los Laboratorios de los Servicios Oficiales, podríamos decir que existe un gran desacuerdo de criterio entre los distintos países. Así en Inglaterra, Stableforth, utilizando el antígeno suministrado por el Agricultural Research Council, da como *Positivos*, reacciones 1/20 a 1/40, en Dinamarca de 1/50, en Noruega 1/20, en Francia 1/50, en Estados Unidos de Norte América y en Alemania de 1/100.

Pero, una comparación racional de los criterios utilizados por los distintos países investigadores ha sido difícil, hasta cierto punto imposible, por las diversas técnicas empleadas y especialmente por los antígenos de distintas concentraciones, las cuales no han sido especificadas de un modo preciso algunas veces, o las especificaciones han sido difícilmente controlables para un estudio comparativo por falta de un "test" común a que referirlas.

Últimamente Stableforth, ha hecho un interesante estudio ("Bulletin de l'Office International des Epizooties". V. XII. Mayo-Junio 1936), con los antígenos originales utilizados por Laboratorios de varios países.

De ese estudio extractamos los resultados comparativos, obtenidos sobre los sueros de 50 vacas, aplicando los antígenos y criterios diagnóstico de los diversos países:

CUADRO N.º 5

Países	Investigadores	Positivos	Dudosos	Negativos
Londres	Stableforth	20	23	7
Alemania	Zeller	4	2	44
Noruega	Holth	11	12	27
Dinamarca	Bang	11	13	26
Dinamarca	Thaoussen	11	30	9
Francia	Rinjard	21	24	5
Austria	Diernhofer	31	11	8
Estados Unidos	Mohler	26	24	0

Estos números hablan bien elocuentemente de la diferencia apreciable de criterio para el diagnóstico de la infección. Así para

Alemania (Zeller), Noruega (Holth) y Dinamarca (Bang), habrían 44, 27 y 26 negativos, contra 0 para Estados Unidos (Mohler) y 5, 7, 8 y 9 para los investigadores de otros países.

Pero, además, es de gran interés considerar la posibilidad de los graves errores de apreciación que pueden ocurrir respecto al criterio adoptado por determinado país o investigador, cuando en las publicaciones se mencionan sólo los títulos aglutinantes de base para el diagnóstico. Mientras para Stableforth adoptando los títulos de 1/20 y aún mismo de 1/10, para clasificar positivos y dudosos, resultan 20 reacciones positivas y 23 dudosas, para Estados Unidos (Mohler) adoptando los títulos 1/50 y 1/100, resultarían 26 positivos y 24 dudosos y para Alemania (Zeller), con los mismos títulos que el anterior (Mohler) habrían solamente 4 positivos y 2 dudosos, lo mismo podríamos decir para Austria (Diernhofer) que con los mismos títulos (1/50 y 1/100) obtendría 31 positivos y 11 dudosos, de Noruega (Holth) que con títulos de 1/20 para positivos obtendría 27 sueros negativos, contra 7 para Stableforth con los mismos títulos y contra 0 (Mahler) que utiliza títulos 5 veces más elevados.

Es, pues, evidente que los títulos dados por los investigadores, como criterio para el diagnóstico de la Brucelosis, nada dicen por sí mismos respecto al grado de severidad con que proceden si no están refrendados por la descripción minuciosa de la técnica empleada.

Pero, queda siempre como punto culminante de la cuestión la enorme disparidad de criterio adoptado por los investigadores de diversos países, y aún de un mismo país; inmediatamente se plantea la pregunta: *¿Cuáles han sido las bases para que unos investigadores adopten tal criterio y los otros tal otro?*

En el trabajo de Stableforth, a que nos hemos referido, desgraciadamente no se establece con precisión las bases de los criterios adoptados por los diversos países. Sólo se mencionan de un modo preciso algunas normas para Inglaterra, tales que en los casos de animales en gestación, la prueba es más severa, bastando un título aglutinante de 1/20, para ser considerado positivo, si la gestación remonta a más de 3 meses y aún mismo de 1/10, para ser considerado como dudoso ya cuando la gestación remonta a sólo un mes.

No hay duda de que en Medicina Veterinaria se presentan mayores dificultades que en Medicina humana para la standardización de los métodos serológicos.

En efecto, la posibilidad de un minucioso examen clínico de los sujetos y especialmente de un conocimiento casi perfecto de los antecedentes de los mismos, permiten catalogar con un grado suficiente de certidumbre, un grupo de sujetos que tengan seguramente la infección motivo del examen y otro grupo libre de ella, lo que puede servir de base para el ajuste de un método serológico; y, no obstante

estas ventajas, aún se presentan divergencias de consideración en la apreciación de los resultados.

En medicina veterinaria, generalmente se está obligado de prescindir de tales recursos y es el caso para la enfermedad de Bang, muy especial por cierto, porque une además la circunstancia de no tener manifestaciones clínicas de importancia, fuera del aborto, fenómeno que por otra parte se revela sólo en un porcentaje de las hembras infectadas y no es constante en un mismo individuo durante todo su estado de infección.

Es muy probable, por lo menos debemos procurarlo, que con el perfeccionamiento de las técnicas y métodos de investigación, se llegue algún día a poder establecer con precisión si un sujeto está o no infectado por Brucella, por la puesta en evidencia en los tejidos del organismo del agente de la infección.

Pero, mientras eso no ocurra *¿cuál deberá ser la norma de conducta para el criterio a adoptar?* En primer término pensamos deberá ser descartado todo procedimiento que no tenga un fundamento serio basado en la observación comparada rigurosa.

No es posible admitir el establecimiento arbitrario de títulos aglutinantes para catalogar las reacciones, porque ello, además de ser anticientífico, acarrea el grave mal de crear una situación de anarquía de métodos y técnicas, perturbando y desprestigiando la organización de los sistemas de profilaxis.

Del criterio adoptado por el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería del Uruguay. — Establecida primeramente nuestra técnica, con condiciones bien precisas, en la forma que la hemos descripto, tuvimos que abocarnos al estudio del criterio a adoptar para la clasificación de los resultados del punto de vista diagnóstico.

Nuestras primeras búsquedas demostraron ya, confirmando los resultados de otros investigadores, la falta de regularidad en los títulos aglutinantes en relación con la producción del aborto. Dentro de un mismo rodeo, animales señalados como seguramente abortados dieron títulos bajos, y otros no abortados títulos más elevados. La producción o no del aborto no puede servir de base de referencia para el *diagnóstico individual* de la infección.

Se presentó entonces para nosotros, para no caer en la elección arbitraria de títulos aglutinantes, recurrir como medio más racional al examen de rodeos *seguramente infectados* y de rodeos *seguramente libres de infección.* Muy pronto pudimos comprobar que en los rodeos libres de la infección, la aglutinación estaba ausente aún en los títulos de dilución del suero 1/25 para nuestra "técnica lenta", y que en los rodeos infectados se encuentran al lado de títulos elevados, títulos bajos de 1/25, aún mismo parciales.

Fué tomando como base estos resultados, que nosotros hemos establecido actualmente como criterio de diagnóstico el siguiente:

Aglutinaciones parciales francas (++ y más) a 1/25 ... Dudosa
Aglutinaciones parciales débiles (+) a 1/50 ..... Dudosa
Aglutinaciones parciales fuertes (++ o más) a 1/50 Positiva débil
Aglutinaciones totales (++++) a 1/50 ..... Positiva franca
Aglutinaciones totales a 1/100 (o más) ..... Positiva intensa

Los títulos más bajos, son considerados negativos (5). No obstante en los casos de aplicación de planes de profilaxis en los establecimientos, se consignan con carácter informativo, aún las aglutinaciones más débiles a 1/25, dado que el encuentro de un título bajo, tiene mayor significado diagnóstico en un rodeo infectado que en otro sobre el cual no se poseen antecedentes bien precisos.

En cuanto a la posición que ocupa el criterio adoptado por nosotros, en relación con los que hemos mencionado rigen para otros países (Stableforth l.c.), aún cuando no nos es posible establecer una comparación rigurosa con las técnicas de otros investigadores sobre la base de los antígenos y diluciones empleadas, podemos, sin embargo, establecer algunas presunciones relativamente fundadas. El antígeno empleado por nosotros sería aproximadamente 2 veces "menos" concentrado que el usado por Stableforth en el Department of Preventive Medicine Royal Veterinary College Londres y 2 y ½ veces "más" concentrado que el utilizado por Mohler en los Estados Unidos de Norte América (suero + suspensión). Una aglutinación de 1/20, por la técnica inglesa equivaldría apróximadamente a 1/40 para la nuestra y una aglutinación 1/50 para la técnica americana, a 1/20 para la nuestra. De manera pues, que nuestro criterio diagnóstico resultaría algo más severo que el inglés y aproximadamente igual al Norteamericano.

SEGUNDA PARTE

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y DE LA CONCENTRACION EN ELECTROLITOS

En el suero-diagnóstico de las brucelosis, por las reacciones de aglutinación, se presentan frecuentemente dificultades para la lectura correcta de algunas reacciones.

Esas dificultades resultan principalmente: por un fuerte enturbiamiento de los sueros debido al progreso de la polulación microbiana, favorecida por la dilución y la prolongada permanencia en la

(5) El criterio expuesto rige para el diagnóstico de la enfermedad en el país, quedando, en cuanto a las medidas aplicables con el comercio exterior, sujetos a convenios especiales.

estufa a 37°, por la aparición de fenómenos de floculación (6) y de Zona muy intensos.

Estas perturbaciones se nos han presentado principalmente con las muestras procedentes de la campaña y en aquellas que por razones de distancia o por deficiencia en las comunicaciones llegan con algún retardo al Laboratorio (7).

El interés, la conveniencia de buscar una solución, nos llevaron a estudiar la influencia de algunos factores, que pudieran repercutir favorablemente a fin de obviar aquellos inconvenientes.

Las aglutinaciones microbianas están condicionadas por una serie de factores: los antígenos, las diluciones de los sueros, la temperatura de reacción, las concentraciones salinas y el tiempo de reacción, etc. Pero, estos factores no obran siempre de un modo regular, en forma que permitan un ajuste fácil que llene las condiciones de nuestras exigencias. Es que no se trata de un sistema simple, de una reacción química entre especies definidas, por ejemplo: El suero aglutinante contiene, además de las aglutininas específicas, otras aglutininas no especificadas para el antígeno que nos interesa y, por otra parte, esas sustancias (o propiedades) están encajadas dentro de un substracto albuminoideo complejo, variable de una especie a otra, variable también en los individuos de la misma especie y que no permanece extraño a la influencia de los factores o variaciones que hacemos actuar buscando el óptimo de un determinado fenómeno.

Nos ocuparemos en el presente trabajo sobre la influencia de distintas temperaturas y concentraciones salinas.

A. — DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Si la temperatura tiene una relativa escasa importancia para las aglutinaciones de algunas especies microbianas, recobra en cambio gran interés para las brucelas, pues la lectura de los resultados, salvo para algunas técnicas, exige un tiempo prolongado de varias horas, lo que favorece la aparición de fenómenos colaterales, pertubadores, a que nos hemos referido. Entre ellos debemos mencionar a este respecto la pululación microbiana, que a la par que provoca un fuerte enturbiamiento que puede ocultar una aglutinación verdadera, pueden las nuevas bacterias actuar, además, ya sea provocando una aglutinación no específica o deteniendo, inhibiendo la producción de la reacción específica.

Era, pues, de interés, estudiar, si no sería posible realizar la reacción de aglutinación, a una temperatura tal, en que la multipli-

(6) Nos referimos a la aparición de floculados no específicos, globulinas u otras sustancias sin la participación activa del antígeno.

(7) Es muy probable, casi seguro, que en ello intervengan las deficiencias de asepsia en la recolección de las muestras, por las dificultades en el manipuleo con los animales del campo.

cación microbiana no tuviera lugar y sin menoscabo de la sensibilidad y especificidad, — por lo menos en grados no acentuados que no redujeran apreciablemente el valor diagnóstico.

Si con un mismo suero aglutinante montamos por separado varias reacciones con igual antígeno, sistema de diluciones, etc., y las colocamos por separado a 37 grds., 42 grds., 45 grds. y 50 grds., durante 24 horas, observamos:

1.º) Que la sensibilidad de la reacción, medida a 37 grds., se mantiene igual a 42 grds., sensiblemente igual a 45 grds., y disminuye en forma sensible a 50 grds., y que algunos sueros pueden presentar mayor sensibilidad a 42 y 45 grados.

2.º) Que si los sueros en examen presentan fenómenos de floculación a 37 grds., se mantienen para una gran mayoría de los sueros a 42 grds., sólo se presentan por excepción y, en tal caso muy atenuados, a 45 grds., y no se presentan a 50 grds. (Ver cuadro N.º 6).

3.º) Los fenómenos de Zona tienden a extinguirse o se atenúan marcadamente en tal forma que en la reacción a 45 grds. la lectura y apreciación del título aglutinante se hace posible, aún mismo para sueros con una pro-Zona muy acentuada. (Ver cuadro N.º 7).

4.º) La pululación microbiana es detenida a 45 grds., por lo menos en el grd. suficiente para que la mezcla, suero-antígeno, presente a las 24 horas, — tiempo de lectura — sensiblemente el mismo aspecto inicial, contrastando con el aspecto de las mezclas suero-antígeno, a 37 grds., que han acentuado el enturbiamiento en grado sumo.

En cuanto a los fenómenos de floculación, debemos anotar, además, de que parece que tuvieran alguna relación en cuanto al comportamiento de los sueros a 37 grds. y 42 grds. con el contacto prolongado de los mismos con su correspondiente coágulo. Así, los sueros que conservan la propiedad de flocular a 42 grds., se encuentra la casi totalidad entre esa categoría. Aún mismo la floculación en tal caso es, a veces, más acentuada a esa temperatura. En cambio, en los sueros separados, rápidamente, es frecuente por lo menos que la floculación tienda ya a desaparecer a los 42 grds. Es muy posible que el contacto prolongado con el coágulo, produzca una fibrinolisis, directamente, o por la intervención de elementos microbianos proteolíticos y que esa sea la causa o contribuya a la aparición de aquella propiedad.

Parece, pues, que la temperatura de 45 grds. se presenta como la más conveniente para la suero-aglutinación en las Brucelosis. Habría sólo una objeción, que señalaremos de paso, por el momento, y que se refiere a que en sueros de títulos aglutinantes bajos, 1/25, 1/50, por ejemplo, la temperatura de 45 grds., podría, para algunos

sueros, atenuar parcialmente el título aglutinante, aunque lo acentúe para otros y hacer variar el diagnóstico en esos títulos límites. Pero, esto es fácilmente corregido, sin modificar los títulos "standards" de diagnóstico, disminuyendo ligeramente la concentración del antígeno para ser usado a esa temperatura.

Debemos agregar que las temperaturas de 37° y 42°, se han obtenido en estufas secas y que las de 45° y 50° en baño-maría.

B. — INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION EN ELECTROLITOS CONDICIONES EXPERIMENTALES

Hemos utilizado el cloruro de sodio en concentraciones tales, que al final para las reacciones montadas (mezcla suero diluído más antígeno) resultaran:

N.° 1	Concentración fisiológica	8,5	‰
" 2	"	8,5 x 2	‰
" 3	"	8,5 x 5	‰
" 4	"	8,5 x 7,5	‰
" 5	"	8,5 x 10	‰
" 6	"	8,5 x 15	‰
" 7	"	8,5 x 20	‰

Se utilizó para todas las experiencias la misma forma de diluciones de los sueros y distribución de sueros y antígenos que para el esquema cuadro N.° 1. (Ver dicho cuadro, página 511).

A fin de obtener las concentraciones finales deseadas, era necesario tomar en cuenta la concentración del suero en examen, a quien consideramos con un valor isotónico igual a 8,5 ‰ de cloruro de sodio, de manera que al montar las reacciones los elementos a agregar debían llevar un "surplus" salino para compensar aquel defecto. Esta compensación no podía ser obtenida por la solución salina, que iguala los volúmenes a 0,5, porque se agregan cantidades variables para cada tubo y, además, para las concentraciones elevadas no lo permitiría la solubilidad del cloruro de sodio. Quedaban dos caminos: el 1.°, compensar el suero, en examen con el líquido para obtener la dilución (A) del suero, preparar la dilución B. con la solución de concentración buscada (ver para estas diluciones, página 511), la que serviría para igualar los volumenes y preparar el antígeno con el mismo grado de concentración salina. Pero, como a fin de evitar diferencias apreciables, los antígenos debían ser preparados a partir de una misma suspensión microbiana, en solución salina fisiológica, era necesario otra solución salina más para compensar aquella. El 2.°, armar las reacciones hasta el volumen de 0,5 (para cada tubo) con la técnica habitual de solución fisiológica y hacer

toda la compensación salina con el antígeno, el que es agregado en volúmenes iguales, — 0,5 c.c. — para cada tubo. Esta técnica se adoptó para las concentraciones 2, 3, 4 y 5; pero, no fué posible para la 6 y 7 por el grado de concentración a que era menester llevarlo y que no lo permitía, o sólo con dificultades la solubilidad del cloruro de sodio.

Preparación de los antígenos

Como lo hemos referido, a fin de evitar diferencias apreciables por errores de comparación en la concentración de los antígenos se partió para todos ellos de una única suspensión concentrada de brucelas, en solución fisiológica, titulada para obtener los antígenos a usar diluyendo 10 c.c. de esa suspensión en 100 c.c. de cada concentración salina adecuada, llevando estas soluciones salinas al grado de concentración necesario para compensar los demás elementos para las concentraciones N.º 2, 3, 4 y 5, y solamente para el antígeno, para los números 6 y 7, dado que en estos para las diluciones de suero las compensaciones se hicieran con las soluciones salinas empleadas para las primeras diluciones.

Salvo los casos que se indican especialmente, las reacciones se hicieron a 37º con lectura de los resultados a las 24 horas.

En tales condiciones se observa lo siguiente:

1.º) La sensibilidad no es modificada de modo apreciable hasta la concentración salina N.º 4 (8,5 x 7,5 ‰); a partir de la concentración N.º 5, los títulos aglutinantes tienden a atenuarse, siendo muy sensible la atenuación, llegando en algunos sueros a la casi desaparición en las concentraciones 6 y 7, (ver cuadro N.º 8).

2.º) Las floculaciones no específicas se atenúan rápidamente ya a partir de la concentración N.º 2 (8,5 x 2 ‰), y desaparecen totalmente en las concentraciones más elevadas, (ver cuadro N.º 8).

3.º) Los fenómenos de Zonas se atenúan y tienden a desaparecer hacia la concentración N.º 4, para luego reaparecer, a medida que la concentración salina acentúa su acción de detención sobre la aglutinación, (ver el mismo cuadro).

C. — INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION EN ELECTROLITOS SOBRE LAS FASES DE ABSORCION DE LAS AGLUTININAS Y DE AGLUTINACION DEL ANTIGENO

Si con un mismo suero montamos reacciones a las distintas concentraciones salinas, (hacemos las lecturas primero del modo habitual y después centrifugamos todos los tubos y sustituímos las diversas soluciones salinas por suero fisiológico), observamos:

1.º) La substitución de las soluciones salinas por solución fisiológica da lugar a la aparición en las series correspondientes, aún mismo a las concentraciones más elevadas, de una reacción de aglutinación de intensidad sensiblemente igual a las de las concentraciones salinas bajas, demostrando así: que la acción de detención no se ejerce sobre la fase de absorción de la aglutinina, sino sobre la fase de aglutinación. (Ver cuadro N.º 9).

2.º) Si en lugar de esperar las 24 horas para hacer la lectura, centrifugamos y hacemos la substitución por solución fisiológica, ya a las dos horas de montada la reacción, observaremos que se produce el mismo hecho (ver cuadro N.º 10), las aglutinaciones, aún en las series correspondientes a las concentraciones salinas más elevadas, aparecen con toda su intensidad, probando así que la absorción de las aglutinas, aún interviniendo un factor de detención del fenómeno de aglutinación, se hace rápidamente, lo que permite suponer que la absorción no solamente no es impedida, sino que es poco o nada modificada en su velocidad. Aunque es muy probable que la centrifugación acentúe la aglutinación, en nada invalida esas conclusiones.

RESUMEN

PRIMERA PARTE

1.º) El Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería (Uruguay) utiliza actualmente para el dignóstico por suero-aglutinación en la Enfermedad de Bang, una técnica con antígeno concentrado, método de Huddleson modificado, y una técnica lenta como Standard. La primera se utiliza para la separación rápida de los sueros con indicios de aglutininas y la segunda para la clasificación definitiva de los resultados.

2.º) La técnica lenta Standard, se hace según el sistema de diluciones crecientes del suero, igualando los volúmenes con solución salina fisiológica a 0,5 c.c., y el agregado, de 0,5 c.c. de un antígeno standardizado a 1.600 millones de gérmenes por c.c. (con un enturbiamiento igual al obtenido por 0,5 de una solución de cloruro de bario $\frac{m}{100}$ más 0,5 de ácido sulfúrico al 1 $\%_{00}$, más 4 c.c. de agua), ésta concentración resulta aproximadamente igual al tubo N.º 2 de Brown. En la mezcla suero más antígeno (reacción montada) igual a la mitad.

Los antígenos de nueva preparación son además controlados con los anteriores en cuanto al grado de enturbiamiento (con tubos cerrados a la lámpara) y en cuanto a sensibilidad con un mismo suero.

3.º) Las reacciones tienen lugar a 37º durante 24 horas, no obstante, los resultados de las investigaciones practicadas permiten presumir fundadamente que la técnica podrá ser modificada con beneficios apreciables, de acuerdo con las conclusiones que se expresarán más adelante.

4.º) Como norma para la clasificación de los resultados en lo que respecta a la profilaxis de la enfermedad en el país, se han tomado los siguientes títulos:

Aglutinaciones parciales francas (++ o más) a 1/25 .... Dudosa
Aglutinaciones parciales débiles (+ 1/50) ..... Dudosa
Aglutinaciones parciales fuertes (++ o más) a 1/50 Positiva débil
Aglutinaciones totales (++++) a 1/50 ..... Positiva franca
Aglutinaciones totales a 1/100 (o más) ..... Positiva intensa

Los títulos más bajos son considerados negativos.

SEGUNDA PARTE

1.º — La temperatura de 45º hace desaparecer los fenómenos de floculación no específica; suprime la pululación microbiana, tiende a disminuir la intensidad de los fenómenos de Zona sin afectar de un modo apreciable la sensibilidad de la reacción.

2.º — El estudio de la influencia de las concentraciones salinas demuestra:

a) Que un grado creciente hace desaparecer las floculaciones no específicas.
b) Que igualmente atenúan los fenómenos de Zona hasta cierto grado, para luego aparecer acentuados por efectos de la acción de detención sobre la aglutinación.
c) Que la sensibilidad no es modificada hasta un cierto grado de concentración (aproximadamente de 8,5 x 7,5 por $^{o}/_{oo}$ de cloruro de sodio en la reacción montada), pasado el cual tiende a aparecer una acción de detención sobre la fase de aglutinación que llega a extinguirla.
d) La fase de absorción de la aglutina no es modificada, en su efecto cuantitativo, ni, sensiblemente, en la velocidad.

3.º — Los hechos anotados pueden servir de base para una nueva técnica que será motivo de un trabajo posterior.

CUADRO N.º 6

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA FLOCULACION

Las reacciones son colocadas durante 24 horas a las temperaturas que se indican.

Títulos aglutinantes: escala de dilución del suero de 1/25 a 1/800.

Suero Nº	1	2	3	37° 4	5	6	7	8	9	1	2	3	42° 4	5	6	7	8	9	1	2	3	43° 4	5	6	7	8	9
8456	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8361																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	#	#	−	−	−	−	−	−	+	+	#	#	#	#	#	#	#									
9305																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	#	#	#	#	#	#	+	+	#	#	#	#	#	#	#	+									
10560																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−									
10566																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−									
10567																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−									
10570																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−									
10544																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	#	#	+	−	−	−	−	−	−	+	#	#	#	#	+	−	−	−									
10599																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	+	−	−	−	−	−	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#									
10604																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−									
10629																			+	+	+	+	+	+	+	+	+
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−									

CUADRO N.º 7

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS FENOMENOS DE ZONA

Las reacciones son colocadas durante 25 horas a las temperaturas que se indican

Suero Nº.	a 37°									a 42°.									a 45°								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
9283	+	++	++	++	++	++	+	+	+	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9307	–	–	–	++	++	+	+	+	–	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9275	–	++	++	–	–	–	–	–	–	+	++	++	+	+	–	–	–	–	++	++	++	++	++	++	++	–	–
9539	+	+	+	++	+	+	+	–	–	+	++	+	+	+	+	+	–	–	++	++	++	++	++	+	++	++	–
9074	++	++	++	+	+	–	–	–	–	+	++	++	++	+	+	+	–	–	++	++	++	++	++	++	+	–	–
9095	+	++	+	–	–	–	–	–	–	++	++	++	++	++	+	+	+	–	++	++	++	++	++	++	++	+	–

CUADRO N.º 8

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION SALINA

Suero N°.	Ne Cl. en grs. por mil.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		fl.			fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
10599	8,5	−	⊤	−	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 2	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
	8,5 X 5	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
	8,5 X 7,5	+	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
	8,5 X 10	−	⊤	⧺	⧺	⧺	⊤	−	−	−
	8,5 X 15	−	−	⊤	⧺	⧺	⧺	⧺	+	⊤
	8,5 X 20	−	−	−	⧺	⊤	−	⊤	−	−
		fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
10604	8,5	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 2	⧺	⧺	+	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 5	⧺	⧺	+	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 7,5	⧺	⧺	⊤	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 10	⧺	⧺	⊤	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 15	⧺	⧺	−	−	−	−	−	−	−
	8,5 X 20	⊤	+	⊤	⊤	−	−	−	−	−

Suero N°,	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
10629	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	⧺	ø	⧺	+	+	⊤	⊤	−	−
	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⊤	−	−	−
	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⊤	−	−	−
	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⊤	−	−	−
	+	⧺	⊤	⧺	+	⊤	−	−	−
	⊤	+	⊤	⊤	−	−	−	−	−
	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
10693	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
	⧺	⧺	+	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺

CUADRO N.º 9

La influencia de detención de las altas concentraciones salinas se ejerce principalmente sobre la "fase de aglutinación" y nada o casi nada sobre la fase de absorción de las aglutininas.

Reacción 37.º durante 24 horas; centrifugación y sustitución de las soluciones salinas por solución salina fisiológica, lectura a las 24 horas de temperatura ambiente.

SUERO N.º 10585 — DILUCIONES DEL 1/25 AL 1/800

Concentraciones en Na.Cl.grs. por mil	Primera lectura. 24 horas a 37°.									Segunda lectura.- Después de centrifugados sustitución de los líquidos por S. fisiológico.									-24 horas a temperatura ambiente.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
8,5	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	−										
8,5X2	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	−										
8,5X5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	−	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	−	
8,5X10	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	−	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	−	
8,5X20	+	+	+	+	+	+	−	−	−	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	+++	−	

CUADRO N.º 10

Prueba que la absorción de las aglutininas por el antígeno, tiene lugar en muy breve plazo. Además corrobora la experiencia anterior, en el sentido que la acción de detención de las altas concentraciones salinas obra principalmente sobre la "fase de aglutinación" y nada o casi nada sobre la absorción.

Reacción a 37.º a las dos horas, se centrifugan los tubos y las soluciones salinas son sustituídas por solución fisiológica, lectura inmediata y otra a las 24 horas de permanencia a la temperatura ambiente.

SUERO N.º 11181. — DILUCIONES DEL 1/25 AL 1/800

Concentraciones de Na.Cl en gramos por mil	Primera lectura a las 2 horas.									Segunda lectura.-Centrifugación a las 2 hrs.Sust. del líquido.Lectura inmdts.									Tercera lectura.-á las 24 hrs.de la centrifugación y sust.salina.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8,5	++++	+	–	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	–	–	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	–
8,5X2	++++	++++	–	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	–	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	–
8,5 X 5	++++	++++	–	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	–
8,5 X 7,5	++++	++++	+	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	++++	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	–
8,5 X 10	++++	++++	+	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	+	+	–	–	–	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	–
8,5 X 15	+	+	+	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	++++	++++	++++	++++	+	–	–	–	–
8,5 X 20	+	–	–	–	–	–	–	–	–	++++	++++	++++	++++	+	+	–	–	–	++++	++++	++++	++++	–	–	–	–	–

EPIZOOTOLOGIA DE LA BRUCELOSIS EN EL URUGUAY

(CON LA COLABORACION DE LOS Dres. A. TORTORELLA Y B. SZYFRES)
Publicado en *"Número Científico de Acción Sindical"* - Año VII - N.º I, 1945 - Montevideo

La brucelosis presenta dos problemas principales: uno es de orden médico, es decir, de salud pública, y el otro es de sanidad animal y pecuniario.

Entre las enfermedades que afectan nuestra ganadería, la brucelosis ocupa un lugar preferencial en cuanto a difusión y tamaño de las pérdidas económicas que ocasiona. La industria madre del país paga a esta enfermedad un enorme tributo, expresado en gran número de abortos, merma de leche y esterilidad de muchos vientres.

En Estados Unidos de Norte América, que posee un stock de 68 millones de cabezas de bovinos se calcula que las pérdidas anuales provocadas por la enfermedad de Bang, sobrepasan los 30 millones de dólares.

San Miguel, calcula para Chile, que posee 250.000 cabezas de ganado lechero, de los cuales aborta no menos del 15 %, una pérdida anual de 37.000.000 de pesos chilenos (más o menos 2 millones de pesos m/u.).

Sustituyendo estos números por los que corresponden a nuestro medio, con su stock ganadero e índice de infección correspondientes, se apreciará las ingentes sumas de dinero —probablemente varios millones de pesos— que se pierden en aras de esta zoonosis.

El problema de la infección en el hombre está íntimamente ligado al problema sanitario de los animales. Las brucelosis humanas se nutren casi exclusivamente —si se hace caso omiso de los pocos y raros casos descriptos de la propagación interhumana— del contagio animal, fuente y origen de la infección en el hombre.

En la profilaxia de la enfermedad de los animales, reside también la prevención del contagio humano y la disminución correlativa de su frecuencia.

La lucha contra la brucelosis en el Uruguay ha pasado por muchas vicisitudes y por varias etapas, ha experimentado un adelanto en los últimos dos años, pero va a tener que ser intensificada y ampliada, si se quiere llegar a resultados más promisorios en la brega por la limitación y extirpación de la enfermedad. El presente

trabajo no tiene otro objeto que el de contribuir al mejor conocimiento del medio epizootológico, dando a conocer el grado de difusión del mal en nuestro país, premisa indispensable para la elaboración de un plan de lucha.

Por razones de exposición dividiremos este trabajo en los siguientes capítulos:

1) Brucelosis en los bovinos.
2) Brucelosis en los suinos.
3) La investigación epizootológica en otras especies animales.

1) LA BRUCELOSIS EN LOS BOVINOS

La enfermedad de Bang es hoy en día una de las enfermedades más difundidas del mundo. En lo que respecta a los países sudamericanos, la brucelosis fué comprobada en casi todos los países, faltando datos de algunos de ellos, como por ejemplo Bolivia. El aborto en forma epizoótica en los bovinos, es conocido desde hace mucho tiempo en el Río de la Plata.

En 1892, el profesor de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de La Plata, Dr. D. Bernier, se ocupa de este tópico, y en el año 1896 publica un trabajo, en el cual establece el carácter epizoótico de esta enfermedad. Corresponde al profesor Antonio Cassamagnaghi, Director del Instituto de Bacteriología de la Facultad de Veterinaria, el mérito de haber comprobado por primera vez la brucelosis en el país. En 1928, el mencionado investigador da cuenta de que en 1926 pudo reconocer el primer caso de infección en una vaca atacada de mastitis y de la cual pudo aislar el agente específico de la enfermedad de Bang, la Brucella abortus (Bang). De cuatro establecimientos situados en San José y Canelones, donde se han producido abortos, Cassamagnaghi encuentra, por el método de la suerorreacción, que dos estaban infectados.

A raíz de la comprobación de la enfermedad de Bang en el país, ésta es incluída, por decreto del 11 de junio de 1928, entre las enfermedades infectocontagiosas, para las cuales rigen las disposiciones de la Ley Orgánica de la Policía Sanitaria de los Animales N.º 3630.

Esta reglamentación es modificada luego, adaptándola más a las exigencias de la realidad epizootológica, hasta que queda en suspenso, por decreto del 19 de octubre de 1933, por las dificultades habidas para llevarla a la práctica en aquel entonces. Hasta 1942, no hay ninguna reglamentación respecto a la lucha contra la brucelosis, a excepción de la que se refiere a animales importados

(decreto de junio de 1934), no obstante los esfuerzos hechos en este sentido por la Dirección de Ganadería. Recién en octubre de 1942, al modificarse el Reglamento de Exposiciones, Ferias y Remates de Ganado, se incluye una parte referente a brucelosis, tendiente a disminuir en algo el peligro de la difusión de este mal y, especialmente, a evitar que un reproductor adquirido por un alto precio, vaya a infectar rodeos sanos.

Este reglamento establece que todo reproductor bovino o suino, macho o hembra, de pedigree o puro por cruza, concurrente a exposiciones, ferias y a liquidaciones de cabañas o estancias, deberá acreditar que se encuentra libre de brucelosis.

Creímos necesario dar a conocer la legislación referente a brucelosis, antes de entrar en el estudio epizootológico, pues ella nos explica las diferencias en la suma de resultados obtenidos en los análisis, practicados antes y después de la reglamentación de 1942, ya que los motivos de las pruebas suerológicas son distintos en una y otra época.

a) Resultados obtenidos en las sueroaglutinaciones practicadas en muestras de sangre, recibidas directamente por la Sección Laboratorio (con anterioridad al 7 de marzo de 1941), Sección Epizootías y de otros orígenes autorizados.

Los primeros trabajos epizootológicos realizados en nuestro país datan del mes de mayo de 1932, cuando el Laboratorio de Investigaciones (actual Laboratorio de Biología Animal, Sección de la Dirección de Ganadería) emprende un estudio sistemático con el fin de conocer el grado de extensión de la enfermedad en los tambos de Montevideo.

En el correr de los años 1932 y 1933 fueron examinadas 1.790 muestras de sangre que correspondían a vacas procedentes de 224 tambos. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coeficientes de tambos infectados en Montevideo

Año	Número de tambos inspeccionados	Número de tambos no infectados	Número de tambos infectados	Por ciento de infectados
1932	104	46	58	55,7
1933	120	62	58	48,3
Totales:	224	108	116	51,7

Este cuadro nos enseña que más de la mitad de los tambos que abastecen con leche a la población de Montevideo, poseían animales reaccionantes a la sueroaglutinación de brucelosis.

El cuadro que insertamos a continuación señala el índice de infección para las vacas lecheras en Montevideo.

Coeficiente de infección en los tambos de Montevideo

Año	Número de reacciones negativas	Número de reacciones positivas	%	Número de reacciones dudosas	%	Totales
1932	363	137	20,8	156	23,7	656
1933	799	227	20	108	9,5	1.134
Totales:	1.162	364	20,3	264	14,7	1.790

De 1.790 muestras examinadas resultaron, pues, 364 positivas, es decir, el 20,3 %, y 264 dudosas, o sea el 14,7 %.

Desde que empezaron estos estudios, hasta fines del año 1944, el Laboratorio de Biología Animal lleva efectuadas 110.000 reacciones, de las cuales cerca de 50.000 corresponden a muestras de sangre de bovinos del país. Las remisiones de muestras de sangre para la investigación de Bang, obedecieron a distintos motivos, a saber: estudio epizootológico, diagnóstico de la enfermedad en establecimientos donde se han producido abortos, saneamiento de establecimientos infectados, exportación, y desde 1942, el dar cumplimiento a la Reglamentación de Exposiciones, Remates y Ferias.

Presentaremos en primer término un cuadro, que nos ilustra sobre el número y porcentaje de establecimientos infectados, de acuerdo al conjunto de los análisis practicados desde el año 1932 hasta 1944. Se ha clasificado como infectado, todo establecimiento donde se haya comprobado reacciones francamente positivas, figurando los establecimientos que han acusado solamente reacciones dudosas entre los no infectados. Además, debemos advertir que muchos de los establecimientos clasificados como no infectados, remitieron un escaso número de muestras y muchas veces solamente de bovinos machos, entre los cuales el porcentaje de infección es siempre menor. Este hecho, que haría aparecer el cuadro como demasiado optimista, es contrabalanceado, por otra parte, por la circunstancia de que muchos establecimientos pidieron la extracción de muestras de sangre, sospechando la enfermedad en sus rodeos.

Coeficientes de establecimientos infectados, según departamento (con excepción de Montevideo)

Departamento	Número de establecimientos no infectados	Número de establecimientos infectados	Por ciento de infectados	Total establecimientos examinados
Soriano	31	18	36,7	49
Río Negro	34	21	38,1	55
Paysandú	31	15	32,6	46
Salto	24	3	11,1	27
Artigas	9	4	30,7	13
Rivera	15	7	31,8	22
Tacuarembó .	25	13	34,2	38
Cerro Largo ..	25	9	26,4	34
Treinta y Tres	10	2	16,6	12
Durazno	19	10	34,4	29
Florida	29	22	43,1	51
Flores	11	5	31,2	16
Rocha	20	8	28,5	28
Lavalleja	17	4	19,0	21
Maldonado ..	12	1	7,6	13
Canelones ...	37	13	26,0	50
San José	18	7	28,0	25
Colonia	30	19	38,7	49
Totales: ..	397	181	31,3	578

De este cuadro se desprende, que de 578 establecimientos, que por uno u otro motivo han remitido muestras de sangre de bovinos, 181 de ellos, o sea el 31,3 %, poseían vacunos reaccionantes a la suerorreacción de brucelosis.

El cuadro que sigue (en la página siguiente) se refiere al coeficiente de animales reaccionantes, clasificados según los departamentos de procedencia.

De estos números se deduce que de 49.733 reacciones practicadas en sangre de bovinos el 6,1 % resultaron positivas y el 2,3 % dudosas, acusando los departamentos de Montevideo, Florida, Maldonado y Cerro Largo los porcentajes más altos. En lo que respecta al departamento de Maldonado, debemos aclarar que la totalidad de la muestras positivas corresponden a un solo establecimiento y debido al escaso número de muestras remitidas de este departamento, el porcentaje de positivas aparece excesivamente alto.

Ya habíamos dicho al principio, que la reglamentación vigente en cada época —o ausencia de ella— ha ejercido influencia sobre los motivos de las remisiones de muestras de sangre al Laboratorio.

Resultados de las reacciones de sueroaglutinación según departamentos (1932-1944)

Departamento	Reacciones negativas	Reacciones positivas	Por ciento positivas	Reacciones dudosas	Por ciento dudosas	Total reacciones
Soriano	10.889	735	6,1	252	2,1	11,876
Río Negro	9.455	298	3,0	87	0,8	9.840
Paysandú	6.078	104	1,6	52	0,8	6.234
Salto	1.975	40	1,9	20	0,9	2.035
Artigas	718	9	1,2	9	1,2	736
Rivera	512	20	3,7	6	1,1	538
Tacuarembó	2.187	325	12,5	71	2,7	2.583
Cerro Largo	768	122	13,4	20	2,1	910
Treinta y Tres	150	2	1,3	—	—	152
Durazno	1.579	80	4,7	35	2,0	1.694
Florida	1.769	370	16,2	145	6,3	2.284
Flores	815	35	4,0	14	1,6	864
Rocha	1.526	117	7,0	24	1,4	1.667
Lavalleja	564	40	6,5	9	1,4	613
Maldonado	110	18	13,6	4	3,0	132
Canelones	1.249	111	7,9	40	2,8	1.400
San José	472	50	9,3	12	2,2	534
Colonia	2.717	142	4,8	55	1,8	2.914
Montevideo	1.616	403	17,5	282	12,2	2.301
Ubicación no indicada	393	21	4,9	12	2,8	426
Totales	45.542	3.042	6,1	1.149	2,3	49.733

Para evitar en lo posible cualquier interpretación equivocada a que pudieran dar motivo los cuadros estadísticos que presentamos, creemos conveniente indicar por separado los resultados obtenidos antes y después de entrar en vigor el Reglamento sobre Exposiciones, Remates y Ferias, de fecha 8 de octubre de 1942.

Período 1932 - 1942

Reacciones negativas	17.480	
Reacciones positivas	1.899	9,4 %
Reacciones dudosas	675	3,3 %
Total reacciones	20.054	

En este período los envíos de sangre provienen, en primer lugar, de donde hubo sospecha de que existiera la enfermedad, y en segundo lugar, de bovinos, sobre todo de reproductores machos destinados a exportación.

Período 1942-1944

Reacciones negativas	28.062	
Reacciones positivas	1.143	3,8 %
Reacciones dudosas	474	1,5 %
Total reacciones	29.679	

Como se puede apreciar, el porcentaje de reacciones positivas y dudosas es mucho más bajo en el período 1942-1944, y esto es debido a que la mayor parte de las reacciones corresponde a reproductores concurrentes a exposiciones, remates o ferias, siendo todos ellos, sin distinción, sometidos a las pruebas diagnósticas por la suero-aglutinación.

Para demostrar los índices de infección en reproductores machos y hembras respectivamente (animales puros o puros por cruza en ambos casos), tomamos de las reacciones practicadas en 1944, las que pudieron ser clasificadas en el sentido expuesto:

Indice de infección en reproductores machos

Reacciones negativas	6.265	
Reacciones positivas	21	0,3 %
Reacciones dudosas	73	1,1 %
Total	6.359	

Indice de infección en reproductores hembras

Reacciones negativas	2.828	
Reacciones positivas	259	8,2 %
Reacciones dudosas	66	2,0 %
Total	3.153	

Como se puede apreciar, los índices de infección varían enormemente según el sexo del animal.

b) Técnica del Laboratorio de Biología Animal en el suerodiagnóstico de la brucelosis.

La técnica seguida para efectuar estas suerorreacciones fué la elaborada por dos de nosotros (Rubino y Tortorella). Consiste ella en la eliminación de las muestras completamente negativas, por el método rápido, trabajando con un antígeno concentrado, especialmente estandardizado para esta clase de tarea, de manera que mez-

clando gota a gota suero y reactivo, dé un título aglutinante de $^1/_{25}$. Las muestras que acusan aglutinación —no importa con qué grado de intensidad— en el método rápido, con el antígeno al $^1/_{25}$, son sometidas a la reacción lenta de Wright, de acuerdo a la cual se dan los resultados.

Este procedimiento nos ha permitido simplificar en mucho la tarea, permitiéndonos realizar trabajos de masa en el suerodiagnóstico de la brucelosis.

c) Otros estudios sobre la epizootología de la brucelosis en los bovinos.

Para terminar este capítulo pasaremos revista sobre los estudios llevados a cabo con fines de conocimiento de la epizootología de la brucelosis bovina, por técnicos no pertenecientes a nuestro Laboratorio.

En 1934, Hormaeche y Lockhart examinan 171 muestras de sangre de bovinos, recogidas en los Frigoríficos Nacional y Artigas, resultando nueve de ellas con reacción positiva, o sea el 5,2 %.

Teófilo Pereira Fonseca, en 1939, examina 4.014 sueros de bovinos faenados en el Frigorífico Nacional, obteniendo los siguientes resultados:

De	1.372	novillos de "abasto"	dieron	resultados	positivos	el 0,51 %
De	1.291	vacas de "abasto"	"	"	"	" 7,20 %
De	912	vacas de "conserva"	"	"	"	" 5,81 %
De	239	toros de "conserva"	"	"	"	" 1,67 %
De	200	terneros de "abasto"	"	"	"	" 0 %

De un total de 4.014 muestras estudiadas y tomadas al azar, resultaron con reacciones positivas el 3,9 %.

En 1940, Scaltriti, examina en el Frigorífico Nacional 3.590 muestras de bovinos, obteniendo los siguientes resultados:

De	731	vacas de "abasto	dan	resultados	positivos	el 7,8 %
De	881	vacas de "conserva'	"	"	"	" 2,5 %
De	496	novillos de "abasto"	"	"	"	" 0 %
De	1.070	novillos de "exportación" .	"	"	"	" 0,09 %
De	117	terneros de "abasto 3.ª" ..	"	"	"	" 1,44 %
De	240	terneras de "abasto"	"	"	"	" 0,15 %
De	55	terneros de "abasto"	"	"	"	" 0 %

En 1942, Pradines Brazil estudia el índice de infección en los animales sacrificados en el Frigorífico Anglo (Fray Bentos), encontrando que de 774 bovinos examinados, dan resultados positivos el 2,5 % y sospechosos el 1,4 %.

2) BRUCELOSIS SUINA

En los últimos dos años hemos comprobado en el país varios focos de brucelosis suina. Este hecho tiene trascendencia desde el punto de vista médico sanitario, pues la Brucella suis (Traum) es la especie que, después de la Brucella melitensis, más virulenta se ha mostrado para la especie humana.

Se plantea la pregunta: ¿no había antes de 1943 brucelosis suina en el país? Sospechamos que sí la había, aunque de escasa difusión. Nuestra suinicultura es en gran parte de formación argentina. La importación de reproductores suinos es constante. Si se tomara en cuenta la gran difusión de la brucelosis suina en la República Argentina, se deducirá de ello el peligro que existe de la infiltración de algunos sujetos infectados, cuyo examen suerológico podría coincidir con el período de incubación. Autores como Hadley y Beach, Hayes, Cotton, Schroeder y Cotton, Thomsen, que se han dedicado a investigaciones sobre la brucelosis de los cerdos, afirman que esta especie tiene la particularidad de producir lenta y débilmente los anticuerpos (especialmente aglutininas) en respuesta al antígeno brucélico, y que estos pueden desaparecer rápidamente, quedando a veces la infección. Ahora bien, una reacción negativa a la sueroaglutinación en la especie bovina, no es tampoco una garantía absoluta, siempre que el animal no provenga de un rodeo libre, pero en los cerdos este problema sería más agudo —si nos atenemos a lo expuesto más arriba— y sobre todo en materia de importación, donde es difícil de conocer los antecedentes del establecimiento de origen.

Como dato ilustrativo sobre el índice de infección de los cerdos en la República Argentina, creemos de interés dar a conocer un resumen sobre los resultados obtenidos por nuestro Laboratorio en 43.884 cerdos examinados en tres grandes criaderos, en los frigoríficos "Anglo" de Buenos Aires, "La Negra" de Avellaneda, "Swift" de Rosario y "Armour" de La Plata, y en el Mercado de Hacienda de Liniers, es decir en los puntos más importantes de concentración de animales en las República Argentina. Los animales que eran destinados al consumo de la población de Montevideo, procedían de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba y Gobernación de la Pampa, y eran uniformes en cuanto a edad y peso, a saber: un año más o menos de edad y de 120 a 140 kg. de peso, predominando los machos castrados en cuanto a sexo se refiere y los Duroc Jersey, en cuanto a raza.

De los 43.884 animales inspeccionados fueron rechazados 6.710 reaccionantes, es decir el 15,2 °/₀₀ (tomar en cuenta de que la inmensa mayoría de los animales eran machos castrados, circunstancia ésta que indudablemente haya influído aún en rebajar el índice de infección). Datos de interés nos ofrecen también los coeficientes encontrados en los tres establecimientos arriba mencionados:

Establecimiento "A". — Provincia de Santa Fe: De un total de 312 animales, resultaron positivos 36, o sea el 11,5 %.
Establecimiento "B". — Provincia de Buenos Aires: De un total de 2.641 animales, fueron rechazados 896, o sea el 33,9 %.
Establecimiento "C". — Provincia de Córdoba: De 1.639 fueron rechazados 491, o sea el 29 %.

En esta labor han colaborado los doctores Santiago Lansot y Luis A. Sisto de la Sección Importación y Exportación de la Dirección de Ganadería; y Juan A. Rodríguez García y A. Errandonea de parte del Laboratorio de Biología Animal. La técnica empleada fué el método rápido, de gota a gota, realizándose los análisis en el lugar de concentración de los animales.

Veamos ahora los resultados obtenidos en el suerodiagnóstico de la brucelosis en los cerdos del país. Con fecha 21 de setiembre de 1933, el Laboratorio recibe cinco muestras de sangre de Florida, acusando una de ellas una aglutinación al título $^1/_{240}$ y otra parcial en $^1/_{30}$. No siempre es fácil fallar, si una reacción positiva es específica, cuando se presenta aislada, pero un título aglutinante tan alto como el que indicamos da serios motivos para una vehemente sospecha de la existencia de la infección. Axel Thomsen, realizando investigaciones suerológicas en zonas no infectadas de Dinamarca, como por ejemplo en la isla de Tunen, encuentra de un total de 1.817 muestras de sangre, 40 con una aglutinación al título $^1/_{20}$ y 2 al $^1/_{50}$. Pero este mismo investigador sostiene "que una aglutinación al título $^1/_{100}$ será siempre considerada como francamente positiva, aunque en algunos casos, muy raros, puede encontrarse aglutinaciones no específicas a este título (o aún a título mayor)". El mencionado autor no dice en qué basa esta última afirmación.

El mismo año (1933) entran de la República Argentina 303 cerdos, de los cuales 192 resultan positivos y 29 dudosos, por lo cual se procede al sacrificio total de los animales. Con sangre de este lote de cerdos importados, hacemos inoculaciones experimentales a cobayos, aislando Hormaeche de uno de ellos una cepa de Brucella suis.

Desde el año 1933 al 41 se practicaron 350 reacciones de suinos del país, comprobándose 9 dudosas. De éstas, 204 muestras fueron remitidas a nuestro Laboratorio del Frigorífico Nacional y 42 del departamento de Maldonado, a pedido de la Comisión de Brucelosis, designada por el Poder Ejecutivo con fecha 6-VII-33, con el objeto de estudiar la epizootología de esta enfermedad y programar las medidas profilácticas para combatirla. Las muestras restantes provenían de doce criaderos distintos, repartidos en los departamentos de Florida, Colonia, Maldonado, Montevideo, Salto, Río Negro, San José y Rocha.

En el año 1941, Scaltriti examina 588 muestras de sangre de

cerdos faenados en el Frigorífico Nacional, encontrando una muestra con una aglutinación parcial fuerte al título $^1/_{100}$.

Pradines examina en el mismo frigorífico 751 muestras de sangre de suinos, encontrando cuatro muestras dudosas.

En el año 1943 podemos comprobar un criadero infectado y aislamos por primera vez Brucella suis en cerdos del país. La infección del establecimiento se produjo a raíz de la introducción en octubre de 1942, de una hembra procedente de la República Argentina, con sueroaglutinación negativa. Esta cerda aborta en febrero de 1943, y según informes del señor Inspector Veterinario Regional de Pando, Dr. Luis Iraizoz, que fué quien hizo la extracción de las muestras de sangre, para realizar la investigación; en junio y julio del mismo año abortaron doce hembras del mismo establecimiento. En la primera extracción de muestras de sangre, de un total de 95 suinos, se comprueban 42 positivas y 13 dudosas.

En el año 1944 se encuentran dos focos más de brucelosis suina. Los tres establecimientos infectados, cuya ubicación se encuentra en el departamento de Canelones, fueron intervenidos inmediatamente por la Dirección de Ganadería —con el celo que la caracteriza— sacrificándose todos los animales e indemnizando a los propietarios por su pérdida.

No es difícil que haya más focos de brucelosis suina en el país, especialmente en la zona de su mayor explotación, pues muchas veces el propietario del criadero no se percata de su existencia, dado que frecuentemente falta una sintomatología clínica y que mismo el aborto puede no existir, y cuando existe varía mucho según cada establecimiento.

En lo que respecta a importación de cerdos, el Laboratorio de Biología Animal sigue el criterio de considerar como sospechosos de infección a todo suino que presente, aunque más no fuera, indicios de aglutinación al título $^1/_{25}$, y ha aconsejado, en varias ocasiones, el rechazo total de lotes que acusaron índices altos de infección.

3) INVESTIGACIONES EN OTRAS ESPECIES

La poca importancia que tiene la explotación caprina en el país (según el censo de 1937 había 28.129 cabezas en toda la República), explica el escaso número de muestras de sangre de esta especie remitidas al Laboratorio. En total fueron examinados, con resultado negativo, 9 muestras del país y 14 de animales importados. No se encontró tampoco ningún caso de melitococcia en la especie humana.

En lo que respecta a la introducción de caprinos al país, el reglamento sobre importación y exportación de animales, de fecha 8

de junio de 1934, establece: "Art. 32.—Caprinos: Cumplirán una observación mínima de diez días, durante los cuales se investigará en ellos la melitococcia, procediéndose al rechazo de la totalidad del lote en caso de comprobarse reacciones positivas".

Cabe recordar también, que de los países limítrofes, la República Argentina tiene extensas zonas de infección a Brucella melitensis, reconocida ya en el año 1930 por Sordelli y D'Alessandro. En el Brasil el germen no fué aislado de las cabras, pero Parreiras Horta encuentra en el Estado de Río de Janeiro y en el de Ceará algunos casos de sueroaglutinaciones positivas en caprinos, habiendo ya descripto antes este hallazgo Artigas, en el Estado de San Pablo. Amaral Rogick, basándose en un examen reciente de 1.000 sueros, cree que actualmente la melitococcia es inexistente en San Pablo, si bien confirma su existencia en otros Estados, especialmente en los fronterizos.

En el transcurso de los doce años que median entre 1932 y 1944, se han analizado 2.834 muestras de sangre de ovinos, procedentes de los departamentos de Soriano, Río Negro, Paysandú, Cerro Largo, Artigas, Treinta y Tres, Florida y San José, obteniéndose en todas ellas resultado negativo a la sueroaglutinación. Resultados negativos arrojaron también las 1.801 muestras de sangre de reproductores ovinos, importados de los siguientes países: Argentina, Inglaterra, Nueva Zelandia, Australia, Estados Unidos de Norte América y Brasil.

Entre las especies sensibles, figura también la equina, que es susceptible de infectarse con cualquiera de las tres especies del género. El agente de la brucelosis provoca en los yeguarizos procesos inflamatorios de las bolsas sinoviales, ligamentos y tendones, en especial modo a los del pescuezo, siendo considerado hoy en día como uno de los principales agentes etiológicos de las afecciones llamadas "mal de cruz" y "mal de nuca". Estas afecciones son bastante frecuentes en los equinos del Uruguay, pero hasta el presente no hay ninguna comunicación sobre el aislamiento de la brucella de estas lesiones. La brucelosis equina puede tener cierta significación en la profilaxia de la enfermedad de Bang, pues podría jugar el papel de "reservoir" de virus, por lo que nuestro Laboratorio se propone actualmente estudiar con más amplitud la situación de esta especie frente a la infección, solicitando a los veterinarios regionales el envío de muestras de sangre de los equinos de los establecimientos que se abocaron a sanear sus haciendas.

Los 56 equinos cuya sangre fué analizada por nosotros, no acusaron aglutinación. El mismo resultado obtuvimos en 619 equinos importados.

La infección en caninos y felinos no fué estudiada en el país. En lo que respecta a las aves domésticas, Pradines investigó 200

muestras de suero de gallináceas y 178 de pavos, no encontrando reacciones positivas. Por una comunicación verbal supimos que el Centro de Brucelosis del Banco de Seguros, ha encontrado últimamente en varias gallinas, que vivían en contacto con vacas infectadas, aglutinaciones al título de $^1/_{100}$, y que están procurando ahora aislar el agente patógeno.

CONCLUSIONES

La brucelosis en la especie bovina está muy difundida en el país.

De 578 establecimientos repartidos por toda la República que hemos estudiado, 181, o sea el 31,3 %, resultaron infectados. De 49.735 muestras de sangre de bovinos, remitidas por sospecharse la enfermedad, o con fines de saneamiento o para dar cumplimiento a las disposiciones legales, resultaron positivos el 6,1 %.

Más de la mitad de los tambos de Montevideo estaban infectados, según estudios hechos en 1932-33, alcanzando el índice de infección de los animales examinados a más de 20 %.

La legislación actual con respecto a brucelosis significa un adelanto, pero como bien dice el preámbulo del Reglamento de Exposiciones, Ferias y Remates, es "una forma parcial" de enfrentar la lucha contra la extensión del mal. Una medida complementaria que se impone — antes aún de encarar un programa de saneamiento de nuestras haciendas— es la de declarar nula toda venta de vientres que no vaya acompañada de certificado de "libre de brucelosis".

Hemos encontrado tres focos de brucelosis suina en el departamento de Canelones, aislando su germen causante. Aunque la brucelosis en los suinos no está —según todas las presunciones— extendida en el país, es conveniente emprender una pesquisa metódica, para conocer exactamente su grado de difusión, localizar sus focos y tomar medidas para extirparlos.

Hasta ahora no se encontraron casos animales ni humanos a Brucella melitensis.

No ha sido descripta, en el país, la infección en equinos, caninos y felinos.

El Centro de Brucelosis encontró en un establecimiento con bovinos infectados, varias gallinas reaccionantes a la sueroaglutinación.

BIBLIOGRAFIA

Forest Huddleson. — Brucelosis in Man and Animals.

Purriel (P.), Risso (R.), Espasandin (J.). — Brucelosis. Estudio de esta enfermedad en el Uruguay.

Thomsen (A.). — Brucella Infection in Swine.

Cassamagnaghi (A.). — Enfermedad de Bang. *Boletín de la Policía Sanitaria de los Animales.* Año XII, N.º 1, 1928.

Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. Año 18, N.º 7, 1939.

Censo Agropecuario 1937. Ministerio de Ganadería y Agricultura.

Hormaeche (E.) y Lockhart (G. P.). — Algunos estudios sobre la brucelosis en el Uruguay. *"Arch. Urug. de Med., Cir. y Espec."* T. V, N.º 5, 1934.

Pereira Fonseca (T.). — Coeficiente de infecciones a brucella en animales sacrificados en el Frigorífico Nacional. *Boletín de la Dirección de Ganadería.* Año XXIII, N.º 3, 1939.

Rubino (M. C.). — El Aborto Epizoótico o Enfermedad de Bang. *Boletín de la Pol. Sanit. de los Animales.* N.º 1, 1935.

Rubino (M. C.) y Tortorella (A.). — Sueroaglutinación en el diagnóstico de las brucelosis animales. *Boletín de la Dirección de Ganadería.* Año XXI, número 3, 1937.

Reglamento de la lucha de la enfermedad de Bang. *Boletín de la Pol. Sanit. de los Animales.* Año XIV, N.º 2, 1930.

Proyecto y Reglamento para la lucha contra la enfermedad de Bang. *Boletín Direc. Ganadería.* Año XXI, 1936-1937.

Reglamento de los cometidos de la Sección Importación y Exportación y Lazareto de la Pol. Sanit. de los Animales. *Bol. Pol. Sanit. de los Anim.* Año XVII, N.º 1, 1934.

Reglamento de Exposiciones, Ferias y Remates de Ganado del 7 de octubre de 1942. *Bol. Dirección de Ganadería.* Año XXVI, N.º 4, 1942.

Bernizoni (T.). — El Aborto Epizoótico *Boletín Dir. Ganadería.* Año XX, N.º 3, 1934.

Purriel (P.), Risso (R.), Espasandín (J.) y Pradines (N.). — Investigación sobre infección brucelar humana y animal, realizada en el Frigorífico Anglo (Depto. de Río Negro). *Arch. Urug. de Med., Cir. y Espec.* Tomo XX, N.º 4, 1942.

Hadley y Beach. — An Experimental Study of Infections Abortion in Swine-Agric. Exp. St. of the Un. of. Wisconsin. *Research Bulletin.* N.º 55, 1922.

Hayes. — Some studies in Swine Abortion. *Journal of the Am. Med. Ass.* Vol. 60, 1922.

Cotton. — *Journal of Am. Vet. Mem. As.* Vol. 66, 1925.

Lash (E.), O'Rear (H. M.). — Brucelosis of Cattle. *Year Book of Agriculture.* 1942, U. S. Dept. of. Agriculture.

Molinelli (E. A.). — Fiebre ondulante. Sus características clínicas y epidemiológicas en la República Argentina. *Semana Médica.* N.º 3, 1933.

Eichorn (A.) y *Crawford (A. B.).* — Brucelosis vacuna. *Unión Pan Americana. Publicación Agrícola.* N.º 144 y 145, 1942. Reproducido por *Gaceta Vet.* Año VI, N.º 31, 1944.

Andrieu (A.) y *Casós (G. A.).* — El aborto infeccioso de los bovinos. *Bol. Fomento Ganadero.* Año V, N.º 17, 1940.

Amaral Rogick (F.). — Brucelosis. *Boletín de Ind. Animal.* Vol 7, N.º 1 y 2, 1944.

INFORME SOBRE UNA ENFERMEDAD DE LOS LANARES

EL "ECTIMA CONTAGIOSO"

(CON LA COLABORACION DEL Dr. M. ESPANTOSO)

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXI - N.º 2, 1937

El 29 de Mayo del corriente año se recibió una nota (oficio 751/937) del Inspector Veterinario Regional de Soriano doctor Luis E. Iraizós informando sobre la aparición de una enfermedad en lanares de un establecimiento de la 7.ª Sección del Departamento

He aquí los términos de la nota:

"Los animales enfermos en su casi totalidad muestran al examen exterior lesiones en la extremidad inferior de la cabeza, consistentes en vastas erosiones epidérmicas de la piel que recubre el labio superior y que se extiende marginando ambos labios exteriormente, lesiones que se encuentran recubiertas de costras parduzcas de aspecto agrietado que se destacan con cierta dificultad y que al hacerlo dejan al descubierto la superficie dérmica y vivamente inflamada, plena de granulaciones rojizas que sangran fácilmente y focos de pus blanquecino. La inflamación local correspondiente a estas lesiones, se acompaña en forma variable de la extensión de la inflamación a las partes vecinas (encima del hocico y desde la gotera intermaxilar hasta la garganta, observándose la hinchazón de los ganglios sub-maxilares no excesiva). De las aberturas nasales trascurre mucosidad, en algunos enfermos de mucus purulenta.

"El examen de la cavidad bucal permite apreciar su estado congestivo leve, saliva espesa, viscosa y la ausencia de ulceraciones en el paladar y de vesículas de aftosa. La mucosa de las encías preséntase en general con signos de inflamación, observamos en muy pocos alguna pequeña ulceración, como un grano de maíz pequeño con contenido espeso y blanquecino; en otros, pocos, también las mucosas de las encías sobre todo la superior, además del edema presenta una zona rojiza clara (en la mayor parte de los enfermos la mucosa de las encías fuera de la inflamación citada no muestra otras lesiones). La superficie de la lengua —en algunos— se constatan erosiones variables en número —una o varias— así como en su forma o dimensiones (redondeadas y del tamaño de arroz o largadas, etc., de extensión variable hasta de un ctm. y medio).

"El aspecto general de los enfermos los muestra decaídos, con las orejas gachas, rebajados, inapetentes, y lo que comen lo hacen con dificultad. El resto de la majada (otros 600) se encuentran en buenas condiciones de nutrición (gordos), y en cuanto al campo está bien empastado existiendo bastante cardo (no se observó lesiones agudas de fiebre aftosa en las pezuñas, ni la enfermedad mencionada en otras especies animales que pueblan el establecimiento).

"El propietario mencionado, informó que los lanares del establecimiento pasaron la fiebre aftosa hace alrededor de dos meses, observando exclusivamente lesiones podales. En cuanto a la manera de cómo se presenta la enfermedad, manifiesta que en el principio se nota la aparición de pequeños granos que al abrirse por su confluencia, concluye por formar las llagas costrosas que se refieren, empezando estas localizaciones en la piel del labio superior sobre todo, murieron los animales en espacio de 5 a 7 días por inanición, pues, no prueban alimentos (la enfermedad apareció alrededor de 10 días atrás). Expresó, también, que practicó autopsias de los lanares muertos (murieron 8) no encontrando ninguna alteración de los órganos internos (ni parásitos) y observando los órganos digestivos (especialmente los intestinos) vacíos. Como medida de previsión aisló los primeros animales que se enfermaron desinfectándoles las lesiones con creolina, pero a pesar de esa medida, la enfermedad se ha propagado en forma alarmante. El suscripto practicó autopsia a un lanar (capón) con las lesiones externas ya descriptas y sólo pudo comprobar una lijera congestión en el tubo intestinal (mucosa), pocos alimentos en los estómagos e intestinos con muy poco contenido (ausencia de parásitos) así como también un lóbulo pulmonar con algunas zonas congestivas y en la lengua diversas erosiones en estado regresivo.

"NOTA. — La enfermedad transcurre sobre todo en animales jóvenes (dientes de leche y de dos dientes) y también adultos (los menos)".

Como resulta de la lectura de la precedente nota, aunque el doctor Luis E. Iraizós no llega a un diagnóstico preciso, pensando más bien que esas manifestaciones patológicas estén ligadas a la intercurrencia de una infección sobre un cuadro regresivo de la Fiebre Aftosa, hace una minuciosa descripción de síntomas y lesiones, que, agregado al material remitido orientaron fácilmente nuestras investigaciones.

INVESTIGACIONES REALIZADAS

El mismo día que se recibió el material se procedió a la inoculación de 3 ovinos, los números 418, 419 y 420. Se utilizó para ello las costras de las lesiones pustulosas, las que fueron finamente

trituradas y suspendidas en solución fisiológica. Las inoculaciones se hicieron por escarificaciones en la piel de la región de los labios y cara interna del muslo derecho de cada animal. El día 1.º de Junio, es decir, a los tres días se observa en los puntos de inoculación, una tumefacción de la piel, bien circunscrita en forma de verdaderas pápulas y ya al cuarto día de las inoculaciones se comprueban las pústulas con todos los caracteres de las descriptas para el Ectima contagioso, como lo muestra la fotografía N.º 1.

Igualmente, las inoculaciones fueron positivas en la piel de la

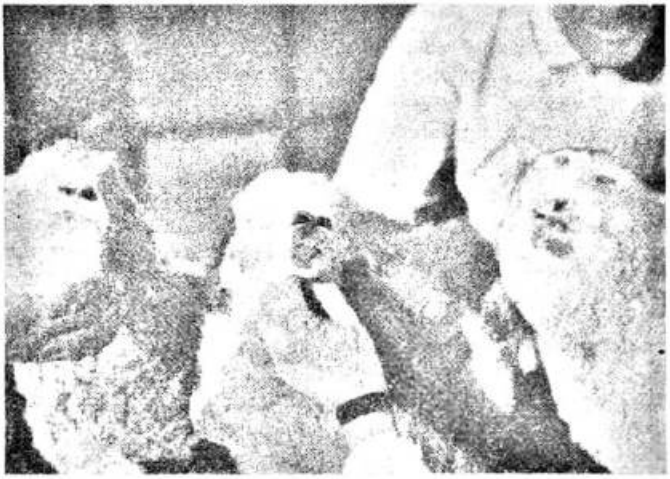


Foto N.º 1

cara interna de los muslos, región desprovista naturalmente de lana, (ver fotografía N.º 2) lo que confirma las observaciones de Arnaud.

En los días sucesivos, las pústulas se extienden a las partes circunvecinas y se hacen confluentes (fotografía N.º 3) provocando una fuerte tumefacción de los labios. En la mucosa de los labios y encías aparecen ulceraciones (estomatitis ulcerosa) hasta de un centímetro de diámetro, todo lo cual contribuye a dificultar seriamente la prehensión de los alimentos y masticación, que en la enfermedad natural lleva a los animales a la caquexia y a la muerte.

Las pústulas se recubren de costras espesas, duras, de color pardo obscuro y cuando son arrancadas arrastran consigo los pelos, dejando en descubierto el dermis tumefacto.

El día 5 de Julio se inoculan con material tomado del ovino N.º 419, los ovinos números 421 y 422. El día 7 se observa tumefacción de la piel y el 8 se comprueba pústulas, intensificándose la inflamación de la piel; en los días sucesivos aumentan las pústulas y se hacen confluentes.

Hacia el 6.º o 7.º día de la inoculación, en los casos favorables la enfermedad se estaciona, luego las pústulas se secan desprendién-

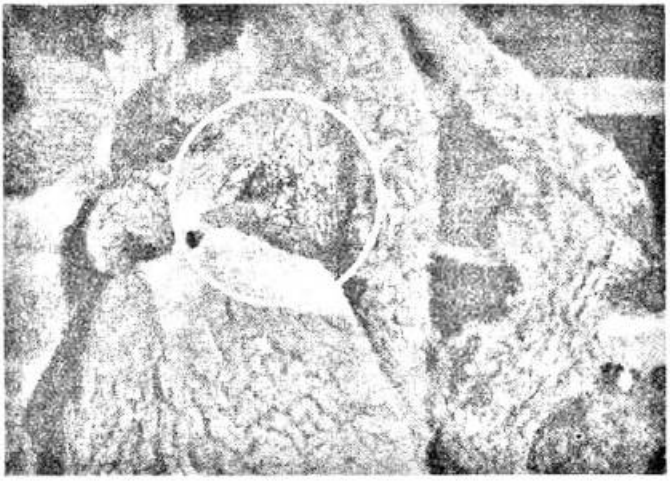


Foto N.º 2

dose las costras, apareciendo la superficie de la piel cicatrizada. La evolución de la enfermedad experimental, cuando no median complicaciones, se cumple en 10 a 15 días.

ETIOLOGIA Y PATOGENIA

El Ectima contagioso, o por lo menos enfermedades análogas en síntomas y lesiones, han sido descriptas en varios países europeos: Francia, Inglaterra, Alemania, Hungría y también en Estados Unidos de América del Norte, Australia, Nueva Zelandia, etc.

Al principio fué considerada sin ningún carácter específico, aunque se comprobó su contagiosidad. Melvín y Mohler (1910), estudiaron una enfermedad análoga en Estados Unidos de N. A., describiendo dos formas clínicas, una bucal y otra bucal y podal, y atribuyeron su origen al bacilo de la necrosis (Actynomices ne-

crophorus) o especie microbiana muy próxima a esa especie. Desde entonces, el Ectima contagioso es descripto en varios tratados entre el grupo de los necrobacilosis. No obstante, Moussu G., afirma que el Ectima contagioso, en Francia, no se debe al bacilo de la necrosis.

Investigaciones personales sobre la etiología

Con el material recibido, remitido por el doctor Iraizós, se procedió a cultivos e inoculaciones. Los cultivos en medios aerobios y anaerobios dieron solamente cocos, distintas especies, no habiendo cultivado el bacilo de la necrosis. La inoculación de material a un

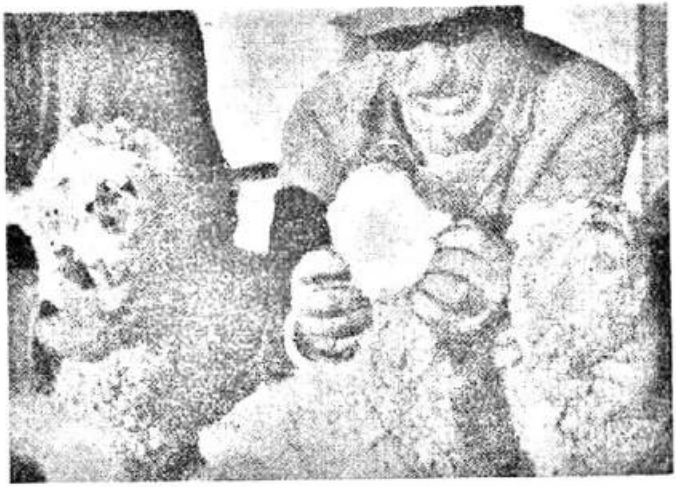


Foto N.º 3

conejo, (N.º 502), produjo la muerte del mismo en 12 a 13 días, con lesiones características de Necrobacilosis, de los cuales se aisló por cultivo el A. necrophorus.

Inoculaciones de filtrados de material infectante

El día 11 de Junio, con material retirado de los ovinos números 421 y 422, con lesiones típicas de Ectima, formado por costras, se prepara por trituración con arena estéril una fina suspensión en solución salina fisiológica. Una porción se filtra por bujía Chamberland N.º 1 y otra por la N.º 3. Se hacen las siembras de control de ambas porciones, en medios aerobios y anaerobios y se

procede a la inoculación de los filtrados por separado, el de la bujía N.º 1 al ovino N.º 424 y el de la bujía N.º 3 al ovino N.º 423. Para las inoculaciones se procede en la siguiente forma: En cada animal se eligen dos regiones, una, lado izquierdo de la cara comprendiendo los bordes de los labios y abertura nasal hasta la línea media; la otra una porción de piel aproximadamente 10 x 10 ctms. cara interna muslo derecho; a estas regiones a inocular se hizo la "toilette" con alcohol-éter.

Las inyecciones se hicieron todas intradérmicas, en puntos separados, II a III gotas en cada punto, empleando aproximadamente



Foto N.º 4

1 c.c. de filtrado para cada región de cada animal. El lado derecho de la cara, a partir de la línea media quedó sin inocular, como testigo.

Observaciones de los animales inoculados

Ovino N.º 424 (correspondiente al filtrado con la bujía N.º 1). El día 14 se observa en los bordes de los labios y de la abertura nasal, lesiones papulosas, rojas, igualmente en la piel inoculada, cara interna, muslo derecho. Día 17, aumenta el número de pápulas, y pústulas completamente formadas. Día 19, las pústulas se han hecho confluentes. Día 21, las lesiones acentuadas, costras típicas recubren el borde de los labios, y demás regiones inoculadas. Día 23, las lesiones persisten en la cara (ver fotografía N.º 4), pero re-

gresan en la piel del lado interno del muslo. Las regiones testigos: lado derecho de los labios y cara interna del muslo izquierdo han permanecido completamente libres de lesiones.

Los cultivos de control, aerobios y anaerobios, permanecieron negativos, demostrando la ausencia de formas cultivables de bacterias en el filtrado.

En el ovino N.º 423 (correspondiente al filtrado con la bujía N.º 3) se observan lesiones análogas, pero sensiblemente menos acentuadas.

Repetición de las inoculaciones con nuevos filtrados

La repetición de las inoculaciones con nuevos filtrados no tuvieron el mismo éxito, pero se comprobó luego que el mismo material, integral, no filtrado tampoco reprodujo la enfermedad en otros animales.

Las dificultades en conseguir rápidamente animales adecuados para continuar estas experiencias nos obligó a interrumpirlas por algunos días, teniendo en este momento nuevos ensayos en curso.

La enfermedad en el país

Parece que no es la primera vez que haya sido observado el *Ectima contagioso* en las majadas de nuestro país. El doctor Dutto nos ha manifestado haber observado en el mismo departamento de Soriano, hace algunos años una enfermedad con los mismos síntomas (información verbal). Además en este Laboratorio, existen fotografías (fotografía N.º 5) tomada por los doctores Heguito y Tortorella, hace varios años, a un lote de lanares traídos para experiencias de sarna, que muestran lesiones en los labios, muy probablemente de Ectima contagioso.

Últimamente el doctor Iraizós nos ha comunicado la comprobación de la misma enfermedad en otro establecimiento del Departamento de Soriano, remitiendo material para estudio, con el cual hemos reproducido nuevamente la enfermedad típica.

Evolución de la enfermedad

Cuando se inoculan animales sensibles con material infectante, se observa hacia las 48 ó 72 horas, la aparición, en los puntos de inoculación, de manchas congestivas que en término de 24 a 48 horas más se vuelven pápulas, las que son seguidas en breve plazo de la formación de pústulas, llegando a su acme entre los 6 y 8 días

a partir de la inoculación. A esta altura se comprueban en algunos animales ulceraciones en la mucosa de los labios y encías, que, a veces, se extienden a otras regiones de la mucosa bucofaringea. Aproximadamente, de los 8 a los 10 días de la inoculación los síntomas regresan, las costras se secan y se desprenden, debajo de las cuales las lesiones de la piel aparecen cicatrizadas.

En la enfermedad natural, la evolución puede ser distinta, por lo menos en un cierto número de animales, manifestándose con mayor gravedad, las pústulas aumentan en número, haciéndose confluentes con fuerte tumefacción de los labios, originada por la gran



Foto N.º 5

cantidad de pústulas y por las ulceraciones de las mucosas labial y gingibal, todo lo cual perjudica severamente la prehensión y masticación de los alimentos, llevando a los animales a la caquexia y a la muerte. En algunos animales fuertemente atacados se comprueba una secreción nasal, abundante, muco-purulenta.

En cuanto a la mortalidad, en los casos registrados hasta la fecha, no ha sido elevada; sobre 700 animales hubo sólo 8 muertos; pero, no obstante, los perjuicios son grandes, debido al estado infeccioso y a las dificultades creadas para la prehensión y masticación de los alimentos, todo lo cual apareja sufrimiento y enflaquecimiento pronunciado.

Como se contagia la enfermedad. — Su profilaxis

El Ectima contagioso, está descripto como una enfermedad muy contagiosa. Moussu manifiesta que cuando aparece un animal enfermo en una majada, todos los animales se enferman en término de algunas semanas.

En el caso que motiva el presente informe, el doctor Iraizós manifiesta que comprobó un centenar de animales enfermos sobre aproximadamente 700 y que una vez tomadas las medidas para un riguroso aislamiento de los enfermos, la infección fué detenida. En un segundo caso que relata posteriormente, el contagio parece haberse comportado del mismo modo, es decir, que el aislamiento rápido de los primeros enfermos redujo la infección a pocos animales.

Es interesante destacar, que en los diversos escritos sobre el Ectima contagioso, se menciona como factor que facilita el contagio los traumatismos ocasionados por los pastos duros y espinas y que esas circunstancias han sido puestas de relieve en los dos establecimientos del Departamento de Soriano en que se ha comprobado la enfermedad.

En uno de ellos se manifiesta: "En cuanto al campo está bien empastado, existiendo bastante cardo"; en el otro se menciona: "Según la información del propietario, la enfermedad se desarrolló en un potrero del establecimiento, en el que anteriormente plantara cebadilla, estando el campo muy bajo y con muchas espinas".

Parece, pues, muy probable, que la presencia de pastos semillados u otras plantas, tales que los cardos, capaces de producir lesiones en la piel de los labios, es un factor importante para el contagio del Ectima contagioso, lo que deberá ser tenido en cuenta para su profilaxis.

En cuanto a la profilaxis, fuera del uso de vacunas, cuyo estudio estamos realizando, son aplicables al Ectima contagioso las demás medidas generales de las enfermedades contagiosas. Entre ellas, debemos destacar el aislamiento, lo más tempranamente posible, de los animales enfermos, colocándolos en un potrero de concentración; la limpieza de las espinas y malezas del potrero, o, si ello fuera impracticable, la colocación de la majada en potrero limpio y de buenas pasturas o en avenales.

La curación de los animales enfermos podrá ser también favorecida por la colocación de los mismos en avenales o en potreros de buenas pasturas, disminuyendo así, en lo posible, los traumatismos de los labios y boca. Además, se podrá hacer aplicaciones en las partes enfermas en forma de toques, de tintura de iodo al ⅓ (tintura de iodo una parte, alcohol dos partes) o solución de sulfato de cobre al 3 %, usada tibia.

CONCLUSIONES

Se ha comprobado experimentalmente en establecimientos del Departamento de Soriano el Ectima contagioso de los lanares.

En cuanto a la etiología, especialmente en lo relacionado con la naturaleza del agente infeccioso, no obstante las experiencias realizadas y que se consignan en el presente expediente, a sólo título informativo, es necesario continuar las investigaciones, las que se encuentran en curso.

Además, este Laboratorio, realiza actualmente estudios acerca de los procedimientos de inmunización.

(Trabajo del Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería)

EL ECTIMA CONTAGIOSO DE LOS OVINOS

(CON LA COLABORACION DEL Dr. M. ESPANTOSO)
Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXII - N.º 1, 1938

2.ª COMUNICACION

En el Boletín mensual de la Dirección de Ganadería, correspondiente al trimestre Abril - Junio 1937, publicamos un informe relacionado con la comprobación experimental en nuestro país, del Ectima Contagioso de los ovinos.

Tuvo su origen ese trabajo en una observación hecha por el Jefe de la Inspección Veterinaria Regional de Soriano, Dr. Luis Iraizós, acerca de una enfermedad pustulosa de los labios en los lanares de un establecimiento de aquel Departamento.

Nuestras experiencias relatadas en esa primera comunicación, demostraron en forma concluyente, que se trataba de una enfermedad contagiosa, eruptiva, a forma pustulosa, con asiento principalmente en los bordes labiales, extendiéndose, a veces, a otras partes de la piel de la cara y a las mucosas; en suma una enfermedad identificable con el Ectima Contagioso.

Igualmente, relatamos algunas experiencias hechas en condiciones rigurosas, según las cuales la forma estudiada sería trasmisible por el filtrado por bujías Chamberland, 1, 2 y 3, del material infectante, debidamente controlado en cuanto a que estaban libres de formas visibles de bacterias.

Estos hechos constituían, pues, una prueba evidente, o por lo menos, una fuerte presunción de que la enfermedad se debía a un agente infeccioso del grupo de los virus filtrables.

No obstante esas experiencias, dado que dentro de la bibliografía científica existe discordancia entre algunos investigadores, atribuyéndole unos un origen filtrable y culpando otros al Anecrophorus, no nos pronunciamos en forma definitiva en aquella oportunidad, esperando para hacerlo el resultado de nuevas experiencias en curso.

NUEVAS EXPERIENCIAS

En Julio 14 de 1937, con costras de lesiones enviadas nuevamente por la Inspección Veterinaria de Soriano, procedentes de animales enfermos del Establecimiento ganadero N. N., se hace un

triturado en solución salina fisiológica, con ayuda de arena estéril y se inocula directamente, por escarificaciones en los labios, a un ovino N.º 442 (tatuado 439), reproduciéndose las lesiones típicas del Ectima Contagioso, (ver figura 1).

1.ª Experiencia. — El día 29 del mismo mes se prepara un triturado con las costras extraídas del ovino N.º 442, triturado que es filtrado a través de gasa estéril primero, por una bujía clarificante luego y por último por la bujía Chamberland L. 2. El filtrado es enseguida controlado en cultivos en medios aerobios y anaerobios,



Fig. 1. — Ovino N.º 442. (Tatuado 439)

que se mantuvieron estériles. Se inocula por vía intradérmica el día 30, en los bordes de los labios del ovino N.º 448 (tatuado 440), cruza, macho, de 9 meses de edad.

El día 2 de Agosto se observan máculas, el día 3 pápulas en principio de pustulación. El día 5 pústulas completamente formadas. El día 6 aparecen nuevas máculas.

2.ª Experiencia. — En Setiembre 7 de 1937, con costras de pústulas extraídas de los ovinos Nos. 451 y 454, con lesiones típicas del Ectima, se hace un triturado en solución salina y previa clarificación por papel filtro, se filtra una parte por bujía Chamberland L. 2, y otra por bujía Chamberland L. 3. De ambos filtrados se hacen

cultivos en medios aerobios y anaerobios, los que se mantienen estériles.

a) El mismo día, el filtrado por bujía, L. 2, se inocula intradérmicamente, en los bordes de los labios, lado derecho, del ovino N.º 455 (tatuado 450), mestiza, hembra de un año de edad. El día 11 se observa una mácula en el labio superior que el día 15 se transforma en pápula y el día 16 en verdadera pústula, (ver figura 2, ovino de la izquierda). El día 17 aparecen nuevas máculas, en la parte media del labio superior, que se transforma a su vez en pústulas. El día 21 comienzan a regresar hasta su curación.



Fig. 2. — Ovinos Nos. 455 y 456. [Tatuados 450 y 453].

b) En la misma fecha que (a), el filtrado por bujía L. 3, es inoculado en la misma forma y lado de los labios, al ovino N.º 456 (tatuado 453 cruza, hembra, de 10 meses de edad). El día 12 se observa una mácula en la comisura derecha. El día 13 la mácula se hace más extensa y aparecen otras. Día 14 comienza la pustulación de las máculas. Día 15 forma costrosa de las pústulas, algunas de las cuales se han hecho confluentes (ver figura 2, ovino del lado derecho). El día 19 del mismo mes las lesiones entran en regresión.

3.ª Experiencia. — En Setiembre 17 de 1937, material procedente del ovino N.º 451, es triturado en solución salina fisiológica, en las condiciones ya expuestas y filtrado, una parte por bujía Cham-

berland L. 2 y otra por L. 3, filtrados que son controlados por cultivos aerobios y anaerobios, que resultaron estériles. Se inocula por vía intradérmica, bordes de los labios, y nariz, lado derecho los ovinos Nos. 460 y 461.

a) Ovino N.º 460 (tatuado 461). Recibe filtrado de la bujía L. 2. El día 19 se observan pápulas en la comisura labial, día 20 está recubierta de una costra. Día 22 nuevas pústulas. Día 24 han aumentado su tamaño. Día 25 nuevas máculas. Día 27 pustulación de las máculas, (ver figura 3). Día 29 las pústulas se hacen confluentes y a partir del día 5 de Octubre regresan las lesiones.



Fig. 3. — Ovino N.º 460. (Tatuado 461).

b) Ovino N.º 461 (tatuado 457). Recibe filtrado de la bujía L. 3. En las mismas condiciones anteriores. El día 20 aparece una mácula. El día 23 está al estado de pústula, que el día 25 está en regresión.

En resumen, las experiencias relatadas confirman nuestras experiencias anteriores y permiten llegar a la conclusión, que el Ectima Contagioso, observado en nuestro país, es una enfermedad en que tiene participación un virus filtrable.

No obstante, de las lesiones costrosas retiradas de los animales atacados, se ha aislado frecuentemente el *Actynomices necrophorus* y es muy probable que especialmente en la enfermedad natural,

tenga alguna participación como agente de infección secundaria, determinando lesiones específicas y agravando la evolución del proceso.

DIFUSION DE LA ENFERMEDAD EN EL PAIS

En nuestra primera comunicación sólo mencionábamos, la comprobación del Ectima Contagioso en dos establecimientos del Departamento de Soriano.

Informaciones posteriores nos permiten afirmar que la enfermedad, en el curso del año 1937, tomó una difusión apreciable en el país, atacando especialmente los ovinos jóvenes y determinando perjuicios apreciables por la pérdida de animales y, especialmente por su repercusión en el estado general.

Según comunicación Of. N.º 832/1937, el Dr. T. Berninzoni comprobó el Ectima Contagioso en establecimientos del Departamento de Florida, inmediaciones de Estación Pintado. Igualmente se comprobaron casos en el mismo departamento, Rincón de Arias, y en las inmediaciones de la Estación Young, según consultas formuladas directamente a este Laboratorio.

Debemos hacer constar que, según comunicación del distinguido colega argentino, Dr. Federico Sivori, el Ectima Contagioso habría sido comprobado por él, en el país hermano, en 1932, en la Provincia de Buenos Aires, y refiere igualmente, que había sido señalado por el también distinguido colega Dr. José M. Quevedo.

(Trabajo del Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería)

COCCIDIOSIS DE LOS TERNEROS

(DIARREA ROJA)

PRIMERAS OBSERVACIONES EN EL URUGUAY. — ESTUDIO DE LA EVOLUCION DEL PARASITO

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXII - N.° 3 - 1938

En Octubre de 1918, siendo delegado de la entonces Inspección Nacional de Policía Sanitaria de los Animales, ante el Instituto de Anatomía Patológica y Parasitología de la Facultad de Veterinaria, y estando a mi cargo los ensayos de Contralor de los Garrapaticidas, tuve la oportunidad de observar en un lote de terneros destinados a aquel fin, la aparición de una enfermedad, intercurrente, caracterizada principalmente por una diarrea sanguinolenta.

Se trataba de terneros procedentes de tambos, de unos 8 meses de edad.

Los exámenes de las heces nos permitieron comprobar la presencia de una enorme cantidad de quistes de protozoarios, incluidos en mucosidades sanguinolentas; quistes que fueron identificados como los de una *coccidia*.

Posteriormente tuvimos oportunidad de comprobar nuevamente la misma enfermedad en otros lotes de terneros e igualmente el doctor Delgado Correa, nos trajo heces de terneros, clínicamente atacados de Coccidiosis, en que el examen de Laboratorio confirmó el diagnóstico.

Durante nuestra permanencia en la Estación Experimental de Epizootias de Durazno, pudimos comprobar nuevos casos de la misma enfermedad.

El doctor Guillermo Lockhart, en Febrero de 1936, intervino en el estudio de una enfermedad grave, en terneros de un tambo del Departamento de San José, practicando algunas autopsias, comprobándose tratarse de Coccidiosis de los terneros.

La Coccidiosis de los terneros, diarrea roja o "Rote Ruhr der Rinder", de los alemanes, fué descripta, como enfermedad, primeramente por Zschokke, Hesse y Guillebean, (1892-1893), en Suiza, comprobándose que en algunos años tomaba carácter epizoótico, produciendo la muerte de muchos animales.

El conocimiento de su etiología, tuvo su origen primeramente en una comprobación de Zurni (1878), quien describe, bajo la denominación de esferas o huevos de "Psorospermien", un parásito en las materias fecales de los terneros, como posible causa de una enfermedad. En el mismo año (1878), Rivolta publica una memoria sobre las "gregarinas y los psorospermas de los animales domésticos" y denomina a la especie encontrada por Zürni, Cytospermium Zürni que luego entra en la bibliografía bajo la denominación de Eimeria Zürni.

Züblin, (1908), hace un estudio minucioso de una coccidia encontrada por él en la diarrea roja de los terneros y la denomina Eimeria bovis. En 1911, Jovvett estudia en Sud Africa una enfermedad análoga. Ih. Smith y Graybill describen en 1918 una diarrea a coccidia en los terneros de EE.UU. de Norte América. Reich (1924), estudia una coccidiosis de los terneros en 1924. (California).

Es importante anotar que las descripciones hechas por los distintos investigadores, de los parásitos encontrados por ellos, no coinciden de un modo completo, existiendo muchas probabilidades de que hayan dos o más especies de coccidias como causa de la "diarrea roja de los terneros" o, por lo menos, encontradas y descriptas en las heces de los bovinos jóvenes.

Estos hallazgos bibliográficos nos indujeron a realizar un estudio de la especie encontrada por nosotros, como causa de la Enteritis hemorrágica de los bovinos en el Uruguay.

OBSERVACIONES PERSONALES

La enfermedad estudiada por nosotros, fué observada puramente en terneros, la mayoría de tambos. Es muy probable que obre como causa predisponente importante el destete, que por una parte obliga al cambio de régimen alimenticio, provocando trastornos digestivos y por otra al cambio de la reacción del medio intestinal, que de una tendencia ácida en el régimen lácteo, pasa a una tendencia alcalina en el régimen herbívoro.

Es un hecho casi general, tanto en la especie humana como en los animales, que una disminución de la barrera ácida del aparato digestivo facilita la instalación de parasitosis del mismo aparato, parasitosis, que a veces retroceden por la institución de un régimen acidógeno, recurso a que se apela frecuentemente con fines preventivos y curativos.

El medio ambiente tiene una marcada influencia sobre la aparición de la enfermedad, observándose en los meses de calor, Primavera, Verano y principios de Otoño, siendo más frecuente en las épocas de humedad ambiente elevada.

DIAGNOSTICO

La enfermedad es fácilmente reconocible, manifestándose por un estado de abatimiento de los animales, con temperatura alta, 40 - 41°, y el síntoma dominante lo constituye una diarrea profusa, que pronto se hace sanguinolenta, comprobándose sobre las heces estrías de sangre y a veces verdaderos coágulos. Pero basta la simple sospecha para recurrir al examen microscópico de las materias fecales, lo que permite de un modo indudable establecer el diagnóstico.

Deberá preferirse para el examen las mucosidades sanguinolentas rosadas que se encuentran en la superficie de las heces o mezcladas con ellas, o en su defecto podrá recurrirse a la extracción de mucosidades del recto, utilizando una pequeña cuchara u otro instrumento adecuado.

En los casos de Coccidiosis, en el examen de material adecuado, se comprobará una enorme cantidad de ovoquistes en forma de pequeños corpúsculos ovoides, de un amarillo caoba, repletos de un protoplasma granuloso y de las siguientes dimensiones: de 30-40 micras en el eje mayor y de 20-30 micras en el eje menor, aunque se observan algunas de menores diámetros (medidas más generales).

Debemos agregar, que el simple hecho de comprobar algunas formas de Coccidias, aún tratándose de una enfermedad aguda, no autorizará el diagnóstico de Coccidiosis, pues, es común que en el examen de heces de terneros, mismo de bovinos adultos, puedan comprobarse ejemplares aislados de ovoquistes.

EVOLUCION

La enfermedad evoluciona entre algunos días y varias semanas, produciéndose la muerte de algunos animales, a veces en los primeros dos o tres días de notarse enfermos. Es muy probable que los animales que van hacia la curación, entren en una fase de enfermedad crónica, transformándose, como es común para esta clase de parasitosis, en portadores de parásitos durante toda la vida. Sugieren estas conjeturas, además de lo ya expresado, en que es frecuente comprobar la presencia en las heces de bovinos normales, de ovoquistes de coccidias en reducido número.

LESIONES

Fuera de la pérdida del estado general y alteraciones a ello inherentes, sólo hemos comprobado lesiones características, en el intestino grueso, especialmente en su parte terminal en el recto, en que aparecen sumamente acentuadas.

Consisten en una intensa inflamación de la mucosa que aparece de color rojo intenso casi violáceo, sus pliegues engrosados, recubiertos de una capa de mucus rosado, sanguinolento, con coágulos. Además, la mucosa aparece con una gran vascularización sanguínea, los vasos inyectados, turgecentes.

El examen histológico muestra los fondos de saco glandulares repletos de amas de ovoquistes de coccidias envueltos en mucus. (Ver figura 4-3).

Numerosos vasos sanguíneos de nueva formación, con sus paredes delgadas, lo que explica las hemorragias que acompañan a la enfermedad como síntoma dominante. Además en las células epiteliales se observan las variadas formas de evolución del protozoario que describimos a continuación.

ESTUDIO DE LA COCCIDIA

La Coccidia encontrada por nosotros, pertenece, como las demás especies descriptas para la Enteritis hemorrágica de los terneros, al Género Eimeria, comprendiendo su evolución dos fases intraepiteliales: una asexual o esquizogónica y otra sexual o gamatogónica, esta última da lugar a la aparición de la fase esporogónica, que origina los ovoquistes, los que mezclados con las heces, salen al exterior evolucionando cuando encuentran condiciones favorables, siendo los responsables del contagio de unos animales a otros.

EL OVOQUISTE

En el examen de las materias fecales recién emitidas u obtenidas por raspaje del recto, se presentan como pequeños corpúsculos ovoides de color amarillo-caoba, provistos de doble membrana con un protoplasma granuloso que llena todo el ovoquiste. (Ver figura 1). En el centro del protoplasma se observa un núcleo refringente. En algunas publicaciones que hemos consultado, se atribuye a los ovoquistes una forma ovoide o esférica; pero nosotros hemos podido verificar que la forma es siempre ovoide y que la atribución de formas esféricas puede tener por causa la posición del ovoquiste en el preparado, con su eje mayor perpendicular al plano del portaobjeto.

Es importante, igualmente, dejar constancia, de que nunca encontramos en los ovoquistes micropilo aparente.

Hemos encontrado para los ovoquistes las siguientes dimensiones:

Eje mayor		Eje menor
40 micras	.....	—
30 "	.....	22 micras
37 "	.....	28 "
29 "	.....	20 "
18'5 "	.....	14 "

De donde resulta un máximo de 40 micras y un mínimo de 29 micras para el eje mayor; y un máximo de 28 micras y un mínimo de 14 micras para el menor.

Cuando los ovoquistes son colocados en condiciones de humedad, aereación y temperatura adecuadas, evolucionan hacia la formación de esporozoitos. Se observa primeramente una retracción

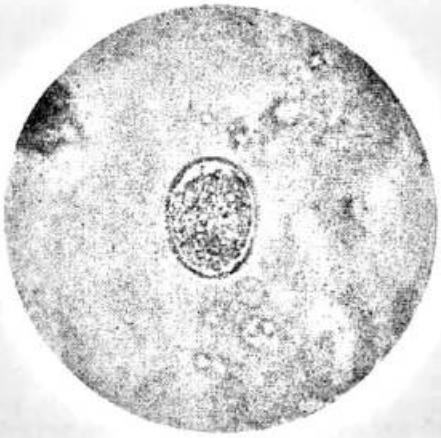


Fig. 1

del protoplasma, separándose de las paredes, tomando luego una forma globulosa. (Ver figura 2). Luego aparece la división de la masa protoplasmática, dibujándose simultáneamente el esbozo de 4 esporoblastos, que evolucionan hacia la formación de 4 esporoquistes, sin dejar ninguna masa residual. (Ver figura 4-12). Los esporoblastos son al principio más bien globulosos, tomando, a medida de su evolución, una forma elíptica alargada.

Para los esporoquistes hemos encontrado las siguientes dimensiones:

Eje mayor		Eje menor
21 micras	.....	10 micras
—	.....	9 "
22 micras	.....	11 "

En su evolución posterior dentro de cada esporoquiste se forman dos esporozoitos dejando constantemente una masa residual granulosa. (Ver figura 4 - 12). Los esporozoitos son alargados, con una extremidad redondeada y la otra más afilada, colocados dentro del esporoquiste en el sentido del mayor eje de los mismos, enfrentando la extremidad cefálica del uno con la extremidad caudal del otro y ligeramente arqueados, con las concavidades opuestas, en forma que dejan un espacio fusiforme dentro del cual está alojada la masa residual.

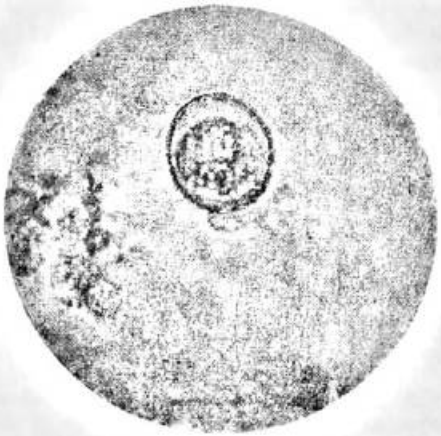


Fig. 2

FORMAS INTRA-EPITELIALES. ESQUIZOGONIA

Los esquizontes se presentan en forma ovoide o esférica, dependiendo esto probablemente de la posición en que son observados. Hemos encontrado los siguientes diámetros: 19, 28 y 34 micras, correspondiendo sin duda alguna a los esquizontes de un grado distinto de evolución.

La división en merozoites se hace al parecer tempranamente, puesto que se nota un esbozo de división en formas aún pequeñas. (Ver figura 4 - 9). Terminada la división se observa una masa residual de cromatina, muy visible, dispuesta sobre uno de los polos. (Ver figura 4 - 1). Los merozoitos están dispuestos, según los meridianos del esquizonte, siendo necesario dos o más elementos para cubrir el arco del meridiano, según lo demuestra la figura 4 - 1, y parece resultar de la disposición de los núcleos, en círculos concéntricos, cuando se observan los esquizontes por uno de los polos.

Hemos contado los merozoitos en siete esquizontes, habiendo encontrado los siguientes: 33, 33, 26, 28, 38, 29 y 28, siendo difícil precisar bien el número.

Los merozoitos se presentan de forma alargada, fusiformes (Ver figura 4 - 1 y 13), con una extremidad ligeramente redondeada y la otra afilada. El núcleo, más próximo al extremo redondeado, se presenta formado por una cromátina en gránulos, dispuestos en corona circular o elipsoide, a veces en forma radiada. (Ver las figuras citadas). Hemos encontrado las siguientes dimensiones:

Largo	Ancho
15,5 micras	5 micras
15 "	6 "
18 "	- "
15 "	5 "

El núcleo, aproximadamente, es de 4 micras.

Por raspaje de la mucosa rectal se obtiene esquizontes fragmentados, dejando ver merozoitos libres (Ver figura 4 - 13) con su forma y estructuras características.

FORMAS SEXUALES. GAMETOGONIA

En los cortes histológicos de la mucosa rectal, se observan numerosas formas de evolución del parásito, pudiéndose identificar claramente el elemento femenino, macrogametas y el masculino, microgametocitos. Los primeros, de forma ovoide, con un núcleo bien teñido por hematoxilina, vesiculoso, relativamente grande antes de la reducción nuclear. En una macrogameta hemos obtenido las siguientes medidas: 16 micras en el eje mayor y 18 micras en el menor.

Además de las formas a núcleo vesiculoso, grande (Ver. fig. 4 - 2) se observan otras, figura 4-4-7, con el núcleo claramente en división, desprendiéndose de una parte de su cromatina que interpretamos como fenómeno de reducción nuclear, de maduración.

LOS MICROGAMETACITOS

Los microgametacitos, se presentan igualmente como elementos ovoides, a veces al parecer esféricos, aunque es probable se deba esto a la posición de la célula con relación al observador, fácilmente distinguibles en cierto período de su evolución. (Ver figura 4 - 5 - 11) por un crecido número de microgametas, dispuestos en la superficie como puntos de cromatina, a veces alar-

gados en formas de pequeños bastoncitos. En ningún preparado hemos comprobado la presencia de flagelos en las microgametas.

En la figura 4 - 3, se observa una macrogameta, rodeada sobre uno de los lados por numerosos puntos y bastoncitos cromatínicos, muy semejantes a las microgametas, con su cromatina dividida y dispuesto en uso hacia la periferia, como orientando el vértice en el sentido de uno de los bastoncitos cromatínicos, como si se tratara de un fenómeno de conjugación.



Fig. 3

RESUMEN

En los casos de Enteritis hemorrágica de los bovinos estudiados por nosotros en el Uruguay, comprobamos como causa de la misma, una Coccidia, del género *Eimeria*, que, además de las características descriptas para las formas de evolución intraepiteliales, presenta: *ovoquistes* color amarillo - caoba, siempre ovoides, de 18,5 a 40, micras en el eje mayor, por 14 a 28 micras en el eje menor, siempre sin micropilo aparente, que en su evolución posterior



Fig. 4

aparecen simultáneamente 4 esporoblastos, sin dejar *masa residual* y que cada esporoquiste se divide en dos espozoitos, dejando una masa residual interpuesta entre los dos elementos.

¿Es realmente Eimeria Zürni la especie estudiada por nosotros? Los datos bibliográficos que pudimos compulsar no nos permiten pronunciarnos. La Coccidia estudiada por Züblin (1908), Coccidia bovis, descripción que se ha tomado como base para la Eimeria Zürni, no correspondería a la especie estudiada por nosotros, pues los ovoquistes serían la mayoría de diámetros menores y además Hartmann le atribuye que estarían desprovistos de masas residuales en las dos fases de evolución (esporoblástica y esporozoítica). Igualmente la descripta por Jovvett (1911), en Sud Africa, los ovoquistes serían iguales a los descriptos por Züblin. En cambio Smith y Graybill (1918) en la enfermedad estudiada por ellos, describen dos tipos de evoquistes, uno más pequeño, al parecer correspondiente a las especies estudiadas por Züblin y Jovvett, y otro mayor con las dimensiones encontradas por nosotros y que poseen igualmente una masa residual en la formación de los esporozoitos.

Según los mismos autores, estos últimos serían iguales a los descriptos por Guillebean (1893) en Suiza.

Es, pues, muy probable, la existencia de, por lo menos, dos especies de Coccidias responsables de la Enteretis hemorrágica de los terneros, siendo la estudiada por nosotros muy probablemente la misma especie estudiada por Smith, Graybill y Guillebean.

ADDENDA SOBRE PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

Como hemos dicho en otro lugar, la Coccidiosis de los bovinos, es observada principalmente en los terneros de tambo y favorecida por el tiempo templado y húmedo, que facilita la evolución exógena del Protozoario, en su forma de ovoquiste. Los pisos húmedos de los corrales y bretes constituyen un medio apropiado para esa evolución y el contagio.

Es lógico, pues, pensar, que una de las primeras medidas deberá ser colocar los animales en condiciones higiénicas desde los puntos de vista indicados. Es decir, hacer una buena limpieza de los corrales y bretes, con abundante agua, y si fuere posible, con agua hirviendo, para matar los ovoquistes. Es necesario tener en cuenta que no es posible contar con el uso de antisépticos o parasiticidas para matar los ovoquistes, pues, estos están defendidos por su doble cutícula keratinizada, impermeable. Es más, los mismos antisépticos pueden desempeñar en concentraciones relativamente bajas, un cierto rol protector para los ovoquistes, por acción bacterioestática sobre las bacterias de putrefacción, facilitando así más

bien el desarrollo ulterior, tal como ocurre en los cultivos de ovoquistes en el Laboratorio.

Pero, además de estas medidas higiénicas de carácter general, es muy necesario tener en cuenta que un sinnúmero de enfermedades parasitarias del aparato gastrointestinal, especialmente a protozoarios, están favorecidas en su instalación por el descenso de la barrera protectora, tales que una disminución de la secreción ácida del estómago y los trastornos secretorios e inflamatorios de la mucosa intestinal, derivados de regímenes alimenticios defectuosos.

A este respecto, debemos hacer notar, que es, precisamente, en los terneros de tambos, en que se observa más frecuentemente la enteritis hemorrágica a Coccidia, en que esos trastornos digestivos pueden producirse con más facilidad y frecuencia, ya sea por un amamantamiento insuficiente, o por un destete prematuro.

Estas consideraciones están fuertemente reforzadas, por el hecho, de que los animales atacados de Coccidiosis, benefician extraordinariamente de la alimentación láctea, a tal punto de constituir, según varios investigadores, el método más adecuado de tratamiento.

En cuanto al tratamiento, debemos manifestar que han sido ensayados numerosos procedimientos de administración de drogas parasiticidas, purgantes, astringentes, etc.

Entre los tratamientos por droga, ocupa el primer lugar el uso del Timol, indicado primeramente por Perroncito y San Lorenzo, administrado en cápsulas de 7 a 8 gramos cada una, dos veces al día. Cremona preconiza el mismo tratamiento a razón de 15 gramos por día, como curativo, y 5 gramos como preventivo. Marotel recomienda la misma sustancia mezclada con el Tanoformo, que agrega la propiedad antidiarreica. Además, se han usado, el sulfato de hierro, sulfato de cobre, cachou negro, etc.

Pero últimamente se ha atribuído mayor importancia a la institución de un régimen lácteo o de productos derivados, tales que la leche descremada, fermentada, etc.

El uso de la leche en su estado natural, o con fermentación, fué aconsejada primeramente para combatir la Coccidiosis de los pollos, por Beach y Davis, luego por Riedmüller y Lutz. Igualmente Lesbouyries, en 1930, aconseja el suero de leche. En cuanto a la Coccidiosis de los bovinos, Fourmont, en su Tesis 1935, lo aconseja de un modo particular, al estado de leche pura y fresca, en la cantidad de 1 a 3 litros, según la edad, una vez por la mañana y otra por la tarde.

La eficacia de un tratamiento lácteo en las Coccidiosis y otras enfermedades parasitarias, ha sido interpretada por algunos investigadores como consecuencia de una modificación de la reacción del medio intestinal, en el sentido ácido, que se opondría a la vida, o por lo menos, a la multiplicación del parásito. A este respecto es

difícil poder afirmar de un modo terminante que la eficacia pueda ser debida, exclusivamente, a ese mecanismo, mientras no se haga un estudio de las variaciones del pH. en las distintas porciones del tubo intestinal, antes y después del tratamiento.

Pero, no obstante, no es posible negar que la institución de un régimen lácteo, ya fuere por leche natural entera o descremada, tiende a la acidificación del medio intestinal, por la fermentación de la lactosa que contiene y que, aunque no se hiciera muy ostensible un cambio de reacción expresado por el pH., pueda, no obstante, constituir un factor adverso a la vida o multiplicación del parásito.

Pero, por lo menos, en el caso de la Coccidiosis de los terneros, debemos pensar, que muy probablemente intervenga también en el sentido de la curación, la normalización del tractus intestinal por su mejor defensa debida a la normalización de las funciones digestivas, determinadas por el régimen lácteo, que es el más natural para la edad.

Montevideo, Setiembre de 1938.

(Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería).

INFORME SOBRE LA PREPARACION DE UNA VACUNA CONTRA LA PESTE PORCINA

(CON LA COLABORACION DEL Dr. A. TORTORELLA)
Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXII - N.º 4, 1938

NOTA PRELIMINAR

Obedeciendo indicaciones de la Dirección de Ganadería, el Laboratorio de Investigaciones, inició experiencias con el fin de preparar una vacuna contra la Peste Porcina.

Estas experiencias sufrieron al principio un sensible retardo, por las serias dificultades encontradas para obtener cerdos de condiciones adecuadas para los estudios a realizar, debido, por una parte, a la reducción del stock porcino en las zonas próximas a Montevideo y, por otra, a la extensión de la enfermedad dentro de esas zonas, que hizo alguna vez malograr los ensayos, por haberse mostrado contaminados los animales adquiridos.

Fué necesario recurrir a criaderos distantes de Montevideo, para tener la seguridad de operar sobre animales indemnes de la peste.

Los trabajos fueron encaminados en el sentido de ensayar en primer término una *Vacuna al Cristal Violeta,* dado los informes favorables al respecto, especialmente de la Oficina de Industria Animal de E. E. U. U. N. A.

En primer término debió obtenerse un virus activo, de varios pasajes por porcinos, sobre el cual debían actuar luego las condiciones atenuantes de la virulencia, de orden físico y químico.

PRIMERA EXPERIENCIA

El 4 de Noviembre, seis lechones (de peso entre 20 y 30 kilogramos), entran en experiencia. Cuatro de ellos (los números 12, 13, 14 y 15) reciben por vía subcutánea 5 c. c. cada uno de una vacuna preparada al Cristal Violeta. Los lechones números 16 y 31, quedan como testigos.

El número 16, en convivencia con el lote vacunado.

Durante los 22 días subsiguientes no se observan síntomas algunos, salvo alguna elevación discreta de la temperatura.

El día 26 de Noviembre, los cuatro lechones vacunados y dos testigos reciben una fuerte dosis (3 c.c.) de un virus activo de Peste Porcina.

En los días subsiguientes, en los lechones vacunados, no se observan síntomas de enfermedad; sólo alguna elevación de la tem-

peratura, salvo el número 13, que presenta temperatura elevada y síntomas de catarro de las vías respiratorias altas (1). En cambio los dos lechones testigos, ya al cuarto día de recibir el virus, hacen temperaturas altas, superiores a 41° y comienzan los primeros síntomas de Peste.

El día 2 de Diciembre amanece muerto, el testigo número 13 y el 11 del mismo mes el testigo número 16. Ambos con síntomas

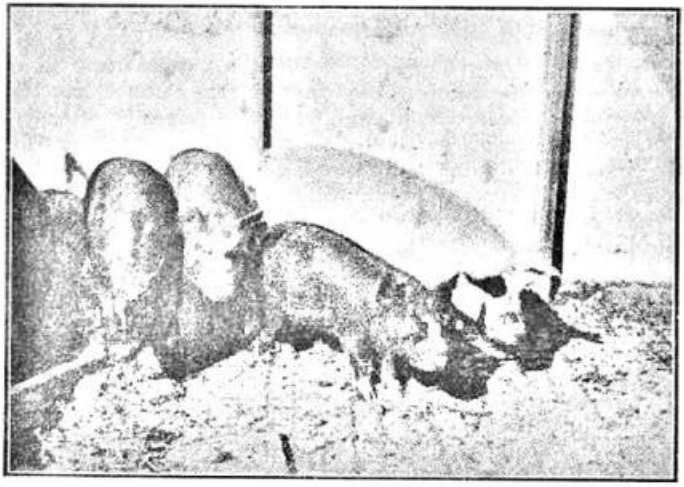


Fig. 1. — Cerdos vacunados. (Primera experiencia).

y lesiones de Peste Porcina. Los animales vacunados continúan sin novedad hasta la fecha (31 de Diciembre de 1938). (Ver figura N.º 1).

SEGUNDA EXPERIENCIA

Esta experiencia comprende un mayor número de animales y fué realizada en forma más completa.

El día 23 de Noviembre de 1938, de un lote de 14 lechones Duroc Jersey, de 17 a 30 kilos de peso, cinco de ellos (los números 17, 18, 19, 20 y 21), reciben 5 c.c. cada uno de una vacuna indicada serie 2, y otros cinco lechones, (los números 24, 25, 26, 27 y 28), 5 c.c. cada uno de una vacuna indicada serie 3. Los lechones números 22, 23, 29 y 30, quedan sin vacunar como testigos en convivencia con los vacunados, con el fin de comprobar si los sujetos que reciben vacuna son contaminantes o no.

(1) Se comprueba que tiene una artritis en el miembro posterior derecho.

El día 15 de Diciembre, 6 animales vacunados (los números 17, 18, 19, 24, 25 y 26) conjuntamente con tres testigos (los números 22, 23 y 30), convivientes con los vacunados, reciben por vía subcutánea, uno y medio c.c. cada uno de virus pestoso activo.

Observaciones sobre los animales. — Durante el período de inmunización, o sea los 22 días que siguieron a la aplicación de la vacuna, antes de la inyección del virus, no se observa en los vacunados, ni en los testigos convivientes con los vacunados, ningún síntoma de enfermedad.

Después de la aplicación del virus, los tres testigos, (los números 22, 23 y 30), hacen temperaturas altas a partir del tercero y cuarto días, temperaturas superiores a 41°, llegando uno de ellos a 42°. En los días sucesivos, aparecen los síntomas de la enfermedad. El número 23, muere el día 22 (a los 6 días de inoculado); el número 22, es sangrado con temperatura alta y síntomas de enfermedad, para la obtención del virus el día 20 y muere después.

El testigo número 30, continúa con temperaturas altas y síntomas graves de la enfermedad (inapetencia, incordinación de los movimientos, etc.).

En cambio, los animales vacunados, que recibieron igualmente la misma dosis de virus, no hicieron estado febril apreciable y no mostraron ningún síntoma de enfermedad. (Ver Fig. N.° 2).

RESUMEN DE LAS EXPERIENCIAS

Tres lotes de lechones, en total 14 animales han sido vacunados contra la Peste Porcina, con una vacuna al *Cristal Violeta*, preparada por el Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería y se ha observado lo siguiente:

1.° Los animales vacunados no han presentado síntomas algunos de enfermedad, han conservado el apetito y el buen estado general.

2.° Cuatro animales de la misma edad, conviviendo como testigos con los vacunados, no presentaron síntomas de Peste y posteriormente se mostraron sensibles al virus, lo que parece probar que los animales vacunados no difunden virus activo al exterior.

3.° Los animales vacunados, a los 22 días de recibir la vacuna, se mostraron totalmente resistentes a una dosis de virus pestoso, que resultó mortal para otros animales no vacunados (de los cinco animales testigos, tres murieron por la evolución de la Peste, uno enfermó y murió después de una sangría y otro se encuentra gravemente enfermo (2).

(2) Este testigo, el N.° 30, muere el día 30 de Diciembre. En resumen: en ambas experiencias mueren todos los testigos (en total 5) y sobreviven, sin haber presentado síntoma alguna de enfermedad, todos los vacunados que reciben virus de prueba (en total 10).

¿QUE ES DABLE ESPERAR DE LA VACUNA PREPARADA?

No cabe duda alguna que la *Vacuna al Cristal Violeta,* se ha mostrado perfectamente tolerable para los animales inoculados, no habiéndose señalado ningún caso de enfermedad, aún mismo leve. Además, ha conferido en las condiciones ensayadas, un grado elevado de inmunidad, podríamos decir, aún mismo, inesperado.

Pero, lo limitado de los ensayos, el poco tiempo transcurrido, no nos permiten poder adelantar, seguramente, el alcance que podrá tener en la lucha contra la Peste Porcina. No obstante, ateniéndonos a los resultados comprobados, principalmente por la Oficina de Industria Animal de E. E. U. U. N. A., debemos tener grandes esperanzas de poder disponer de un medio eficaz para luchar contra la Peste Porcina, si esta enfermedad se instalara en nuestro país y obligara al uso de los medios biológicos de lucha.

Quedan aún, me refiero a los conocimientos actuales sobre el uso de los medios inmunizantes contra la Peste Porcina, algunos puntos que resolver claramente. Esos puntos tienen relación con la inmunización de los lechones mamones, especialmente en los medios contaminados y con la duración de la inmunidad conferida por las vacunas. Sin embargo, en cuanto a lo primero, los ensayos realizados permiten ya bastantes esperanzas y en cuanto a lo segundo, una inmunidad, por lo menos, de unos 3 a 4 meses, ha sido comprobada.

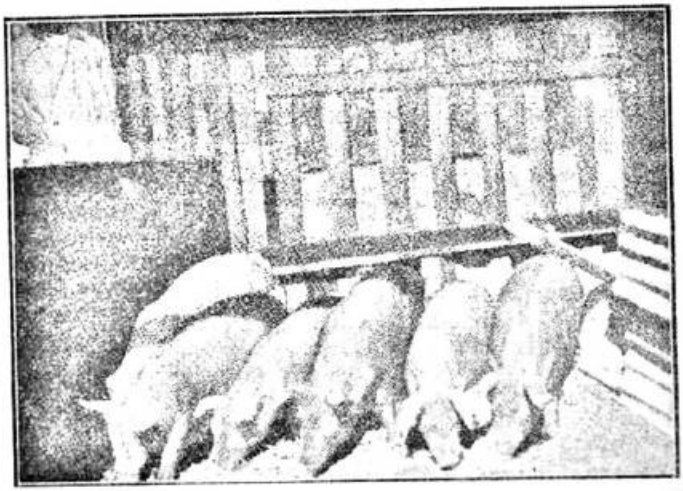


Fig. 2. — Cerdos vacunados. (Segunda experiencia).

PESTE PORCINA — EXPERIENCIA INICIADA EL 4-XI-38

CUADRO 1

Temperaturas

FECHA	Cerdo N.º 12	Cerdo N.º 13	Cerdo N.º 14	Cerdo N.º 15	Cerdo N.º 16	Cerdo N.º 31
5 - XI - 38	39.5-39.8	41.1-40.6	39.8-39.6	40.6-39.9	—	—
6 - XI - 38	39.8-40.	41. -40.8	39.6-39.8	39.9-39.7	—	—
7 - XI - 38	40.3-39.8	41. -40.7	40.5-40.1	39.8-39.9	—	—
8 - XI - 38	39.1-39.2	40.3-40.1	39.8-39.	39.7-39.	—	—
9 - XI - 38	39.6-39.3	40.5-40.2	39.5-39.4	38.8-39.6	—	—
10 - XI - 38	39.5-39.6	48.5-39.8	39.8-39.6	39.7-39.4	—	—
11 - XI - 38	39.3-38.9	39.3-39.4	39.4-39.6	39.5-39.3	—	—
12 - XI - 38	39.5-39.3	40.8-40.5	39.7-39.9	39.7-38.8	—	—
13 - XI - 38	39.3-39.1	40.2-40.	39.9-39.8	39.6-39.5	—	—
14 - XI - 38	40. -39.8	40.5-40.	39.8-39.4	39.9-39.6	—	—
15 - XI - 38	39.3-39.	40.3-39.8	39.8-39.4	39. -39.2	—	—
16 - XI - 38	39.4-39.6	39.3-39.2	39.6-39.4	39.5-39.3	—	—
17 - XI - 38	39.4-39.2	40.3-40.2	40.2-39.6	39.9-39.6	—	—
18 - XI - 38	39.3-39.2	40. -39.6	39.6-39.4	40.7-40.5	—	—
19 - XI - 38	40. -39.7	39.4-39.6	39.6-39.4	40.4-40.2	—	—
20 - XI - 38	39.8-39.5	40. -40.2	39.5-40.	40.1-40.	—	—
21 - XI - 38	40. -39.6	39.8-39.7	39.6-40.	39.9-39.6	—	—
22 - XI - 38	39.5-39.3	40. -39.8	39.6-39.8	39.5-39.6	—	—
23 - XI - 38	39.6-40.	40.1-40.	39.4-39.5	40.3-40.1	—	—
24 - XI - 38	39.8-39.5	39.5-39.	39.7-39.4	38.5-39.	—	—
25 - XI - 38	39. -39.4	39.9-39.6	39.7-40.1	39.4-39.1	—	—
26 - XI - 38	39.5-39.7	40.3-40.	39.1-39.3	39. -39.	39. -39.4	39.6-39.4
27 - XI - 38	39.4-39.3	39.9-39.6	39.9-39.2	39.5-39.5	40. -40.2	40. -40.1
28 - XI - 38	39.3-39.3	39.9-39.8	39.2-39.6	39.9-40.	40.6-40.4	39.5-39.3
29 - XI - 38	39.9-39.5	39.5-39.7	39.2-39.5	39.9-40.1	40.2-39.9	39.6-39.8
30 - XI - 38	39.5-39.7	41. -40.4	39.5-39.3	39.2-39.6	41.6-40.6	41.4-41.2
1 - XII - 38	39.5-39.5	41.2-40.2	39.4-39.2	39.5-39.3	40.2-	41.4-41
2 - XII - 38	39.8-39.5	40.5-40.	39.5-39.6	39.6-40.	Amaneció muerto	41.2-40.8
3 - XII - 38	39.8-39.9	40.3-40.5	39.8-39.5	39.7-40.	—	42. -41.5
4 - XII - 38	39. -39.2	40. -40.2	39.1-39.4	38.5-39.4	—	41.2-40.8
5 - XII - 38	39.9-39.6	40.5-40.2	40. -39.9	39.8-39.4	—	41.5-41.
6 - XII - 38	39.4-39.6	40.8-40.6	39. -39.2	39. -39.3	—	40.5-40.9
7 - XII - 38	38.5-39.	40.4-39.8	38.5-38.8	39.9-39.2	—	38.3-38.4
8 - XII - 38	39.9-39.8	40.5-39.6	39.4-39.5	39.7-39.5	—	38.8-38.
9 - XII - 38	39.2-39.5	40.8-40.2	39.3-39.5	39.6-39.4	—	39. -39.6
10 - XII - 38	39.5-39.4	39.7-40.	39. -39.2	39.3-39.4	—	37.7-38.6
11 - XII - 38	39.1-39.5	40. -39.8	39.5-39.6	39.2-39.2	—	Muere
12 - XII - 38	39.5-39.3	40.1-40.4	39.4-39.6	39.7-39.6	—	—

Los lechones números 12, 13, 14 y 15, son vacunados, los números 16 y 31, son los que recibieron conjuntamente con los vacunados, la inyección de 3 c.c. de virus pestoso, el día 26 de Noviembre.

PESTE PORCINA — EXPERIENCIA INICIADA EL 23 - XI - 38

CUADRO 2

Temperaturas

FECHA	Cerdo N.º 17	Cerdo N.º 18	Cerdo N.º 19	Cerdo N.º 20	Cerdo N.º 21	Cerdo N.º 22	Cerdo N.º 23	Cerdo N.º 24	Cerdo N.º 25	Cerdo N.º 26	Cerdo N.º 27	Cerdo N.º 28	Cerdo N.º 29	Cerdo N.º 30
23 - XI - 38	38.4	39.	39.8	40.3	39.9	40.5	40.	39.5	39.7	39.4	39.8	39.5	40.	39.7
24 - XI - 38	39.9	39.8	39.9	40.5	40.2	40.4	39.9	40.3	39.7	40.	40.3	39.9	40.	39.7
25 - XI - 38	40.4	40.	40.	39.4	40.	40.3	39.5	40.7	39.8	39.7	40.5	39.8	40.3	39.6
26 - XI - 38	40.3	40.	39.8	40.1	40.5	40.5	40.2	40.1	39.8	39.6	40.1	40.	40.1	39.8
27 - XI - 38	40.	39.9	39.6	40.1	39.9	39.9	40.	40.1	39.6	39.7	40.3	40.2	40.	39.8
28 - XI - 38	39.9	39.6	40.	40.	39.7	39.8	40.1	40.4	39.8	39.8	39.9	39.9	39.7	39.5
29 - XI - 38	40.1	39.7	39.7	39.9	40.	39.8	39.9	40.4	40.	39.9	40.2	40.1	40.2	39.7
30 - XI - 38	39.8	39.5	39.6	39.8	39.6	39.8	39.8	40.	39.6	39.8	39.9	39.8	39.8	39.7
1 - XII - 38	39.4	38.6	38.4	39.6	38.5	39.5	39.4	41.1	39.4	39.8	39.7	39.4	40.1	39.5
2 - XII - 38	39.9	40.	39.7	39.7	40.8	40.3	40.2	40.5	39.5	39.5	39.9	39.7	40.6	39.5
3 - XII - 38	39.7	39.7	39.5	39.7	39.5	40.5	39.8	39.3	39.3	39.5	40.	39.3	40.1	39.7
4 - XII - 38	39.7	39.8	39.8	40.3	39.9	40.6	40.4	40.	39.6	40.	40.	40.5	40.4	39.5
5 - XII - 38	39.8	40.1	40.	39.9	39.8	40.7	40.	39.7	39.4	39.7	39.7	39.5	39.6	39.4
6 - XII - 38	40.1	40.3	40.	40.2	40.	40.	40.	39.2	39.2	39.6	39.7	39.4	39.1	40.3
7 - XII - 38	39.8	40.	39.1	39.9	39.7	39.5	39.8	39.4	39.6	39.5	39.7	39.4	39.6	39.8
8 - XII - 38	39.6	39.8	39.9	39.7	39.5	40.	39.6	39.5	39.5	39.6	39.7	39.8	39.8	39.9
9 - XII - 38	39.7	39.9	39.2	39.8	39.6	40.	39.6	39.6	39.7	39.5	39.8	39.6	39.8	39.7
10 - XII - 38	39.8	40.3	40.1	40.	39.8	39.9	39.7	39.7	39.5	39.6	40.	39.7	39.8	39.8
11 - XII - 38	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12 - XII - 38	39.8	39.6	39.8	39.5	39.3	39.7	39.6	39.4	39.2	39.4	39.6	39.4	39.5	39.3
13 - XII - 38	39.6	39.3	39.7	39.5	39.6	39.5	39.6	39.5	39.5	39.4	39.5	39.5	39.4	39.3
14 - XII - 38	39.	39.5	39.7	39.3	39.4	39.4	39.	39.8	39.3	39.4	39.2	39.5	39.1	39.6

Muestra las temperaturas de los animales de la segunda experiencia, durante el proceso de inmunización. Los números 17, 18, 19, 20, 21, 24, 25, 26, 27 y 28, son los vacunados; los números 22, 23, 29 y 30, son testigos conviventes con los vacunados.

PESTE PORCINA — SEGUNDA EXPERIENCIA

CUADRO 3

Temperaturas

	DIA	Cerdo N.º 17	Cerdo N.º 18	Cerdo N.º 19	Cerdo N.º 24	Cerdo N.º 25	Cerdo N.º 26	Cerdo N.º 22	Cerdo N.º 23	Cerdo N.º 30
Mes de Diciembre 1938	15	39. - 39.2	39.1 - 39.4	39.5 - 39.4	39.5 - 39.5	39. - 39.	39.3 - 39.3	39. - 39.6	39. - 39.1	38.9 - 38.9
	16	39.5 - 39.3	39.8 - 39.7	39.4 - 39.8	40. - 40.4	39.3 - 39.7	39.8 - 40.	39.6 - 39.7	39.4 - 39.8	39.6 - 39.9
	17	39.1 - 39.2	39.3 - 39.6	39.6 - 39.6	39.4 - 39.7	39.5 - 39.3	39.5 - 39.8	40.5 - 40.	40.4 - 39.9	39.8 - 39.7
	18	39.4 - 39.4	39.7 - 39.	39.8 - 39.9	39.8 - 39.6	39.5 - 39.9	40.2 - 40	42. - 41.2	41.3 - 41.4	40.2 - 40.1
	19	39.9 - 39.7	40. - 40.1	39.3 - 39.5	40. - 39.9	40. - 40.1	39.5 - 39.3	41.8 - 41.4	39.3 - 39.5	41.5 - 41.2
	20	39.2 - 39.5	39.2 - 39.5	39.7 - 39.6	39.8 - 39.6	38.9 - 39.2	39. - 39.4	41.5 -	39.7 - 39.6	41.3 - 41.
	21	39.5 - 39.2	39.5 - 39.9	39.5 - 39.8	39.8 - 39.6	39.2 - 39.6	39. - 39.4		39.5 - 39.8	41.4 - 40.5
	22	39.8 - 39.6	39.5 - 39.8	39.8 - 39.6	39.4 - 39.7	38.8 - 38.6	39.5 - 39.8		40.4 --	41. - 40.8
	23	39.5 - 39.8	39.2 - 39.4	40. - 39.8	39.6 - 39.6	39.5 - 39.9	39.2 - 39.4			41. - 40.7
	24	39.5 - 39.8	39.2 - 39.5	40. - 39.9	39.3 - 39.6	39. - 39.7	39.3 - 39.5			40.5 - 40.
	25	39.6 - 39.7	39.6 - 39.4	39.5 - 39.5	39. - 39.4	39.4 - 39.4	39.2 - 39.5		Muere	40.6 - 40.
	26	39.3 - 39.6	39.6 - 39.4	39.5 - 39.3	39.4 - 39.6	39.5 - 39.7	39.5 - 39.7			40.1 - 39.9
	27	39. - 39.3	39.3 - 39.7	39.4 - 39.6	39. - 39.5	39. - 39.8	39.2 - 39.6			39.6 - 40.1

Muere después de la sangría

Muestra las temperaturas de los animales de la segunda experiencia, después de la inyección de virus pestoso.

Los números 17, 18, 19, 24, 25 y 26, son vacunados: los números 22, 23 y 30 son testigos.

VACUNA AL CRISTAL VIOLETA CONTRA LA PESTE PORCINA

SEGUNDO INFORME

(CON LA COLABORACION DEL Dr. TORTORELLA)
Publicado en la Revista de Medicina Veterinaria. Tomo III - Año XVIII - N.º 39, 1941

En Diciembre de 1938, comunicamos una nota preliminar sobre los resultados experimentales obtenidos con la aplicación de la Vacuna al Cristal Violeta, del punto de vista de la inmunidad conferida e inocuidad (ver. Bol. de la Dirección de Ganadería, Oct., Nov. y Dic. de 1938). — Ese primer informe comprende solamente dos experiencias y en total 14 lechones vacunados y 5 testigos. — En esas experiencias se comprobó lo siguiente:

1.º — Que una vacuna recientemente preparada, aplicada a la dosis de 5 c.c. a cada animal, protegió completamente, contra una dosis de 3 c.c. de virus inyectado a los 22 días de vacunados: virus que fué mortal para todos los testigos.
2.º — Que la vacuna no producía trastornos locales ni generales apreciables y
3.º — Que animales no vacunados, mantenidos en convivencia con los vacunados desde el momento de la aplicación de la vacuna, no contrajeron la Peste Porcina y se mostraron sensibles a una inoculación posterior de virus pestoso.

Se confirmaban así resultados obtenidos por otros investigadores. Vistos estos resultados favorables se convino en realizar nuevas experiencias, para establecer algunas cuestiones de importancia, con el fin de apreciar el valor de la vacuna en su aplicación para la profilaxis de la Peste Porcina.

En este segundo informe, nos referimos a experiencias tendientes a averiguar las siguientes cuestiones:

1.º — Efectos locales y generales de la inyección de la vacuna; del punto de vista de los perjuicios que pudieran derivar para el valor económico de los animales, por la persistencia de reacciones inflamatorias y de la coloración (cristal violeta) "in situ" y en las serosas, aponeurosis, etc., por el uso del cristal violeta.

2.º — Duración de la inmunidad conferida por la vacuna.

3.º — Duración "in vitro" de las cualidades inmunizantes de la vacuna.

4.º — La inmunidad conferida por la vacuna en lechones hijos de madres sólidamente inmunizadas.

5.º — De las revacunaciones.

CONDICIONES EXPERIMENTALES

Vacuna utilizada. — Su preparación. — Empleamos la misma fórmula consignada en el informe del año 1937, del Jefe del Bureau Of Animal Industry, Dr. M. J. R. Molher. — Bulletin de l'Office International des Epizooties T. XV. N.º 5. 1938, que transcribimos a continuación: "Sangre virulenta desfibrinada 80 c.c.; solución de "fosfato de sodio bibásico, al 3 %, 10 c.c.; solución acuosa de cristal "violeta al 0,5 %, 10 c.c. — Luego 14 días en estufa a 37º y con- "servación en la heladera".

Antes de la preparación, el virus es controlado en su pureza bacteriológica, en medios aerobios y anaerobios y luego de preparada se realiza un nuevo control.

Para obtener el virus, los animales son inoculados por vía subcutánea con 3 a 5 c.c. de virus de pasaje y la sangría es practicada al 2.º o 3.er día de haber iniciado la hipertermia, pero siempre con hipertermia superior a 41º, generalmente entre los 5 y 7 días de inoculado.

Forma de aplicación de la vacuna. — La vacuna se aplicó siempre por vía subcutánea en la región inguinal, profundamente en el espacio entre la pared abdominal y el pliegue de la babilla, la dosis generalmente empleada en las experiencias ha sido de 5 c.c. salvo los casos que se indican otras dosis.

NUEVAS EXPERIENCIAS

Primera parte. — Estudio de la impregnación de los tejidos y difusión del colorante de la vacuna al cristal violeta

Estas experiencias se hicieron con el fin de averiguar si el cristal violeta determinaba alguna coloración persistente en el punto de inoculación de la vacuna, o en otras regiones del organismo, tales que las serosas, que pudieran desmerecer el valor de los cerdos vacunados, destinados al consumo en breve plazo.

Experiencia. — Un lote de 6 cerdos, de 8 a 10 meses de edad,

señalados con los N.os 13, 15, 20, 21, 27 y 28 (1) es inyectado con 5 c.c. c/u. de vacuna, en el mismo día. A los 5 días es sacrificado el cerdo N.º 15 y se hace un prolijo examen, comprobándose: En el punto de inoculación hay un nódulo subcutáneo alargado, de unos 8 centímetros de largo por 2 centímetros de espesor. Al corte presenta dos zonas bien delimitadas, la central de color violáceo intenso y la cortical, lardacea, blanquecina. El ganglio linfático correspondiente se presenta algo tumefacto, pero al corte no muestra coloración anormal. Las serosas, túnica interna de los grandes vasos, aponeurosis, etc., no presentan ninguna coloración anormal.

Técnica para investigar el colorante. — Se aprovecha la tumoración local coloreada en violeta, para establecer una técnica para averiguar la presencia del cristal violeta en los tejidos. — Se hace una papilla de la parte coloreada y se colocan partes iguales en 5 tubos, numerados del 1 al 5, conteniendo el N.º 1 agua destilada, el N.º 2 ácido acético al 10 %, el N.º 3 hidróxido de sodio al 20 %, el N.º 4 alcohol a 50º y el N.º 5 alcohol a 96º. — Al cabo de 15 minutos de extracción, se filtran los líquidos y se comprueba:

Tubo N.º 1 coloración rosada (homoglobina disuelta).
Tubo N.º 2 incoloro.
Tubo N.º 3 coloración rosada.
Tubo N.º 4 color lila suave.
Tubo N.º 5 intensa coloración violeta.

Se adopta pues como test para investigar el colorante el alcohol a 96º.

A los 10 días de inoculado se sacrifica el cerdo N.º 13 y se comprueban las mismas lesiones que en el cerdo N.º 15; pero la coloración de la tumoración más pálida. El test del alcohol casi incoloro.

El cerdo N.º 28 es sacrificado a los 46 días de inyectado. La tumoración local está reducida a un pequeño nódulo que al corte no revela ninguna coloración.

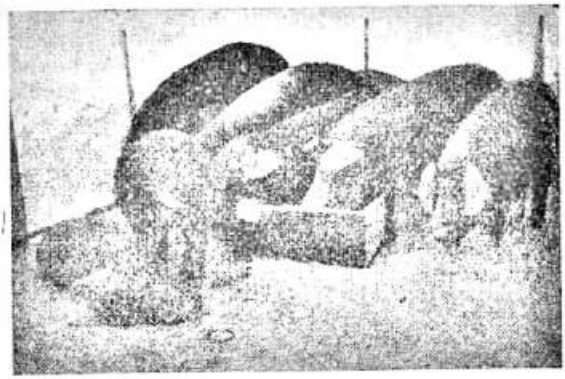
Las serosas, interna de los grandes vasos, aponeurosis, etc., ninguna coloración anormal. El test del alcohol es negativo.

En consecuencia el cristal violeta incorporado a la vacuna solo produce una impregnación en el punto de la inyección, que a los 10 días ha desaparecido casi totalmente. Las demás regiones del organismo inclusive las del asiento del sistema retículo-endotelial: conjuntivo sub-cutáneo, serosas, interna de los vasos, etc., no muestran señales aparentes del colorante.

(1) Los cerdos N.os 20, 21, 27 y 28 habían sido utilizados en una experiencia anterior de inmunidad, (ver segunda parte. Prueba a los 6 meses, numeral 1).

Segunda parte. — Duración de la inmunidad conferida por la vacuna

a) — Experiencias de prueba de la inmunidad a los 6 meses.— 1) Un lote de 4 cerdos, N.º 20, 21, 27 y 28 de raza Duroc Jersey de 20 a 30 kilos de peso reciben el día 23 de Noviembre de 1938, por vía sub-cutánea, 5 c.c. c/u. de vacuna al cristal violeta y el 11 de Mayo de 1939, son inoculados conjuntamente con el testigo N.º 44 con 2 c.c. c/u. de virus pestoso. Los vacunados hacen algunos de ellos temperaturas altas, pero ninguno presenta síntomas de enfermedad y todos se reponen. El N.º 44, testigo, hace hiper-



La presente fotografía muestra el contraste entre los animales vacunados y los testigos. — El testigo N.º 110, el primero de izquierda a derecha, moribundo en decúbito lateral; el testigo N.º 108, el último a la derecho, triste apartado del comedero.

termia y muere el día 20 de Mayo, presentando lesiones de Peste Porcina.

2) Un lote de 3 cerdos, N.º 65, 66 y 70, raza Duroc Jersey, de dos meses de edad, reciben el día 6 de Junio de 1939, 5 c.c. c/u. de vacuna al cristal violeta de reciente preparación. En los días sucesivos no se observa nada de anormal, salvo alguna elevación térmica discreta. El día 19 de Diciembre de 1939, reciben conjuntamente con los testigos N.º 74 y 94, 2 c.c. c/u. de virus pestoso. Todos los animales hacen reacciones térmicas a partir del día 22; en los vacunados no se observa síntoma alguno y la temperatura máxima registrada en el lote es de 40º7. Los testigos hacen hiper-

termia de 42° o más, presentan síntomas de Peste y mueren, el N.° 74 el día 30 de Diciembre y el N.° 94 el día 6 de Enero de 1940.

3) Un lote de dos animales, N.° 84 y 85 reciben el día 2 de Diciembre de 1939, 5 c.c. c/u. de vacuna al cristal violeta, con 6 meses de preparada. Esos mismos animales, reciben el día 21 de Junio de 1940 conjuntamente con los testigos N.° 108, 109, 110, 111, 112 y 113, 3 c.c. c/u. de virus pestoso. Los 6 testigos, corresponden a hijos de animales inmunizados que figuraran en otra experiencia que se relata en este informe. Todos los vacunados soportan perfectamente el virus; de los testigos enferman 4 de los que 3 mueren en los días 2, 3 y 6 de Julio de 1940, uno hace Peste crónica y es sacrificado el 29 de Julio y los otros 2 sobreviven.

En resumen, han sido sometidos a una prueba de inmunidad, de aproximadamente 6 meses, 11 cerdos, los cuales todos resistieron perfectamente la prueba del virus, que mató a 6 testigos sobre nueve, habiendo sobrevivido 2 y sacrificado 1 por enfermedad prolongada; pero estos animales correspondían a hijos de hiperinmunizados.

b) — Experiencias de prueba de inmunidad a los 8 meses. — Tres lechones, los N.° 54, 60 y 72, reciben vacuna al cristal violeta, 5 c.c. c/u.; el 54 el día 29 de Mayo de 1939, vacuna de reciente preparación, y los N.° 60 y 72, el 25 de Julio de 1939, vacuna de dos meses de preparada.

Aproximadamente a los 8 meses de vacunados, el N.° 54 el día 10 de Febrero de 1940 y los N.° 60 y 72, el 2 de Abril de 1940, reciben virus de prueba, el N.° 54 conjuntamente con los testigos N.° 95 y 96, 2 ½ c.c. c/u., y los N.° 60 y 72, conjuntamente con los testigos N.° 99 y 100, 3 c.c. c/u. Todos los testigos mueren entre los 16 y 19 días de inyectados y los vacunados sobreviven sin ninguna novedad.

c) — Experiencias de prueba de inmunidad a los 12 meses. — Cuatro lechones, N.° 53, 56, 69 y 71, reciben vacuna al cristal violeta, 5 c.c. c/u.; los tres primeros el día 25 de Julio de 1939, vacuna de dos meses de preparada, y el N.° 71, el 6 de Junio de 1939, vacuna de reciente preparación.

Aproximadamente a los 12 meses de vacunados, el día 26 de Julio de 1940, todos los animales vacunados reciben conjuntamente con los testigos N.° 114 y 115, 3 c.c. c/u. de virus pestoso. Los testigos mueren entre los 13 y 15 días de inyectados y los vacunados sobreviven sin ninguna alteración visible de la salud.

En resumen, 16 animales vacunados en estas tres series de experiencias, todos resisten las pruebas de virus después de 6 a 12 meses de vacunados sobre 15 testigos, 12 mueren en los plazos ha-

bituales, uno es sacrificado en infección crónica y dos sobreviven; pero estos tres últimos corresponden a un lote de 6 testigos hijos de animales inmunizados.

Tercera parte. — La inmunidad conferida por la vacuna en lechones hijos de animales inmunizados

Esta experiencia tiene por objeto comprobar si los lechones hijos de animales inmunizados, pueden beneficiar de los efectos inmunizantes de la vacuna al cristal violeta, cuestión que ha sido planteada por varios investigadores.

Para realizar las condiciones óptimas de la experiencia, se tomó un lote de doce lechones de aproximadamente 3 meses de edad, hijos de hembras que habían recibido una inyección de virus (en las pruebas de inmunidad por vacuna), unos 3 a 9 meses antes de la parición. Esos doce lechones fueron divididos en dos lotes iguales; uno para ser vacunados y los otros como testigos. Una parte de los primeros los N.º 86, 87 y 88 reciben 5 c.c. c/u. y los otros, los N.º 91, 92 y 93, 10 c.c. de vacuna al Cristal Violeta de dos meses de preparada. La dosis de 10 c.c. utilizada para tres animales respondía al deseo de establecer si una dosis doble sería más eficaz, para el caso de resultar insuficiente la dosis de 5 c.c. dadas las presunciones de inmunidad relativa de los animales en experiencia.

Los lechones recibieron la vacuna el día 2 de Diciembre de 1939 y aproximadamente a los 6 meses, el 21 de Junio de 1940, reciben, conjuntamente con los testigos (también hijos de animales inmunizados) N.º 108, 109, 110 y 111, 112 y 113, 3 c.c. cada uno, de virus pestoso. Estos últimos animales figuran como testigos en experiencias relatadas anteriormente por haberse hecho coincidir con las fechas de inoculación de virus a animales vacunados, de otras experiencias.

En los días sucesivos, enferman con hipertermia y síntomas de peste 5 de los testigos, los N.º 108, 109, 110, 111 y 113; tres de ellos, los N.º 110, 111 y 113 mueren entre los 11 y 14 días de inoculados; uno de ellos el N.º 108, hace peste crónica y es sacrificado en caquexia el día 29 de Julio; el otro, N.º 109 se repone, y el N.º 112 en ningún momento hizo hipertermia ni síntomas de peste. Los vacunados todos sobreviven sin alteración aparente de la salud, salvo alguna hipertermia.

Los resultados han sido pues de mucho interés, porque parecen probar que los lechones hijos de animales inmunes, no obstante su desigual resistencia al virus pestoso, pueden beneficiar de los efectos inmunizantes de la vacuna.

Cuarta parte. — Las revacunaciones y la inmunidad

Estas experiencias fueron planeadas y realizadas, cuando estaban en curso las experiencias ya relatadas en este mismo informe sobre la duración de la inmunidad en animales que recibieron una sola dosis de vacuna. Por tales razones se tomaron como períodos para revacunar, en un lote, el plazo de 4 meses y en otro 6 meses; debiendo aplicarse los virus de prueba, en el primero a los 4 meses de la revacunación, o sea a los 8 meses de la primera dosis de vacuna y en el segundo, a los 6 meses de la revacunación o sea a los 12 meses de la primera dosis de vacuna. Si los resultados apuntados en la Segunda Parte de este informe, sobre duración de la inmunidad a los 8 y 12 meses, hubieran sido ya conocidos, las experiencias de revacunación, debieron ser planeadas haciendo mediar plazos mayores. No obstante haremos una relación sumaria, porque ellos contribuyen a demostrar la sólida inmunidad provocada por la vacuna, motivo de este informe.

Primera experiencia. — *Revacunación a los 4 meses.* — El 6 de Junio de 1939 los lechones N.º 55, 58 y 59, reciben cada uno 5 c.c. de vacuna, y a los 4 meses, el día 6 de Octubre del mismo año, reciben nueva dosis de vacuna. Aproximadamente, a los 8 meses de la primera inyección, el día 10 de Febrero de 1940, reciben, conjuntamente con los animales testigos N.º 95 y 96, 2 ½ c.c. c/u. de virus pestoso. Los animales revacunados resisten todos la prueba del virus y los testigos enferman y mueren entre los 16 y 19 días de inoculados.

Segunda experiencia. — *Revacunación a los 6 meses.* — El día 6 de Junio de 1939, los lechones N.º 61, 64 y 67, reciben c/u. 5 c.c. de vacuna y aproximadamente a los 6 meses, el día 2 de Diciembre del mismo año, se les aplica una nueva dosis. El día 26 de Julio de 1940, a algo más de 13 meses de la primera inoculación, se les aplica, conjuntamente con los testigos N.º 114 y 115, 3 c.c. a c/u. de virus pestoso. Los testigos enferman y mueren entre los 13 y 15 días de inoculados y los revacunados no presentan ninguna novedad, inclusive ninguna reacción térmica.

Quinta parte. — Influencia del envejecimiento de la vacuna sobre sus cualidades para provocar la inmunidad

Las investigaciones realizadas con este fin, comprenden varias experiencias con vacuna de diversos tiempos de envejecimiento a partir de 2 hasta 8 meses; pero para no alargar la exposición, relataremos solo las relacionadas, con los envejecimientos de 6 y 8 meses.

a) Vacuna de 6 meses de preparada. — Se utilizaron 6 animales para vacunar, indicados con los N.º 80, 81, 82, 83, 84 y 85. Todos ellos recibieron por vía subcutánea, el día 2 de Diciembre de 1939, 5 c.c. c/u. de vacuna envejecida de 6 meses.

Para establecer si habría diferencias, en cuanto al grado de inmunidad conferida, comparativamente con la vacuna de reciente preparación, se formaron tres grupos de 2 animales c/u., a fin de probar la inmunidad a los 2, a los 4 y a los 6 meses de vacunados.

1.º *Prueba de la inmunidad a los 2 meses.* — El día 10 de Febrero de 1940, los vacunados N.º 80 y 81, recibieron conjuntamente con los testigos N.º 95 y 96, 2 ½ c.c. de virus c/u. Los testigos enferman y mueren entre los 16 y 19 días de inyectados y los vacunados sobreviven sin presentar alteración aparente de la salud (Los N.º 95 y 96 figuran como testigos en otra experiencia por haberse hecho coincidir las fechas de inoculación).

2.º *Prueba de la inmunidad a los 4 meses.* — El día 2 de Abril de 1940, los vacunados N.º 82 y 83, recibieron conjuntamente con los testigos N.º 97 y 98, 3 c.c. c/u. de virus pestoso. En los días sucesivos, ninguno de los animales ni vacunados ni testigos, presentaron síntomas de enfermedad, salvo hipertermias pasajeras. En tal situación se duda de la virulencia del virus empleado, pero dado que los testigos empleados N.º 97 y 98, eran hijos de animales inmunizados, con vacuna y virus, con un remanente del mismo virus se inoculan el día 17 de Abril, dos nuevos testigos, los N.º 99 y 100, los que enferman de Peste y mueren entre los 18 y 19 días.

3.º *Prueba de inmunidad a los 6 ½ meses.* — El día 21 de Junio de 1940, los vacunados N.º 84 y 85, recibieron conjuntamente con los testigos N.º 108, 109, 110, 111, 112 y 113, (estos animales, figuran también por coincidencia de día y de virus utilizado, como testigos en otras experiencias), 3 c.c. c/u. de virus pestoso. En los días sucesivos los vacunados no presentan alteración de la salud, y los testigos, 5 enferman, de los cuales 3 mueren, uno es sacrificado y el otro se repone (hijos de madres inmunizadas).

4.º *Vacuna de 8 meses de preparada.* — Se utilizan 3 animales señalados con los N.º 39, 41 y 42, los que recibieron el día 26 de Mayo de 1939, 5 c.c. c/u. de vacuna envejecida de 8 meses. Aproximadamente a los 3 meses, el día 24 de Agosto de 1939, fueron inoculados, conjuntamente con los testigos N.º 77 y 78, con 2 c.c. de virus pestoso. El día 28 de Agosto los dos testigos presentan hipertermia; el día 29 se notan síntomas de peste y el N.º 78 es sangrado en el corazón para obtener virus y muere a consecuencia de esa intervención. El N.º 77 amanece muerto el día 4 de Setiembre. Los vacunados no hicieron ni hipertermia.

En resumen, la vacuna envejecida de 6 y 8 meses se ha mostrado completamente eficaz para proteger contra un virus pestoso, mortal para los testigos.

RESUMEN GENERAL

Las experiencias realizadas en el Laboratorio de Biología Animal (ex-Laboratorio de Investigaciones) de la Dirección de Ganadería, con la Vacuna al Cristal Violeta, preparada según técnica descripta, permiten establecer, para las condiciones experimentales en que se han realizado, los siguientes hechos:

1.º La vacuna, a las dosis de 5 y 10 c.c. se ha mostrado completamente innocua, en el sentido de que no ha producido trastornos apreciables de la salud.

2.º Animales testigos, mantenidos en convivencia con animales vacunados, desde el momento de la aplicación de la vacuna, no han presentado hipertermia, ni ninguna otra manifestación de la enfermedad y en una prueba posterior se han mostrado sensibles al virus pestoso; lo que demuestra que la vacuna al Cristal Violeta, no difunde la enfermedad.

3.º La vacuna al Cristal Violeta ha conferido una sólida inmunidad, hasta 12 meses. Dentro de esos plazos, ningún animal vacunado ha muerto ni ha enfermado por la inoculación de virus pestoso, virus que se mostró mortal para todos los testigos, con excepción de dos, hijos de madres vacunadas y que habían sido sometidas ellas mismas a las pruebas de virus, varios meses antes de su parición.

4.º Aunque es difícil sacar conclusiones definitivas sobre la base de una experiencia limitada, es muy probable que lechones hijos de padres inmunes, no obstante su desigual resistencia al virus pestoso, puedan beneficiar de los efectos inmunizantes de la vacuna, por cuanto 6 lechones vacunados resistieron todos la prueba del virus, virus que inyectado a un igual número de testigos, en igualdad aparente de condiciones, enfermó a 5 sobre 6, de los cuales murieron 3 por evolución de la infección, uno fué sacrificado en caquexia y el otro se repuso.

5.º Experiencias de revacunaciones demostraron que no ofrece dificultades del punto de vista de la salud de los animales, aunque no es posible sacar conclusiones del punto de vista de la prolongación de la inmunidad, por cuanto las pruebas de la misma se hicieron dentro de plazos, en que la aplicación de una sola inyección se mostró eficaz.

6.º Vacunas envejecidas, 6 y 12 meses, protegió a los animales contra dosis mortales de virus, por un término por lo menos de 6 meses (para la vacuna envejecida 6 meses), lo que constituye una sensible ventaja del punto de vista de la preparación de la vacuna en gran escala y un debido contralor previo experimental.

7.º El colorante de la vacuna, el cristal violeta, no ofrece inconvenientes para el destino a consumo de los animales a breve plazo, porque se fija "in situ", no siendo visible la tinción de las serosas, etc., y la impregnación local desaparece en pocos días.

8.º Los precedentes hechos confirman los resultados de varios investigadores y permiten establecer una fuerte presunción, de la utilidad de la vacuna para la profilaxis biológica de la Peste Porcina, en las condiciones en que las vacunas son aplicables, teniendo en cuenta que exigen un período de varios días para la instalación de la inmunidad.

Montevideo, Marzo de 1941.

MEDIDAS DE SANIDAD E HIGIENE EN LOS TAMBOS

(CON LA COLABORACION DEL DR. LUIS J. MURGUIA)
Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXIII - N. 4 - 1939

CONSIDERACIONES GENERALES

El problema de la sanidad animal e higiene de los tambos comprende por una parte, medidas de carácter general y por otra, de orden particular, dependientes de las categorías de leche de consumo que fueren admitidas.

Actualmente, para el departamento de Montevideo, las Ordenanzas Municipales y la Ley N.º 9525 de creación de la *Conaprole*, admiten solamente dos categorías: "Leche Pasteurizada" y "Leche Inspeccionada". — Si este criterio fuera mantenido habría que considerar medidas particulares para los tambos productores de leche de cada una de las categorías mencionadas.

Pero el movimiento de opinión producido a raíz de las cuestiones planteadas últimamente a la *Conaprole*, parece haber marcado la tendencia hacia la conveniencia de establecer la categoría de "Leche Certificada", como única admisible para el expendio de leche cruda.

El establecimiento de la categoría de "Leche Certificada", en lugar de la leche llamada "Inspeccionada", no significa para los informantes un simple cambio de denominación, sino el propósito de admitir para el consumo una leche cruda que reúna todas las garantías para ser consumida como tal, y por lo tanto, ese aspecto deberá ser tenido como primordial al establecer las medidas higiénicas y sanitarias para los tambos productores de las mismas.

Es lógico presumir que los productores de "Leche Certificada" procederán en primer término, de los actuales productores de "Leche Inspeccionada", porque existe en ellos la tendencia a la venta de leche cruda y porque han realizado ya gastos de instalaciones higiénicas y se encuentran en condiciones de llenar las exigencias establecidas para aquella categoría o por lo menos para alcanzarla con menor esfuerzo.

Es razonable pues, que al plantear las bases para la producción de "Leche certificada", sean tomadas en cuenta para su discusión, las condiciones actuales de los establecimientos productores de

"Leche Inspeccionada". A este respecto debemos distinguir: a) tambos rurales fuera del departamento de Montevideo, b) tambos rurales dentro del departamento de Montevideo y c) tambos urbanos y suburbanos.

Dentro de los cuatro grupos enumerados, entendemos que deberán ser excluídos como productores de "Leche Certificada" para Montevideo los tambos rurales de fuera del departamento, admitiendo a lo sumo una zona circundante muy restringida, puesto que un alejamiento pronunciado del centro de consumo crea dificultades insalvables para el mantenimiento del grado requerido de salubridad de la leche para ser consumida cruda. Si este temperamento se adoptara, sería imprescindible que el establecimiento reconociera en toda su amplitud, la intervención del contralor municipal de Montevideo.

En cuanto a los otros tres grupos de establecimientos, no obstante entender que toda leche "certificada" deberá soportar por igual de un modo uniforme, un mínimo de exigencias de orden sanitario e higiénico, cabe distinguir, o más, se hace imprescindible destacar que por sobre el nivel mínimo de garantías que se establecieran, los tambos urbanos y sub-urbanos deberán merecer exigencias aún más severas, en cuanto a las condiciones sanitarias del personal y de los animales y las condiciones higiénicas de los locales debido a la estabulación permanente o casi permanente de los animales. Deben merecer además, una fiscalización mucho más frecuente.

La necesidad de una mayor severidad para esos dos grupos de establecimientos la fundamos además en que el pequeño tambo urbano o sub-urbano, vende la leche al detalle, procedente a veces de una sola vaca y mismo cuando es bebida en el propio tambo, de un solo cuarto mamario; lo que realiza condiciones muy favorables a la trasmisión del contagio por la posibilidad de una instalación brusca de una infección ya sea mamaria o con repercusión sobre esa glándula.

Debemos agregar además que los tambos urbanos y sub-urbanos, constituyen el recurso al que apela el médico especialmente el pediatra para solucionar determinadas exigencias dietéticas que tienen como base el uso de leche cruda o con un mínimo de alteración para su esterilización.

Si no fuera admitido tal criterio para el expendio de leche certificada, nos inclinaríamos a su exclusión de la venta, antes que contribuir al enorme daño que resultaría de inducir a error al consumidor, llevándolo al uso de una leche cruda sin las garantías requeridas. Sería preferible en este caso, la admisión de una "leche pasteurizada especial", a baja temperatura, procedente de tambos seleccionados por sus condiciones higiénicas.

De conformidad con las consideraciones expuestas, el presente informe comprenderá:

1.º — Medidas sanitarias de carácter general.
2.º — De las categorías de tambos:

A) Productores de leche destinada a la pasteurización.
B) Productores de "Leche Certificada" y dentro de éstos,

b 1) Tambos urbanos y sub-urbanos.
b 2) Tambos rurales.

1.º MEDIDAS SANITARIAS DE CARACTER GENERAL

En este capítulo deseamos considerar de un modo particular algunas cuestiones sanitarias, que estimamos tienen un carácter general para todas las categorías de leche del punto de vista de la salud humana y de la economía de la producción aunque ellas puedan repercutir de un modo distinto en las diversas categorías.

Nos referimos principalmente a las siguientes:

Tuberculosis, Brucelosis, Carbunclo bacteridiano.

Entendemos que la Comisión del estudio de la Leche, del Ministerio de Salud Pública, debe adoptar una posición definida frente a estos problemas.

Tuberculosis

Los informantes no desean entrar a discutir el problema del contagio humano de la tuberculosis bovina y parten de la base que eso será admitido sin reservas y en todo su alcance por los miembros de la Comisión. Además estimamos que aún para aquellas categorías de leches a las que un tratamiento posterior asegure la muerte de los bacilos de Koch, deberá considerarse la necesidad del saneamiento del ganado lechero del punto de vista de esa enfermedad. Pues entienden que si una acción eficaz no fuera desarrollada en tal sentido, sólo sería dable esperar el avance progresivo de la infección tuberculosa con desmedro de la industria lechera y una creciente dificultad para asegurar el abastecimiento de leche libre de esa infección.

Entienden igualmente que el uso del B. C. G., no obstante sus reconocidas cualidades, no puede ser considerado como un medio adecuado aplicable de un modo general en nuestro país. La lucha contra la tuberculosis bovina deberá tener como base la comproba-

ción de la enfermedad por las reacciones tuberculínicas y el sacrificio de los animales reaccionantes, salvo casos de excepción, en que un interés zootécnico superior pudiera determinar a las autoridades sanitarias a conservar la vida de algún reproductor bajo condiciones rigurosas.

Esta posición en el problema implica también, que salvo el caso de excepción señalado, deben quedar descontados de un modo absoluto los métodos basados sobre el concepto de animales contagíferos o no contagíferos, fundados en los conceptos de tuberculosis abierta y tuberculosis cerrada, porque dentro del actual estado de los conocimientos de medicina humana y también veterinaria, no ofrecen garantías suficientes para pronunciarse, de un modo categórico, si determinado sujeto no puede originar el contagio.

No olvidemos que tal método de lucha contra la tuberculosis bovina fundado en la comprobación de la infección por los métodos más sensibles y el sacrificio obligatorio de todo animal reaccionante, levantará serias resistencias en el gremio de productores; pero esas resistencias principalmente de orden económico, podrán ser vencidas por la institución de un régimen de indemnización, que tenga como base el valor zootécnico del animal.

Debemos declarar que la no previsión de recursos suficientes para tales indemnizaciones, ha sido la dificultad insalvable para la vigencia legal de un plan racional de lucha contra la tuberculosis bovina, y que la Dirección de Ganadería ha tomado varias veces la iniciativa para el establecimiento de un seguro de animales lecheros, sin haber obtenido éxito en sus gestiones ante el Banco de Seguros del Estado.

No obstante esas dificultades, los suscriptos estiman que una tentativa de lucha con probabilidades de éxito puede ser hecha sobre las siguientes bases:

a) El impuesto de 1 milésimo por litro de leche del consumo público.
b) Las leches decomisadas en las Usinas Pasteurizadoras serían vendidas para uso industrial y el producido, destinado totalmente al fondo de saneamiento. Se determinarían con precisión las elaboraciones que podrían ser hechas con tales leches.
c) El producido de la venta de animales sacrificados por tuberculosis ya fueran para el abasto o para uso industrial.
d) Gravar las leches que hubieran sido admitidas a la pasteurización por el examen previo, pero que resultaran de inferior calidad higiénica a los exámenes posteriores de laboratorio.

Este fondo que podría llamarse *"Fondo para saneamiento del ganado lechero"*, podría ser nacional, es decir comprender como ju-

risdicción todos los tambos de la República. El impuesto sería pago por el productor, ya que su destino es para su beneficio directo.

Es indudable que a los efectos del mecanismo del cobro del impuesto y del contralor del mismo, existen grandes diferencias entre Montevideo y el resto del país, pero las dificultades derivadas de esas diferencias pueden ser perfectamente salvadas. Damos a continuación algunas ideas al respecto:

a) En Montevideo, el impuesto se haría efectivo simultáneamente con el de igual valor que cobra el Municipio de Montevideo. El precio de la leche al productor sería mejorado en dos a cinco milésimos a costa del precio a los repartidores.

b) En los departamentos de campaña en que estuviera instituída la pasteurización obligatoria se observarían las mismas normas.

c) En los demás departamentos, el impuesto sería anual por cada vaca en producción, en una suma calculada sobre la base de la atribución de una producción media moderada de leche y el impuesto de un milésimo por litro de leche calculada. — Las dificultades por el ingreso y egreso de animales durante el curso del año, podrían ser obviadas instituyendo la unidad "vaca Anual". Tendría ésta el significado de doce meses de producción; pudiendo ser obtenida fácilmente por la suma de los meses de producción de cada animal durante el año dividida esa suma por doce.

La reglamentación de la lucha contra la tuberculosis bovina, tendría carácter nacional y estaría a cargo de la Dirección de Ganadería.

Brucelosis

Se sabe muy bien, por las publicaciones del Laboratorio de Investigaciones de la Dirección de Ganadería, que la Brucelosis está extremadamente difundida en el ganado lechero, especialmente en algunos departamentos, entre ellos el de Montevideo, llegando al enorme porcentaje de un 35 a un 40 % de animales infectados.

Igualmente se sabe que la Brucella bovis, agente del aborto epizóotico en los vacunos, es trasmisible al hombre, y que la enfermedad en el hombre fué comprobada en nuestro país primeramente por los Drs. J. Nin y Silva, C. Murgía y L. J. Murguia y después por otros técnicos.

Ahora bien, la posición frente a la brucelosis bovina es distinta que frente a la tuberculosis. La brucelosis tiene en algunos tambos un grado de difusión enorme; además la infección pasados tres o cuatro años tiende a extinguirse en el mismo animal.

Un plan de erradicación de la Brucelosis ha sido formulado por la Dirección de Ganadería y está aún a estudio de los Poderes Públicos. — Sin entrar a discutir un plan general, que no corresponde a la índole de este informe, *debemos convenir que no es posible admitir bajo ningún concepto la existencia de Brucelosis en un tambo productor de leche "certificada"; esto es fundamental.*

En efecto, el animal infectado elimina la Brucella por la leche, y, además, una leche originariamente libre de ese microbio puede ser contaminada en el tambo en que exista la infección. Debemos agregar que está perfectamente demostrado que la leche infectada constituye un vehículo frecuente del contagio humano.

En cuanto a los tambos productores de leche destinada a la pasteurización, sería necesario estudiar un plan de eliminación gradual de la infección, únicamente desde el punto de vista de la sanidad del ganado.

Carbunclo bacteridiano

Se sabe igualmente que el carbunclo bacteridiano es una enfermedad infecciosa grave que tiene un grado de difusión apreciable en la ganadería del país inclusive en el ganado lechero. Por la posibilidad de su contagio al hombre es necesario establecer la obligatoriedad de la vacunación anual contra esta enfermedad. (Ya se aplica esta medida con carácter general por la Dirección de Ganadería).

Estimamos que es esencial que la aplicación de las vacunas anticarbunclosas sea anterior al ingreso del animal al tambo, especialmente para los tambos de leche certificada.

Otras enfermedades

Hemos mencionado las enfermedades que a nuestro juicio deben merecer una consideración especial del punto de vista de un plan general de profilaxis, pero a los efectos del contralor sanitario del ganado lechero deberán tenerse en cuenta otras enfermedades, tales que las mamitis estreptocócicas, actinomicosis, fiebre aftosa, etc., etc.

De la organización de los servicios

Sin perjuicio de lo que se estipula en las medidas aplicables a cada categoría de tambos, debemos manifestar que a nuestro entender, las medidas relacionadas con la erradicación o profilaxis de la tuberculosis bovina, brucelosis y carbunclo bacteridiano deben ser del resorte exclusivo de la Dirección de Ganadería a cuyo cargo deberá estar la reglamentación pertinente, sin perjuicio de la colabo-

ración que deben a ello los demás servicios inspectivos que se establecieren.

En cuanto a los servicios veterinarios permanentes de los tambos, especialmente en los productores de "leche certificada", será imprescindible estudiar su organización sobre la base de la incorporación de técnicos o inspectores idóneos cuya dependencia, debe de ser de los respectivos municipios.

2.º CATEGORIAS DE TAMBOS

A) Tambos rurales remitentes a las usinas de pasteurización

En la actualidad los tambos remitentes a las Usinas de Pasteurización, deben contar, según la ordenanza del 19 de agosto de 1927, con un permiso otorgado por la Inspección Veterinaria departamental y registrado en la Dirección de Salubridad de Montevideo. El Inspector deberá comprobar que existe una pieza separada del establo en la que deberá estar instalado el aparato para enfriar la leche, con su correspondiente instalación para agua corriente. — Se exige, además de la referida instalación refrigerante, coladores con filtro de algodón, baldes de latón estañado para el ordeñe, escobillas y otros objetos indispensables para el aseo del establecimiento. — El permiso debe renovarse todos los años. En la Ordenanza se fija como máximo de bacterias, la cantidad de un millón y medio por cada cm.^{3} a la llegada de la leche a las Usinas, lo que significa que el tambero debe extremar todas las medidas de orden higiénico para que su producto, no obstante las contingencias a que está expuesto durante el transporte, se encuentre en condiciones satisfactorias en el momento de su inspección.

En la referida ordenanza no hay disposiciones sanitarias relativas a la salud del ganado. — Este está sometido a las reglamentaciones de Policía Sanitaria Animal, entre las que figura la obligatoriedad de la tuberculinización; pero esta medida de carácter sanitario ha perdido su mayor eficacia a raíz del decreto de fecha 7 de octubre de 1933, por el que se permite el mantenimiento de animales reaccionantes en el tambo. — Si bien la tuberculinización del ganado lechero cuya leche se destina a la pasteurización tiene por este hecho una importancia menor en lo que respecta a la salud humana, se impone como lo decimos al tratar en general este problema, *como una medida imprescindible para la defensa sanitaria del ganado;* sin ninguna contemplación en lo que se refiere al carácter de las lesiones tuberculosas. *Y es desde este punto de vista, especialmente, que debe prepararse el ambiente rural antes de iniciar la campaña contra la tuberculosis bovina.*

Las actuales disposiciones que rigen para esta clase de establecimientos son suficientes. — Un articulado detallado de las mismas o una ampliación de medidas en las que se marquen normas precisas que comprendan lo relativo a la limpieza del tambo, salud de las vacas y limpieza de las mismas, instrucciones a los ordeñadores, limpieza y esterilización de utensilios, filtrado y enfriamiento de la leche, conservación de la misma hasta su entrega, etc.; haciendo pasible de sanciones al tambero que no las cumpla, no tendrían ningún valor si después, *como ha sucedido hasta ahora,* se abandona al productor a su propia acción, huérfano de toda intervención oficial que vigile el cumplimiento de dichas normas y que *sobre todo, lo instruya en prácticas higiénicas, colaborando tenazmente al mejoramiento de la producción lechera.*

Creemos que sólo condiciones mínimas para la obtención de un producto aceptable, deben exigirse por el momento a esta clase de productores. — El proceso educativo a que debe someterse al tambero no se logrará con la imposición de severas medidas sobre técnicas e higiene ni con sanciones sobre su incumplimiento. Radica en una acción permanente y bien organizada de enseñanza y propaganda en la que se insista sobre las condiciones mínimas esenciales (que no son tan difíciles de lograr) para la obtención de un buen producto.— *Además, debe recordarse que al tambero no se le puede exigir que cubra con sus medidas de higiene, todos los riesgos posteriores a que está expuesta la leche desde el momento que es entregada para su remisión a la Capital.*

Teniendo en cuenta estas manifestaciones consideramos que:

1.º — Las disposiciones actuales sobre esta clase de establecimientos son suficientes por el momento, para que en el tambo se obtenga un producto en buenas condiciones para su pasteurización.

2.º — Se impone la organización de un servicio permanente de vigilancia de los tambos con objeto de que se cumplan las medidas consideradas indispensables para la obtención de un producto aceptable.

3.º — El referido servicio se preocuparía también de organizar y llevar a cabo un plan educativo basado en la enseñanza de la higiene del personal y de la higiene de la leche. Además, este servicio basado en los informes suministrados por el Servicio de Contralor Municipal respecto a la calidad de la leche comprobada en las Usinas, complementaría la acción de éste, ejerciendo el contralor del tambo cuya producción fuera deficiente.

4.º — Considerando que a la Cooperativa Nacional de Productores de Leche le corresponde un cometido muy importante en este

sentido, debería contribuir mensualmente con una suma destinada al sostenimiento de este Servicio Veterinario.

5.º — El Servicio Veterinario Nacional que mencionamos al tratar el punto relacionado con el plan de tuberculinización, podría quedar encargado, con la incorporación de este servicio de contralor y enseñanza, de la vigilancia general de los establecimientos lecheros que remiten leche destinada a la pasteurización, sin perjuicio de la acción del contralor Municipal en los tambos ubicados en el Departamento de Montevideo.

B) Tambos productores de "leche certificada"

La leche destinada a ser consumida cruda debe ser designada con el nombre de "Leche certificada", entendiendo por tal designación la universalmente aceptada: es decir, leche producida en tales condiciones que no sólo sea un alimento perfectamente íntegro en relación con su composición química, sino también perfectamente sana desde el punto de vista higiénico, bacteriológico.

Es indudable que si la leche cruda "certificada" se pasteurizara, se agregaría a sus demás cualidades que hacen de esta leche la mejor que se pueda obtener, un coeficiente de seguridad permanente que no puede tener en su estado natural respecto a la ausencia de gérmenes patógenos para el hombre. — Reconocemos que éste es un ideal difícil de obtener y por lo tanto, ajustándonos a las características propias de nuestra producción lechera, nos referiremos a las dos clases de "leche certificada" que podrían admitirse para nuestra ciudad: *"leche "certificada" de tambos urbanos y suburbanos y leche "certificada" de tambos rurales"*.

Si para los tambos rurales que destinan su leche a la pasteurización hemos considerado que no es necesario llevar las medidas de orden higiénico y sanitario a un grado extremo de rigor incompatible con la economía de esos establecimientos, dado que el riesgo de contaminación al hombre está cubierto por las operaciones de higienización a que se somete la leche en las usinas pasteurizadoras, no pensamos del mismo modo para los tambos que deseen acogerse a la categoría de "leche certificada". En el entendido que esta leche puede ser consumida cruda, ningún argumento de orden económico puede oponerse a las garantías que son indispensables para que esa contaminación al hombre no se produzca.

Las medidas a imponerse a los mencionados tambos deberán comprender por una parte, las de orden higiénico relacionadas con los locales, establos, prácticas de ordeñe, alimentación, etc.; y por otra, las relativas a un servicio inspectivo riguroso para controlar el estado sanitario del ganado así como la salud del personal.

b 1) Leche certificada de tambos urbanos y sub-urbanos

Se caracterizan estos tambos porque la leche que producen debe expenderse recién ordeñada (caliente), consumirse en el propio tambo o repartirse por las inmediaciones del establecimiento.

Condiciones higiénicas de los locales. Alimentación y bebida. — Sobre estos puntos mencionaremos el proyecto de Ordenanza sobre funcionamiento de tambos urbanos y suburbanos preparado por el Departamento de Higiene Municipal con fecha Julio de 1939, donde en forma detallada están contempladas todas las exigencias indispensables para su instalación y funcionamiento. Agregamos una copia del mencionado proyecto para mejor ilustración.

En los artículos 6.º al 18 inclusive y 22, 23, 25, 26 y 27 se establecen disposiciones relativas al despacho, local de lavado y depósito de útiles, establo, depósito de forrajes, estercoleros, servicios higiénicos para empleados, limpieza de utensilios, alimentación y bebida, condiciones de ordeñe, etc.; sobre lo que nada tenemos que agregar dada la meticulosidad puesta de relieve en el articulado referido.

Personal del tambo. — El personal del tambo, tanto el que esté en contacto con las vacas como el que manipule la leche, deberá munirse de un certificado de sanidad que acredite que se halla libre de enfermedades trasmisibles. Este certificado se renovará cada seis meses. Las personas que hayan tenido fiebre tifoidea, difteria, disenteria, enfermedades de la garganta, etc., no podrán ocuparse del ordeñe y demás manipulaciones con leche certificada, si no poseen un certificado médico que acredite que no son portadoras de bacilos agentes de la enfermedad padecida. El propietario del tambo estará obligado a solicitar la inmediata visita médica para cualquier persona que se aloje en su establecimiento y que enferma, pueda ser sospechosa de padecer alguna enfermedad contagiosa.

Condiciones sanitarias de los animales. — Cuando tratamos las condiciones de orden general para todas las clases de tambos, nos referimos principalmente a la tuberculosis, brucelosis y carbunclo bacteridiano. — En consecuencia, deberán cumplirse las siguientes disposiciones:

a) Tuberculinización de todas las vacas por lo menos dos veces por año, debiéndose marcar a fuego con la letra T todo animal reaccionante, el que será eliminado de inmediato del establecimiento.

b) Vacunación anual contra el carbunclo bacteridiano.

c) Los animales lecheros deberán estar libres de brucelosis. El certificado de "libre de brucelosis" deberá ser renovado cada seis meses.

Ningún animal podrá ingresar a un tambo de leche certificada sin haber sido sometido previamente a las dos pruebas diagnósticas indicadas y a la vacunación inticarbunclosa.

Servicios inspectivos. — Como hemos dicho anteriormente, el cumplimiento de estas disposiciones estaría a cargo de la Dirección de Ganadería; cuyos técnicos tendrían libre acceso al tambo en cumplimiento de su misión; pero además, *consideramos indispensable la creación de un cuerpo de veterinarios adscriptos al Servicio de Contralor Municipal,* porque el tambo de "leche certificada" debe estar sometido a vigilancia veterinaria permanente con el máximo rigor, precisamente por tratarse de tambos urbanos y suburbanos, y por las razones que ya expusimos anteriormente.

De los exámenes clínicos se dejará constancia en un libro especial y además, en forma resumida, en una cuadrícula que estará colocada en lugar visible para conocimiento del público.

Este Servicio, por su acción inspectiva constante en todo lo que se relaciona con la salud e higiene de los animales, tiene una misión muy importante y delicada y por consiguiente su eficacia dependerá de la buena organización que se le dé.

El propietario del tambo deberá estar obligado a denunciar al Servicio de Contralor Municipal, todo animal que presente signos notorios de enfermedad y especialmente toda anormalidad que se constate en las ubres de las vacas. — Deberá tomar las medidas de aislamiento posibles hasta la visita del Veterinario, quien dispondrá lo pertinente según los casos. También deberá dar cuenta de inmediato, de los animales que mueran en el establecimiento.

Al hacer estas manifestaciones respecto a los tambos urbanos y sub-urbanos, hemos tenido en cuenta que su existencia estaría justificada únicamente, si se puede realizar un contralor permanente y severísimo. Aún así, no se concibe un establo para producir leche que pueda ser consumida cruda, en el que están permanentemente estabulados los bovinos, sometidos a un régimen de vida completamente antinatural.

Si es cierto que el médico pediatra recomienda en determinados casos el uso de esta leche, no es menos cierto que esta opinión está lejos de ser unánime, pues para muchos médicos, el problema no se presenta como en épocas pasadas en que forzosamente había que recurrir a esta clase de leche, por ser deficientísima la leche común de consumo; épocas en las que no se contaba tampoco, con los excelentes preparados dietéticos actuales que pueden reemplazar satis-

factoriamente a la leche humana en la alimentación de la primera infancia.

Creemos que los tambos urbanos deben desaparecer; y con este fin, consideramos que las autoridades no deben ser tolerantes ante cualquier deficiencia de los mismos.

b 2) Leche certificada de tambos rurales

La característica especial de la leche de estos establecimientos es que, inmediatamente de obtenida, debe ser enfriada a baja temperatura (6º por lo menos) y entregada al consumidor a una temperatura inferior a 10º C.

La producción de esta categoría de leche debe limitarse al departamento de Montevideo; o sea donde es factible el control permanente por la autoridad que asume la responsabilidad de permitir su expendio. — Podría admitirse a lo sumo una zona circundante muy restringida, pero en este caso como lo hemos dicho, el productor deberá someterse sin restricciones de ninguna especie, al contralor municipal de Montevideo.

RESUMEN

Resumiendo los puntos principales tratados en este informe, consideramos:

1.º—Debe organizarse una lucha formal contra la tuberculosis bovina, a cargo de la Dirección de Ganadería. Para el éxito de tal propósito sería necesario crear un *"Fondo para el saneamiento del ganado lechero" sobre la base:*

a) De un impuesto de 1 milésimo por litro de leche que se expenda en Montevideo y de medio milésimo en el resto del país.

b) Del producido de la venta de leche decomisada en las Usinas de Pasteurización; leche que sería destinada a la industrialización.

c) Del producido de la venta de animales tuberculosos sacrificados.

2.º Todos los establecimientos lecheros deberán tener sus vacas, además de tuberculinizadas, vacunadas contra el carbunclo bacteridiano.

3.º A los efectos de la venta de leche en el departamento de Montevideo, se toman en consideración tres clases de tambos:

a) Productores de leche para las Usinas de Pasteurización. Para esta categoría consideramos que las disposiciones actuales son suficientes y compatibles con la economía de los establecimientos. Sólo es necesario que se cumplan.

b) Leche "certificada" de tambos rurales y leche "certificada" de tambos urbanos y sub-urbanos. Estos establecimientos deberán estar absolutamente libres de tuberculosis, enfermedad de Bang, y los animales vacunados contra el carbunclo bacteridiano.

4.º Deberá organizarse un servicio inspectivo veterinario permanente: el destinado a la inspección de tambos fuera del departamento de Montevideo, dependiente de la Dirección de Ganadería y el encargado de la inspección de los tambos ubicados dentro del departamento de Montevideo, adscripto al Servicio Municipal de Contralor.

5.º Se establecen las condiciones higiénicas de los locales, así como otras medidas útiles tanto para los tambos rurales que deberán estar comprendidos en el departamento de Montevideo o zona limítrofe muy limitada, como para tambos urbanos y sub-urbanos.

Para establecer estas condiciones hemos tomado como base, la Ordenanza Municipal de fecha 19 de Agosto de 1927 y su reglamentación correspondiente, el reglamento de Tambos y Lecherías de la Dirección de Ganadería, la publicación sobre "El estado higiénico de la leche que consume la ciudad de Montevideo" por Luis J. Murguía, (Marzo de 1939), el proyecto sobre producción y venta de leche cruda presentado por la Dirección de Higiene de la Alimentación (Abril de 1939) y el proyecto de ordenanza sobre el funcionamiento de tambos urbanos y sub-urbanos preparado por el Departamento de Higiene Municipal (Julio de 1939).

Se agregan al presente informe, copias de estos dos últimos proyectos.

Montevideo, Setiembre 10 de 1939.

LA PIOJERA DE LOS ANIMALES

MEDIOS Y FORMAS DE COMBATIRLA

(CON LA COLABORACION DEL Dr. VARELA CALZADA)

Folleto de la Dirección de Ganadería editado en 1941

Algunas consideraciones

La piojera es un parasitismo muy frecuente en los animales, que por no acarrear generalmente consecuencias graves no se le ha acordado mucha importancia del punto de vista de una lucha formal. Más bien la lucha contra esta parasitosis ha sido incluída entre las medidas de higiene, sobre la base de un tratamiento individual de los sujetos atacados.

Pero el problema puede tener mayores proyecciones, pues si bien el piojo parasita a los animales durante todo el año, causando pocas molestias, puede cuando se presentan condiciones favorables a su desarrollo, tomar caracteres de una verdadera plaga, como sucede en los ganados vacunos en los meses de invierno, en que el pelaje largo y la humedad atmosférica realizan condiciones óptimas para su multiplicación.

En tales circunstancias, aparte del sufrimiento de los animales atacados, se producen daños económicos de consideración, debido a la intranquilidad de los mismos animales por las mordeduras y la succión de sangre. — Estos perjuicios son mayores aun cuando van unidos a una alimentación reducida o mala, que acarrea un estado de miseria fisiológica, pues entonces ambos factores se favorecen para determinar el aniquilamiento de los animales.

En cuanto al ganado lanar, en los países en que se lucha regularmente contra la sarna, la piojera está dominada por los baños sarnífugos, y ha sucedido el hecho curioso, que cuando han sido suspendidas las balneaciones por extinción de la sarna, aparece la piojera como una nueva plaga del ganado lanar, lo que ha sido varias veces comprobado en establecimientos de nuestro país en estos últimos años.

SINTOMAS O DATOS PARA DISTINGUIR LA PIOJERA

Aunque se trata de una cuestión sumamente sencilla, diremos algunas palabras por estimarlas de interés. En realidad la piojera se reconoce por la presencia de piojos en el animal, los que son fá-

cilmente visibles a simple vista. Pero los animales se presentan de distinta manera, según el número y la clase de parásitos. Un número de parásitos reducido, no da ningún síntoma aparente; en cambio cuando son muy numerosos, el animal se defiende y aparecen alteraciones en el pelaje y en la piel. Estos síntomas son mucho más acentuados cuando la clase de los piojos es de los "chupadores", porque clavan su trompa para succionar la sangre, provocando una irritación de la piel y defensas del animal. El animal se restrega contra las paredes, postes, etc., perdiendo el pelo, dando lugar así a la formación de manchas en que la piel está casi desnuda, irritada, espesada.

Es importante acentuar que como la piojera intensa aparece en el ganado en la misma época que la sarna (otoño e invierno), fácilmente se cometen errores. Por ejemplo, algunos hacendados atribuyen esas manchas a sarna, siendo de piojera, y otros atribuyen las manchas de "verdadera sarna" a una piojera.

Por tales razones, cuando se encuentren manchas costrosas, en la parte superior del pescuezo, nuca, cruces, anca, etc., a pesar de la presencia de piojos será conveniente remitir material para investigar si hay sarna o no, para lo cual se hará un raspado profundo de la piel con un cortaplumas o cuchillo chico, mismo con un pedazo de vidrio, y el material recogido será colocado en un tubito, frasco, cajita de lata, etc., y enviado al Laboratorio de Biología Animal, especificando el nombre y dirección del propietario y el examen que se desea.

En el ganado vacuno hay dos clases de piojera, una producida por el piojo chupador, que se fija en la piel, formando a veces manchitas obscuras, muy visibles en los animales de pelaje blanco y otra por el piojo mordedor, que casi siempre anda en movimiento. Iguales piojeras se encuentran en los caballares. En los lanares, se encuentran dos piojeras, una por "piojo mordedor" que cambia frecuentemente de lugar, a veces confundido con el llamado piojo australiano (Melophagus ovinus) y otra por el "piojo chupador" que se fija sobre todo en las patas. Generalmente ambas piojeras se encuentran en los mismos animales.

Además de las lesiones producidas en la piel, que ya hemos señalado, la piojera por la succión de sangre y por la inquietud que provoca en los animales, obligándolos a lamerse, restregarse contra objetos, etc., los lleva a un estado de adelgazamiento y de miseria fisiológica característico, estado que es mucho más acentuado cuando la piojera se desarrolla sobre animales mal nutridos lo que parece favorecer visiblemente la gravedad de la enfermedad.

BASES PARA LA LUCHA CONTRA LA PIOJERA

Se consideran en este informe, principalmente las piojeras del ganado vacuno, lanar y caballar, respondiendo a algunas consultas formuladas al respecto por ganaderos del país, pero las instrucciones que se dan son aplicables a otras especies, tales como los porcinos, etc.

La lucha contra la piojera no ofrece ninguna dificultad cuando se trata de pocos animales, en que es posible hacer un tratamiento individual y frecuente. En cambio cuando se trata de numerosos animales, de grandes rodeos, el problema exige tomar en consideración algunos otros factores: de practicabilidad, de orden económico, etc. De un modo general podríamos decir que debemos disponer de un tratamiento que ofrezca un grado alto de eficacia, sobre la base de aplicaciones poco frecuentes y económicas.

Para una lucha formal contra la piojera, al igual que en la lucha contra la sarna y la garrapata, es necesario, tener en cuenta la vida del parásito sobre el animal y la vida del parásito fuera del animal. Los piojos en general cumplen su desarrollo completo sobre el animal, poniendo sus huevos adheridos al pelo, huevos que luego empollan y dan larvas, que sufren algunas mudas hasta llegar al estado de madurez para comenzar el desove. Ahora bien, no hay ningún específico conocido capaz de matar a la vez a los parásitos y a los huevos. Para matar el germen de los huevos, habría que usar específicos de tal fuerza que seguramente dañarían también a los animales.

Por estas circunstancias, el tratamiento de la piojera, exigirá la aplicación de por lo menos dos baños; uno para matar los parásitos libres y otro en plazo conveniente para matar las larvas nacidas de los huevos y antes que esas larvas lleguen a adultas y desoven.

Por otra parte, aunque los piojos, cumplen su desarrollo completo sobre el mismo animal, ellos pueden caer al suelo o, prenderse a las paredes, alambrados, maderas, etc., y los mismos huevos adheridos al pelo, a la lana, pueden caer y efectuar su desarrollo y volver a reinfectar a los sujetos tratados, lo que deberá ser tenido muy en cuenta para evitar un fracaso en la lucha.

ESPECIFICOS A USAR

Son muchas las sustancias y fórmulas eficaces para combatir la piojera, podríamos decir que son aplicables casi todas las fórmulas aconsejadas para combatir la sarna y la garrapata, tales que los arsenicales, las pastas y flúidos fenolados, las creolinas, los extractos

de tabaco, nicotinas, etc. Pero es necesario buscar los más convenientes para cada especie, teniendo en cuenta la eficacia, el menor daño posible a los animales y la economía.

Por ejemplo, para los vacunos deberán ser completamente eliminados los extractos de tabaco y nicotinas, también los mercuriales, porque fácilmente se producen envenenamientos mortales. Para los gatos, aunque interesa poco en este informe, deberán ser eliminados los flúidos y creolinas y en los lanares deberán ser usados con prudencia los arsenicales. Para la elección del específico deberá entrar también en consideración la forma de tratamiento. El tratamiento de numerosos animales exige las balneaciones; en cambio cuando se trata de pocos animales y mansos, como son los animales de cabaña, lechería, los caballos de trabajo, porcinos, etc., se podrá hacer un tratamiento individual, con un aparato de pulverización. Para los lanares, aún tratándose de pocos animales será conveniente siempre el baño, aun individual. Las balneaciones, por la cantidad de específico a usar exigen siempre fórmulas más económicas y a la vez menos peligrosas.

Consideraremos primeramente los específicos para baños. Para el ganado vacuno y caballar, se usarán los arsenicales; siendo adecuado cualquiera de los garrapaticidas autorizados por el Poder Ejecutivo. No obstante nosotros indicaremos fórmulas para la preparación casera. Para los lanares están indicados los flúidos y pastas sarnífugas fenoladas, de las cuales hay varias autorizadas en el comercio; igualmente podrán ser usadas en los lanares las creolinas en las concentraciones para los baños sarnífugos.

Para los porcinos, a veces muy atacados por la piojera, podrán usarse las creolinas y las fórmulas que más adelante indicaremos para los tratamientos individuales.

Damos a continuación las fórmulas y modo de preparación de los baños arsenicales caseros. Estas fórmulas fueron publicadas por uno de nosotros (Dr. Rubino), estando al frente de la entonces Estación Experimental de Epizootias (Durazno).

Hay dos maneras de preparar la solución arsenical; una llamada de "Baño crudo", porque no necesita calentar para prepararla y otra de "Baño cocido", porque necesita hervirla para que las sustancias entren en combinación.

A — FORMULA DE BAÑO CRUDO

Cantidades para 1000 litros de baño

Arsénico blanco	2 kilos	
Soda cáustica granulada .	0 "	800 gramos
Soda Cristal Inglesa	1 "	
Agua	10 litros	

Este baño se llama crudo porque puede prepararse sin fuego, debido a que los ingredientes desarrollan entre ellos suficiente calor para hervir por sí mismo; sin embargo será siempre conveniente para su mejor preparación hacerlo con fuego, porque puede suceder por diversas circunstancias que el calor desarrollado por la reacción no sea suficiente y el arsénico no se disuelva totalmente; es muy natural que de todos modos necesitará menos calor para la preparación del primer baño y la reacción será más completa.

Este baño tiene además la gran ventaja que la solución de arsénico resulta mucho más concentrada, de tal manera que con un volumen reducido se obtiene material suficiente para preparar una gran cantidad de litros de baño.

Modo de prepararlo: En un tacho de hierro fundido se echa la soda cáustica y se agrega dos litros de agua, removiendo la mezcla hasta que la soda se disuelva; después se comienza a agregar el arsénico en pequeñas porciones, que se siguen agregando a medida que se va disolviendo, revolviéndolo constantemente, si hirviera muy fuerte se deja de agregar arsénico hasta que se enfríe algo y después se continúa agregando. Una vez disuelto el arsénico se agrega la soda cristal y el agua hasta completar el volumen, en este caso de 10 litros.

Si la solución ha quedado completamente líquida, señal que está disuelto la totalidad del arsénico, la operación está terminada, sino convendrá hacerlo hervir haciéndole fuego hasta que se ponga límpido.

Esta fórmula es la necesaria para preparar 1000 litros de baño y se repetirán tantas veces las cantidades como volúmenes de 1000 litros sea necesario preparar.

B — FORMULA DE PREPARACION DE BAÑO COCIDO

Fórmula para la solución madre:

Arsénico blanco	2 kilos
Soda Cristal Inglesa	4 "
Agua	50 litros

En un tacho de hierro fundido, de una capacidad aproximadamente al doble del líquido que se va a hervir, se echa el agua y se calienta hasta que hierva, añadiéndole luego la soda cristal; cuando se ha disuelto, se agrega el arsénico blanco por pequeñas porciones, agitando constantemente y se hace hervir hasta que el arsénico se haya disuelto totalmente (unos 15 ó 20 minutos), lo que se comprueba porque el líquido queda límpido.

Estas cantidades son las necesarias para preparar 1000 (mil) litros de baño y las mismas cantidades se repiten tantas veces como miles de litros sean necesarios preparar.

Es necesario que el hervido sea suave y agitar constantemente, porque se desprende mucho gas y podría desparramarse el líquido sobre todo si el tacho no es muy amplio; conviene también tener a mano unos baldes de agua fría, para agregar si la ebullición se hiciera tumultuosa.

Cuando la cantidad de ganado a bañar es muy grande, o las balneaciones muy frecuentes, lo que obliga a reponer frecuentemente el remedio gastado, es de gran conveniencia preparar la solución concentrada y conservarla en envases cerrados, siendo necesario para esto hacerlo a volumen fijo, por ejemplo: si se prepara una fórmula, a 10 litros; si 5 fórmulas, a 50 litros; si 10 fórmulas, a 100 litros, y así sucesivamente; la medición deberá hacerse llevando el remedio a un tacho de antemano medido y una vez enfriado completar la cantidad agregando agua fría, con la que antes se habrá enjuagado el tacho del hervido a fin de incorporar la parte del remedio que haya quedado en las paredes y en el fondo; si el depósito se hiciera en varios envases será necesario hacer la mezcla de todas las porciones pasando de unos a otros, a fin de que la solución resulte en todos uniforme. Para preparar el baño bastará disolver el remedio a razón de *un litro* por cada *cien litros* de agua. (Estas instrucciones son para la fórmula de baño crudo).

FORMULA PARA EL TRATAMIENTO INDIVIDUAL DE LOS ANIMALES

Aplicables para el tratamiento de la piojera en todas las especies animales, cuando no se disponga de bañadero adecuado, y especialmente para los animales de cabaña, vacas lecheras en ordeñe, caballos en servicio, cerdos, perros, etc.

Cualquier específico activo inclusive los que hemos indicado para los baños, pueden ser usados para el tratamiento individual; pero hay algunos factores que inclinan a abandonar algunos y preferir otros.

Por ejemplo, las soluciones arsenicales, las más indicadas para los baños de los vacunos y caballos son poco apropiadas para el tratamiento individual, porque son muy tóxicas y exponen a accidentes al que lo manipula, sin embargo pueden ser utilizadas adoptando precauciones. Las pastas sarnífugas fenoladas tampoco son apropiadas, porque los ingredientes se separan con facilidad y es difícil sacar parte de un envase de mezcla uniforme, siendo más conveniente usar cada vez todo el contenido de un envase para preparar las soluciones. Los extractos de tabaco (la nicotina), tan en uso para las "curas a mano" de la sarna ovina no son adecuados para el tratamiento de la piojera de los vacunos por los frecuentes accidentes tóxicos mortales.

Los específicos más adecuados y de uso más general son las creolinas y los flúidos sarnífugos. Las creolinas aprobadas como sarnífugos y los flúidos sarnífugos serán utilizados siguiendo las mismas instrucciones en cuanto a las diluciones en agua, que las que indican las etiquetas para la sarna ovina.

Las creolinas de uso común, podrán ser usadas en diluciones del 3 % hasta el 5 %. Se entiende que siempre se deberá elegir una marca que ofrezca garantías. Para preparar pequeñas cantidades se pondrán 2 a 3 cucharadas (cucharas grandes de sopa) por cada litro de agua.

En los lanares además de los específicos que dejamos indicados se podrán usar los extractos de tabaco y nicotinas, en la misma forma que para la sarna.

Fórmula personal (Dr. Rubino) (Recomendada). — Una fórmula muy conveniente para combatir la piojera, por tratamiento individual de los animales es la siguiente:

Bencina (de uso para automóviles) ...	1 parte
Creolina (de buena calidad)	9 partes

Se mezclará bien y se conservará este específico en envase bien cerrado: en botellas, damajuanas, etc. Para usarlo se harán diluciones en agua a razón de un 3 % a 5 %, es decir como para las creolinas. Esta fórmula es recomendable para el tratamiento de la piojera en todos los animades, menos para los gatos (al igual que las creolinas y flúidos fenolados). Para los lanares, por la presencia de bencina (muy disolvente de las grasas) podría usarse cualquier otro específico. Con el uso de esta fórmula los piojos y pulgas mueren casi instantáneamente.

Forma de aplicar el tratamiento individual. — Podrán ser aplicados por pulverizaciones, usando un aparato de curar viñas (Vermorel u otro similar) o con regadera y esponja o arpillera. Las aplicaciones se harán comenzando por las partes superiores del cuerpo, mojando la nuca, nacimiento de las orejas, siguiendo por el pescuezo, la cruz, lomo, anca, hasta el nacimiento de la cola y la cola. Después se seguirá por las partes laterales del cuerpo, inferior del abdomen, entre piernas, etc. En todo caso el específico deberá mojar bien la piel, para asegurar esto, sobre todo cuando se usa la regadera podrá utilizarse una esponja o arpillera, la cual se aplicará sobre la piel a medida que se va echando el específico. Se cuidará de no frotar la esponja o arpillera para no irritar la piel, porque por los ingredientes del específico podrían producirse lesiones y facilitar la absorción de los mismos y producir trastornos de la salud.

Para los lanares será siempre más conveniente el baño individual, a fin de que el específico llegue a contacto con la piel. Lo mismo para las pequeñas especies: perros, lechones, aves, etc.

DEL INTERVALO ENTRE LOS BAÑOS Y DEL NUMERO DE BAÑOS O TRATAMIENTOS A APLICAR

Ya hemos dicho que un primer baño o tratamiento, matará solamente a los piojos, pero no a los huevos empollados, depositados por los mismos sobre el pelaje de los animales, huevos, que a los pocos días darán larvas que infestarán de nuevo al animal. De manera pues que un tratamiento de la piojera exigirá por lo menos dos años (o dos aplicaciones del específico). Ahora bien, ¿después de cuántos días de haber aplicado el primer tratamiento se deberá aplicar el segundo? En general la bibliografía francesa (Neveu-Lemaire y otros) aconseja repetir los tratamientos cada 5 a 8 días, y estas instrucciones seguíamos nosotros hasta la fecha. Otros autores aconsejan cada 8 a 10 días.

Es indudable que repitiendo los tratamientos cada 5 a 8 días, varias veces, se obtendrá un éxito completo. Pero es necesario tener en cuenta, que cuanto más próximos y más numerosos son los tratamientos, baños o curas a mano, son también más perjudiciales para los animales, más onerosos, más molestos para el trabajo en la estancia o cabaña, y esto es muy importante para combatir la piojera de los rodeos generales y majadas. Para establecer los intervalos entre los tratamientos es necesario tener en cuenta la evolución del piojo sobre el animal y un segundo tratamiento debería ser aplicado cuando todos los huevos hubiesen dado sus larvas y antes que esas larvas se transformen en piojos adultos y vuelvan a poner huevos. Ahora bien; en la piojera se han presentado algunas dificultades, porque generalmente sobre el mismo animal o ganado hay más de una especie de piojo, como acontece en nuestro país y esas especies tienen diferencias en la evolución. Por ejemplo los piojos "mordedores" (caminadores) tienen una evolución más breve que los "chupadores" (fijos) y para el intervalo entre los tratamientos deberá tenerse muy en cuenta esa circunstancia.

Dadas esas dificultades ha sido necesario recurrir a experiencias y se ha podido establecer que curando los animales cada 14 a 16 días se obtienen los mejores resultados para combatir las especies habituales de piojos.

Pero además se presenta otra cuestión. Hemos manifestado que los piojos pueden caer al suelo o prenderse a las paredes, maderas, alambrados, etc., y puede suceder cosa igual con los huevos adheridos al pelaje, los que continuarán empollando fuera del animal si las condiciones les son favorables y las larvas nacidas volverán

a infectar los animales. Para solucionar este punto quedan dos caminos, o separar a los animales de los lugares peligrosos mientras dure el peligro o continuar los baños, hasta que hayan prendido al animal los piojos caídos y larvas nacidas, o mueran de hambre. Felizmente la vida del piojo fuera del animal es muy breve, 10 días como máximo y para los huevos, contando la empolladura y vida de la larva nacida, parece no ser superior a 25 a 30 días. De manera pues que la aplicación de 3 tratamientos con intervalos de 14 a 16 días serán suficientes para un resultado seguro.

RESUMEN DE LAS INSTRUCCIONES A SEGUIR

1.º *General para todas las especies,* se aplicarán tres baños o tratamientos individuales, según el caso, con intervalos de 14 a 16 días.

2.º *Para los vacunos.* — En los baños se usarán los garrapaticidas del comercio o las soluciones de arsénico de sodio, de la cual hemos dado la forma de preparar. La duración de los baños será la misma que para combatir la garrapata y con las mismas precauciones.
Para los tratamientos individuales de animales de cabaña, tambos, etc., se usarán los flúidos, sarnífugos fenolados de uso común para combatir la sarna ovina y se seguirán las mismas instrucciones, o se usarán también las creolinas o fórmula de creolina y bencina, en soluciones del 3 % al 5 %. Jamás se usarán los extractos de tabaco y nicotinas.

3.º *Para los yeguarizos.* — Se seguirán las instrucciones dadas para los vacunos.

4.º *Para los lanares.* — Para los baños se usarán las pastas y flúidos sarnífugos, con las mismas instrucciones que para la sarna, igualmente pueden prestarse para el mismo fin los extractos de tabaco y nicotinas. También se podrán usar las soluciones arsenicales, pero con mayores precauciones que para los bovinos, por peligros de intoxicaciones.
Para tratamientos de pocos animales, animales de cabaña, etc., son siempre aconsejables los baños individuales y se usarán los extractos de tabaco, nicotina, flúidos sarnífugos y creolinas; las pastas no se prestan.

5.º *Los cerdos.* — Se harán tratamientos individuales con pulverizadores o regadera, usando los mismos específicos que para los lanares; pero siendo muy recomendable la mezcla de creolina y bencina, en solución del 3 % al 5 %. Los lechones y perros, podrán ser bañados en esas mismas soluciones.

GENERALIDADES SOBRE LA BIOLOGIA DE LAS PRINCIPALES ESPECIES DE PIOJOS QUE PARASITAN A NUESTROS ANIMALES DOMESTICOS

Los piojos son pequeños insectos sin alas, que viven sobre la piel de los animales y caminan entre los pelos o las plumas.

Se conocen dos grupos que se diferencian porque los unos están dotados de orgános bucales destinados a chupar sangre y los otros sólo disponen de orgános para triturar, morder o masticar las partículas que toman de la superficie de la piel de las que se alimentan. Los primeros se llaman "Piojos chupadores" y los segundos "Piojos mordedores".

Biología. — Las hembras ponen huevos, hasta 300, que adhieren por su base, con una substancia pegajosa, al nacimiento de los pelos. La parte libre del huevo tiene una tapita por donde saldrá el descendiente o sea la larva.

En el interior del huevo se forma, en varios días, la larva la cual una vez de salir en libertad se transforma después de varios días y de sufrir dos mudas, en piojo adulto, macho o hembra.

La larva o piojo joven es igual al adulto, pero es más pequeño.

Piojos chupadores. (Anoploura). — Los piojos pertenecientes a este grupo encontrados hasta ahora en los bovinos, equinos y ovinos del país, pertenecen a los géneros Hematopinus y Linognatus.

Se caracterizan por tener la cabeza más larga que ancha y más angosta que el tórax. Son más grandes que los del otro grupo o mordedores, y de un color obscuro, negruzco.

Las especies encontradas en el país son las siguientes:

Hematopinus asini. — Parasitan a caballos, asnos, mulos, etc. (Figura 1).

Hematopinus euristernus. — Parasitan al bovino. (Fig. 2).

Linognatus (Hematopinus) vituli. — Parasitan al bovino. (Figura 3).

Linognatus (Hematopinus) pedalis. — Parásito de las patas del ovino.

Evolución. — Los huevos una vez puestos tardan de 10 a 18 días en dar nacimiento a las larvas. Estas tardan de 11 a 14 días en llegar al estado adulto y comenzar la postura.

Piojos mordedores. (Mallophaga). — Los piojos pertenecientes a este grupo, se caracterizan por tener la cabeza más ancha que larga y más ancha que el tórax. Son más pequeños que los chupadores, de un color amarillento claro.

Las especies encontradas en el país en los que tratamos son las siguientes:

Bovicola pilosa (Tricodectes) equi. — Equinos. (Fig. 4).

Bovicola (Tricodectes) bovis. — Bovinos. (Fig. 5).

Evolución. — Los huevos tardan de 5 a 8 días en dar nacimiento a las larvas y éstas tardan unos 11 días en llegar al estado adulto, previo pasaje por tres estados larvales.

Bovicola (Tricodectes) ovis. — Ovinos. (Fig. 6).

Evolución. — Los huevos tardan de 5 a 7 días en dar nacimiento a las larvas y éstas unos 14 días en llegar al estado adulto.

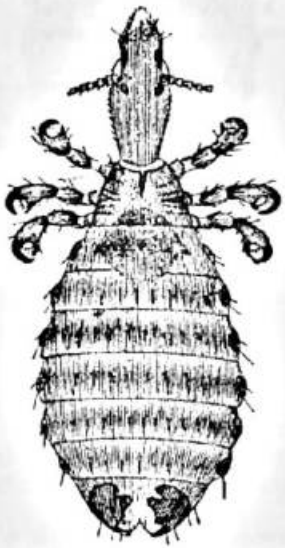


Fig. 1. — Hematopinus asini
Piojo chupador del caballo, asno, mulo.

Melofagus ovinus. — (Fig. 7).

Este parásito ha sido considerado como un piojo por su parecido con éstos, aunque es bastante más grande, y porque vive también sobre la piel.

En realidad se trata de una mosca sin alas.

Produce una picazón intensa y los animales atacados se muestran inquietos, se rescan y muerden.

La procreación del melofagus, es lenta, cada hembra da nacimiento a 4 ó 5 descendientes.

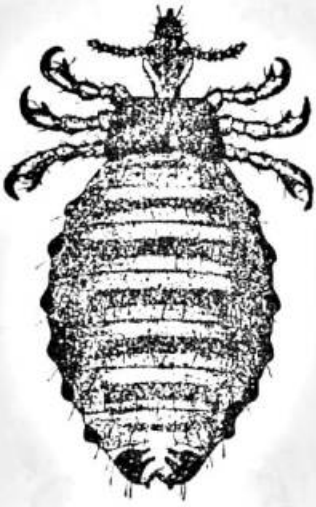


Fig. 2. — Hematopinus euristernus
Piojo chupador de los vacunos



Fig. 3. — Linognatus (Hematopinus) vituli
Piojo chupador de los lanares (En las patas).

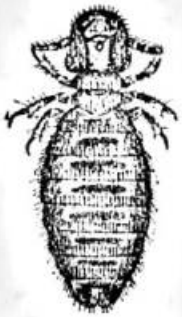


Fig. 4. — Bovicola pilosa (Tricodectes equi)
Piojo mordedor de los caballos

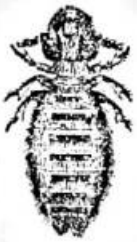


Fig. 5. — Bovicola bovis (Tricodectes bovis)
Piojo mordedor de los vacunos.

Parasita especialmente a los ovinos, excepcionalmente al hombre y otras especies.

En el Uruguay ha sido señalada raras veces y siempre en animales importados de la Argentina o del Brasil.

Hábitos de los piojos. — Los chupadores son poco activos. Debiendo chupar sangre para alimentarse se mantienen fijados a la piel bastante tiempo. Esta función los hace más fastidiosos al animal que los mordedores, por el prurito que producen.

Por la facultad de atravesar la piel son también más peligrosos, porque pueden ser vehículos de diversas enfermedades.

Se les observa muchas veces agrupados produciendo manchas negras, especialmente Linognatus pedalis que se ubica en las patas y partes bajas de los ovinos, generalmente en cantidades elevadas y produciendo manchas negras que desde lejos es posible observar.

Los mordedores. — No chupan sangre, sus órganos bucales están preparados para morder y masticar pequeñas partículas que toman, no solo de la epidermis sino también de los pelos.

Son muy activos, ambulan de un lado a otro y se les encuentra mezclados con la lana o los pelos. el continuo ataque a la piel produce alteraciones y molestias al animal.

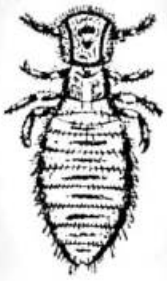


Fig. 6. — Bovicola bovis (Tricodectes ovis)
Piojo mordedor de los lanares.



Fig. 7. — Melofagus ovinus
Parásito de los lanares.

SOBRE UNA DERMATITIS PUSTULOSA CONTAGIOSA EN LAS MAMAS DE LAS VACAS LECHERAS, A CORYNEBACTERIUM. — MAMITIS EXPERIMENTAL

(CON LA COLABORACION DEL Dr. JOSE P. DE LEON)

Folleto de la Dirección de Ganadería editado en 1941

CONSIDERACIONES GENERALES

En diversas oportunidades el Laboratorio de Investigaciones fué consultado sobre lesiones pustulosas aparecidas en los pezones de vacas lecheras. Estas pústulas aunque a veces se observaban en un crecido número de animales, no nos llevaron a pensar al principio en un proceso de naturaleza contagiosa, habiéndonos inclinado más bien a atribuirlas a infecciones secundarias, producidas por cocos piógenos instalados sobre lesiones primariamente de Fiebre Aftosa.

Esta hipótesis era fácilmente explicable por las siguientes razones:

1.º La frecuencia de la Fiebre Aftosa en el ganado lechero y frecuencia de lesiones mamarias producidas por la misma enfermedad.
2.º La observación de que la dermatitis pustulosa se notaba en un mayor número de animales, coincidiendo con un ataque anterior de Fiebre Artosa.
3.º La comprobación en las pústulas, al examen bacteriológico habitual, de una flora variada de cocos piógenos.

Ultimamente, en el mes de Julio (1939), se presentó al Laboratorio de Investigaciones, un distinguido ganadero de Isla Mala, solicitando nuestra intervención técnica para combatir una afección en las mamas, que la distinguen con la denominación de "Granos Negros" y que había tomado gran incremento.

Manifestó que hace más o menos 10 años que se constata anualmente la aparición de esos "granos", declarándose generalmente después de pasar la Aftosa. Este año (1939) hizo su aparición en el mes de Junio en una vaca que siempre hace la afección después de parir; se fué extendiendo a otras y llegó a atacar alrededor de 80 vacas.

Agregó el propietario que posiblemente el ordeñador fuese el vehículo de contagio, puesto que la afección siempre se propaga en la misma fila, extendiéndose hacia las vacas que se ordeñan subsiguientemente.

La enfermedad en cuestión revestiría gravedad en los tambos, porque fuera de los trastornos que ocasiona para el ordeñe por el dolor que provoca, sería causa de decomiso o rechazo de leche en las Usinas, por el contenido en sangre y pus, etc.

A ese propósito transcribimos a continuación los párrafos de una carta del distinguido colega, Dr. Humberto Badano:

"Atento a la conversación que mantuvimos esta mañana, me "complazco en informarle que conozco la afección de las vacas le- "cheras llamada vulgarmente "Grano Negro" desde el año 1932 en "que me fué dado constatarla en unas lecheras que el Sr. J. T. "poseía en Las Brujas, Dpto. de Canelones. La he constatado pos- "teriormente en varios establecimientos lecheros del mismo Dpto. "El Dr. Berninzoni la ha observado a menudo, también en Florida, "así como el Dr. Iraizos en Canelones. Según mis observaciones, la "enfermedad es contagiada por los ordeñadores, se localiza gene- "ralmente en los pezones, habiéndola observado también en los "cuartos mamarios, es muy rebelde a los distintos tratamientos que "indiqué, produce un pronunciadísimo dolor y se manifiesta más o "menos así: Zona rosada y caliente, más tarde se edematiza y toma "un color violáceo y por último forma una costra gruesa y dura, de "bastante espesor, de color rojo negruzco, sangrando fácilmente si "se trata de desprenderla; hay pus en pequeña cantidad debajo de "ella. Esta afección se la encuentra bastante a menudo y es muy "perjudicial, etc., etc.".

Dado el interés que revestía así la enfermedad, se dispuso que el Dr. de León se trasladase al establecimiento para realizar observaciones clínicas y recoger material adecuado para las investigaciones.

SINTOMAS

La enfermedad comienza con la aparición de pequeñas pústulas con la base rodeada de una zona congestiva rojiza y en el centro una pequeña vesícula tamaño de una cabeza de alfiler, conteniendo un líquido purulento. Durante 3 o 4 días aumentan de tamaño, hasta un diámetro en la base de cent. 0,5 o más, al mismo tiempo que el proceso supurado iniciado en el centro continúa. A esta altura de su evolución se presenta como una lesión del tamaño de una avellana, con la base indurada y el centro supurado, proceso que continúa hacia la superficie, adelgazándose el dermis hasta quedar reducido a una muy fina membrana, la que frecuentemente

rompe, sobre todo por los traumatismos de la mulsión, formándose una costra, que por la mezcla con sangre, toma un color obscuro, y es el origen de la denominación de "Grano Negro" con que distinguen a la enfermedad los granjeros.

Alteraciones en la leche. — En la enfermedad natural, en los casos observados por nosotros, no se comprobaron alteraciones visibles de los caracteres organolépticos de la leche. Sobre muestras recogidas de 10 animales con lesiones pustulares en las mamas, tomando la muestra por separado de cada cuarto mamario, los análisis practicados por el Dr. L. Rossi Lema, dieron los siguientes resultados: Hay pus en un cuarto mamario de un animal, pus y sangre en el de otro e indicios de sangre en otro. Es indudable que sobre la base de esas comprobaciones solamente, aunque sea presumible, no es posible afirmar que las alteraciones encontradas se deban a las lesiones pustulares.

ESTUDIO BACTERIOLOGICO

El material procede de varios animales enfermos y está formado por pústulas enteras, en varios períodos de evolución.

De estas pústulas unas son abiertas al bisturí y el pus sembrado en diversos medios de cultivos. Otras, después de esterilizadas exteriormente, son trituradas en mortero y luego sembrada la papilla.

En esta forma se aislaron varias especies microbianas:

1.º Un pequeño bacilo, Gram positivo, que cultiva mal en los medios comunes desprovistos de proteínas animales.
2.º Cocos Gram positivos con los caracteres del enterococo.
3.º Cocos Gram positivos con los caracteres del estafilococo.
4.º Algunos bacilos Gram positivos (Difterimorfos) y otros.

Los exámenes posteriores, demostraron que el pequeño bacilo Gram positivo, que se menciona en primer término, corresponde al género Corynebacterium (Lehmann y Neumann 1896) y con los caracteres muy semejantes a los del B. pyogenes bovis. Por otra parte, los estudios experimentales realizados por nosotros, demostraron su rol patógeno, reproduciendo típicamente las lesiones en las mamas, a la par que una mamitis típica, cuando era inyectado por los canales de los pezones.

Aunque los caracteres culturales y demás demuestran que se trata del B. Pyogenes bovis (Lucet) o Corynebacterium pyogenes (Brown), no obstante por los caracteres contradictorios atribuidos en la bibliografía (Bergey Determinative Bact. (1939); Haudouroy.

Dic. Bact. Path. etc.) daremos a continuación los encontrados en la especie estudiada por nosotros y algunas modificaciones en la técnica para el estudio de su acción sobre los azúcares.

Caracteres del Corynebacterium Aislado

Morfológicos y de coloración. — Se presenta en los cultivos como un pequeño bacilo, inmóvil, Gram positivo, con dos a tres puntos cromáticos, poliformo, a veces fusiforme, otras a pequeñas clavas. Aislados o de a dos elementos en ángulo, en palizada, o en amas. Tamaño, de micras 0,3 a 0,5 de ancho, por 1 a 1,5 de largo. En el pus de las lesiones, algo más largo y cilíndrico.

CULTIVOS. — MEDIOS SOLIDOS

Gelosa simple. — Cultivo muy pobre, colonias muy pequeñas, apenas visibles a simple vista, aspecto de gotas de rocío.

Gelosa T. — *Muy semejante a gelosa simple.*

Gelosa suero-bovino. En superficie. — Cultivo más abundante.

Gelosa T. — Muy semejante a gelosa simple.

Gelosa suero-bovino. En profundidad. — Siembra mezclando con la gelosa fundida. Crece más abundantemente a partir de aproximadamente 1 centímetro de la superficie libre. Colonias pequeñas, redondeadas, blanquecinas de 1 mm. de diámetro.

Gelosa sangre. En superficie. — Cultiva muy bien, viraje al pardo y hemolisis (beta) (en 48 horas).

Medio Dorset. — Cultivo abundante.

Suero-bovino coagulado. — Cultivo característico, licuación del medio en las áreas sembradas, dibujando netamente las estrías de la siembra.

Gelatina. — En profundidad a 37°, la siembra mezclada con el medio. Los cultivos retirados de la estufa a los 3 días, la gelatina se vuelve sólida, apenas menos firme que la testigo, por lo tanto la proteolisis es nula o muy reducida.

MEDIOS LIQUIDOS

Caldo simple. — Cultivo pobre, no enturbia el medio, grumos filamentosos, blanquecinos, depositados en el fondo.

Caldo Martin. — Como el caldo simple.

Agua peptonada. — Cultivo pobrísimo.

Agua peptonada - glucosada (al 10 ‰). — Cultivo pobre, no enturbia el medio, depósito filamentoso.

Caldo suero - bovino. — Cultivo más abundante que en los medios anteriores; no enturbia al medio, depósito en grumos.

Leche. — Coagula, de las 24 a las 48 horas, a veces con retardo hasta los 3 días; después digestión del coágulo.

PROPIEDADES BIOQUIMICAS

Tensión de oxígeno. — Crece en aerobiosis, y anaerobiosis, y el óptimo, al igual que en la Brucella bovis, parece estar por debajo de la tensión del oxígeno en el aire, puesto que el crecimiento abundante en gelosa, suero en columna, comienza por debajo de 1 centímetro de la superficie libre.

Acción proteolítica. — Licúa de un modo característico el suero coagulado (áreas sembradas), no francamente la gelatina; coagula la leche en 48 a 72 horas y luego licúa al coágulo.

Acción sobre la sangre. — Viraje al pardo, hemolisis Beta.

Acción sobre los azúcares. — Es en la acción sobre los azúcares, donde aparecen las mayores discrepancias entre los diversos investigadores (Consultar Bergey y otros "Determinative Of Bact." "Haudouroy y otros" Dict. des Bact. Pathog. — Adam J. "Recherches sur les mamites primitives de la Vache". — Topley and Wilson (1938). Systeme of Bacteriology Med. Recher. Council (1931).

Esas diferencias en los resultados pueden atribuirse a distintas modalidades en las cepas estudiadas y muy probablemente también a las técnicas empleadas y pureza de los azúcares.

Después de haber explorado algunos otros medios para el estudio de las acciones fermentativas, teniendo en cuenta la preferencia del B. piógenes bovis, para el suero de bovino, hemos recurrido al uso del suero de Hiss, empleando suero de bovino, pero con una modificación que estimamos muy útil. Consiste ésta, en eliminar del suero la glucosa y otros hidratos de carbono que accidentalmente pudieran existir, por fermentación con levadura de cerveza. como indicador recurrimos al licor de Andrade (Fuchsina —ácida,— decolorada, por acción del hidróxido de sodio).

He aquí la técnica de preparación del agua-suero fermentado: 200 c.c. de suero bovino son mezclados con 800 c.c. de agua destilada en un matraz adecuado. Se coloca dentro del agua-suero, unos 50 gramos de levadura de cerveza fresca, contenidos en una muñequilla de género. Incubación a 37° durante 24 horas, agitando algunas veces la mezcla. El líquido toma un fuerte olor fétido. Filtración por papel, calentamiento a 120° para precipitación, nueva filtración por papel; se lleva a pH 7,4. Se agrega el indicador de Andrade en la proporción del 1 %, se distribuye en tubos en cantidades medidas (10 c.c. para cada tubo); se esteriliza al auto-clave.

El agregado de los azúcares, se hace partiendo de soluciones al 10 %, conservadas en ampollas esterilizadas por Tydalización, y

en cantidad hasta obtener una concentración en el medio del 1 % de cada azúcar.

Damos a continuación los resultados obtenidos:

Glucosa	24 h. a 37° ±	48 h. a 37° +++	72 h. a 37° +++
Levulosa	24 h. a 37° ±	48 h. a 37° +++	72 h. a 37° +++
Lactosa	24 h. a 37° ±	48 h. a 37° +++	72 h. a 37° +++
Maltosa	24 h. a 37° ±	48 h. a 37° +++	72 h. a 37° +++
Sacarosa	24 h. a 37° —	48 h. a 37° ±	72 h. a 37° ±
Rafinosa	24 h. a 37° —	48 h. a 37° —	72 h. a 37° —
Manita	24 h. a 37° —	48 h. a 37° —	72 h. a 37° —
Sorbita	24 h. a 37° —	48 h. a 37° —	72 h. a 37° —
Salicina	24 h. a 37° —	48 h. a 37° —	72 h. a 37° —
Galactosa	24 h. a 37° —	48 h. a 37° —	72 h. a 37° —
Arabinosa	24 h. a 37° —	48 h. a 37° —	72 h. a 37° —

Estos resultados están de conformidad con los dados por Topley and Wilson (1938), difieren con los dados por Bergey "Determinative of Bact. (1939), pues no incluye la Maltosa ni la Galactosa entre los azúcares que producen ácido, y más de conformidad con los dados por Haudouroy "Dict. de Bact. Patho. (1937)".

ESTUDIO DE LA INFECCION EXPERIMENTAL

Animales de Laboratorio

(Cultivos en caldo Martin de 24 horas).
No es patógeno para cobayos y ratones.

En conejos. Por vía intradérmica (0. 25 de c.c.). — A las 24 horas aparece una zona inflamatoria, rojiza, con espesamiento de la piel, de unos 3 centímetros de diámetro y en el centro una zona amarillenta donde se inicia el proceso supurativo. A las 48 horas hay en el centro formación de costra y por debajo de la misma pus muy rico en bacilos. En los días sucesivos la costra aumenta de tamaño hasta 1 centímetro de diámetro y la lesión toma el aspecto típico de las lesiones espontáneas en los bovinos.

Por vía subcutánea (0,5 a 2 c.c.). — De las 24 a las 72 horas, según la dosis empleada, aparece un proceso inflamatorio que va rápidamente a la formación de un abceso, sin lesiones en los órganos internos.

Por vía intraperitoneal. — Formación de abcesos en la pared abdominal interna, abcesos múltiples en el hígado, algunos animales hacen caquexia.

Por vía intravenosa (de 0,5 a 2 c.c.). Cultivos de 24 horas. — Algunos animales hacen caquexia y presentan pequeños abcesos múltiples. Cultivos de 9 dias (4 c.c.); ligera disminución de peso en

los primeros días y luego vuelven al peso normal, parece pues, que no segrega toxina activa.

De manera que no existe duda de la acción patógena para el conejo; pero en los numerosos conejos inyectados por nosotros, por distintas vías, en ninguno hemos comprobado una acción mortal a breve plazo, como se describen por algunos investigadores para B. pyogenes bovis.

EN BOVINOS

Por vía intradérmica (o escarificaciones) Bovino N.º 193. — Se practican escarificaciones en el cuarto mamario posterior izquierdo seguidas de la aplicación de una suspensión en solución salina de un cultivo de 48 horas en gelosa-suero, y de la misma suspensión se inyecta intradérmicamente 0,25 c.c. en el cuarto anterior izquierdo. A las 24 horas pequeñas induraciones en los puntos de inoculación; a los 3 días esos nódulos tienen el tamaño de una avellana pequeña, rodeados de una zona rojiza. En los días sucesivos se abcedan y se recubren de una costra, tomando el aspecto de las lesiones de la enfermedad natural (Fig. 1). Debajo de las costras existe pus cremoso que al examen microscópico muestra numerosos bacilos, la mayoría englobados por los polinucleares.

(Fig. 2). Bovino N.º 104. — Cultivo de caldo Martin de 24 horas. Recibe por vía intradérmica en los pezones izquierdos 0,5 c.c. en cada pezón. A las 48 horas nódulos en puntos de inoculación. En los días sucesivos aumentan de tamaño y se dibuja en los centros una zona blanquecina de supuración, a la que sigue la formación de costras.

MAMITIS EXPERIMENTAL

Bovino N.º 193. — El día 29-IX-39, recibe en los senos galactóforos, por el canal del pezón, 2 c.c. en cada uno de los cuartos mamarios derechos, de una suspensión en suero fisiológico de un cultivo de 48 horas en gelosa-suero. En los días sucesivos no hay aumento apreciable de temperatura (máxima 38°5). En cambio en los cuartos mamarios inoculados se observa lo siguiente: El día 3-X-939, se ordeñan y se extrae una materia purulenta espesa con coágulos amarillentos. Por exámenes microscópicos y cultivos se comprueba la presencia de numerosos bacilos al estado de pureza.

Boxino N.º 104. — El día 14-X-939, recibe en los senos galactóforos de los cuartos mamarios derechos, 1 c.c. en cada uno, de un cultivo en Caldo Martin de 24 horas.

El 16-X-939, por ordeñe se extrae materia purulenta amarillenta del cuarto anterior derecho. En ese material se comprueba por exámenes microscópicos y cultivos, la presencia del bacilo, en

cantidad. El día 18 se comprueba inflamación y dolor en el cuarto anterior derecho, y por ordeñe sale pus. Día 19, cuarto anterior derecho completamente tomado, inflamación y dolor intenso, el animal se defiende violentamente de la presión para el ordeñe. Se extrae abundante pus. Día 20, continúa el mismo estado, por ordeñe primero sale pus espeso y luego líquido rojizo con sangre. Día 1.º-XI-939. Continúa la inflamación, mostrándose todo el cuarto indurado y doloroso. Al cuarto posterior derecho por ordeñe se le extrae muy poco pus.



Fig. 1

ANATOMIA PATOLOGICA

Un corte de una lesión pustulosa (Vaca 193), muestra (Fig. 3) según el examen histológico practicado por el Dr. Epstein R., lo siguiente:

Tejido mamario: proceso inflamatorio agudo, foco purulento intradérmico con límite interno por la capa malpighiana. Solución de continuidad en la epidermis indicando la apertura de la colección purulenta.

Comienzo de cicatrización por los bordes y tendencia a la eliminación. El epitelio espino-celular, las células basales y el tejido sub-epitelial que rodean al abceso están infiltrados por gran cantidad de elementos polinucleares en degeneración, lo mismo que las células epiteliales poligonales que presentan vacualización citoplásmica necrótica. En la zona sub-dérmica proceso de diapedésis exudativa; abundancia de elementos eosinófilos.

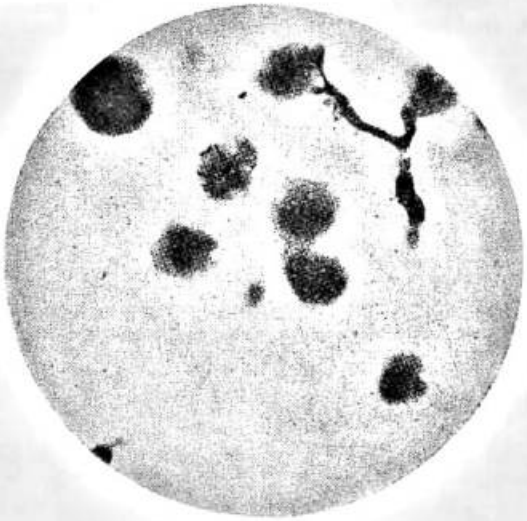


Fig. 2

ENSAYOS DE TRATAMIENTO

Con el fin de estudiar la posibilidad de obtener un tratamiento específico se preparó un anti-virus con la cepa original, con muerte de los cultivos por el formol. La cepa original es cultivada en caldo Martin durante 16 días, luego se le agrega formalina, hasta una concentración del 1 %, y se controla luego su esterilidad.

Bovino N.º 104. Con mamitis por inoculación. — El día 1.º-XI-939, los cuartos inflamados son desagotados y en cada uno se inyectan 30 c.c. del anti-virus. Día 3, continúan duros y dolorosos, pero al ordeñe no sale pus, solamente un líquido sin grumos, rosado. Se vuelve a inyectar anti-virus, haciendo un ligero masaje del cuarto mamario. Día 6, han desaparecido el calor y dolor, al ordeñe no sale líquido alguno, aunque los cuartos permanecen más consistentes que los testigos.

RESUMEN

Se ha estudiado una Dermatitis pustulosa contagiosa, en las vacas lecheras, que en ciertas épocas atacaría gran número de animales, aparejando los inconvenientes de la defensa de los animales para la mulsión y el rechazo de leche por su contenido en sangre y pus.

De las lesiones de la enfermedad natural, se ha aislado un pequeño bacilo, del género Corynebacterium (Lehmann y Neumann 1896), cuyos caracteres se estudian detalladamente y que corresponden al B. piogenes bovis (Lucet, 1893) o Corynebacterium pyogenes (Glace-Brown and Orcutt), bacilo que ha sido señalado como responsable de una mamitis enzóotica en las vacas lecheras, primeramente por Glave (1903) y luego por Carré (1907), quien lo aisló y denominó Bacillus mastitidis contagiosae. La forma pustulosa que hemos descripto parece no ha sido señalada.

Se han hecho intentos de tratamiento, al parecer con buenos resultados, con anti-virus específico y se está ensayando el uso de una pomada profiláctica y curativa (1).

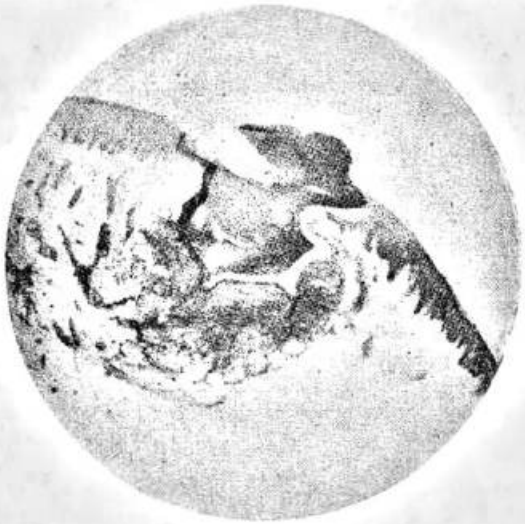


Fig. 3

(1) En la fecha de esta reimpresión se han tenido informes muy favorables sobre el uso de la pomada específica curativa.

CONCEPTO DE INMUNIDAD

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXVI - N.º 4 - 1942

Del curso para las pruebas de admisibilidad, para el *Concurso de Agregaciones de las Especialidades*. Cátedra de Patología Médica de la Facultad de Medicina. Profesor Dr. Benigno Varela Fuentes. Hospital Maciel. Noviembre 18 de 1942.

La sola enunciación del tema da una idea de su enorme extensión y es fácilmente comprensible que él no podrá ser tratado ni aún en forma medianamente completa, en el breve tiempo destinado a esta disertación.

He debido pues elegir entre hacer una reseña bibliográfica más o menos completa o limitarme a destacar los principios y nociones fundamentales, según el estado actual de la cuestión. Me he decidido por esto último.

En su origen la noción de inmunidad, en el orden biológico, está vinculada al hecho o al propósito, de poner al organismo a cubierto de los ataques de los agentes de enfermedades.

Dejando de lado los relatos atribuídos a Mitrídates, la primera noción precisa sobre inmunidad remonta a las observaciones de Jenner, en el siglo XVIII, según las cuales, un ataque al hombre, de la viruela bovina (cowpox) le confiere protección contra la viruela humana.

Pero la verificación experimental, sólo aparece después de los trabajos de Pasteur, sus colaboradores y algunos investigadores de la época: Behring Kitasato, etc., con los descubrimientos de las vacunaciones contra el cólera de las aves, el carbunclo bacteridiano, la toxina y suero antidiftérico, etc.

Posteriormente fueron descubriéndose, en los sujetos que habían sido tocados por infecciones microbianas, o que habían recibido inyecciones de cultivos microbianos; numerosas propiedades ya sea en la sangre o humores, o en su modo de reaccionar frente a nuevas inyecciones de los mismos cultivos, tales que la aparición de precipitinas, de aglutininas, fenómenos de hipersensibilidad, en lugar de una mayor resistencia a la infección, etc. Se comprobó igualmente, que muchas de las propiedades, ya revelables en la sangre, ya en la modalidad de la respuesta a la repetición de inyecciones de cultivos microbianos, aparecían igualmente cuando se inyectaban algunas

substancias orgánicas, de composición compleja; tales como las albúminas.

El concepto de inmunidad, se amplificó así y actualmente podríamos definirlo, como comprendiendo todas las modificaciones, humorales o citológicas, todos los fenómenos que ocurren en el organismo, cuando es tocado o agredido por agentes vivos, microbianos o parasitarios o por substancias químicas, capaces de despertar una respuesta de orden biológico.

En tal sentido, el concepto de inmunidad es independiente de las consecuencias para el sujeto, pudiendo resultar un aumento de resistencia frente a los agentes que lo atacan, una hipersensibilidad para los mismos o simplemente una modificación en la modalidad reaccional. Podríamos agregar, que es un proceso general a todos los seres vivos, animales y plantas, en sus diversas escalas evolutivas y además que es la expresión dentro del orden biológico de la ley física universal, de la oposición de una reacción a la acción.

Dentro del orden de los conocimientos y técnicas actuales, para que el organismo dé una respuesta al ataque de un agente; el agente deberá reunir ciertas condiciones y en tal caso recibe el nombre de *antígeno*. En los comienzos de los estudios sobre inmunidad, solamente eran consideradas como antígenos las células microbianas, de la sangre, de los tejidos, etc.; como si su masa protoplamática, unidad vital, fuera un todo indisociable. Veremos que los estudios posteriores han demostrado, que la propiedad antigénica reside en complejos más simples y que toda célula debe considerarse, no como una unidad antigénica, sino como un conglomerado de antígenos.

Al ataque del antígeno, el organismo responde con la movilización de sus mecanismos de defensa y experimenta cambios, de diversos órdenes que se manifiestan por nuevas propiedades, nuevos comportamientos frente al antígeno, que los diferencian del animal normal. Cuando esos cambios toman asiento en la sangre o en los humores del organismo, y pueden por lo tanto ser verificados "in vitro", se denominan anticuerpos.

Antígenos y anticuerpos, son los términos fundamentales, que resumen en gran parte la esencia de la humanidad. Veremos también, que el *antígeno,* cuando se trata de una célula microbiana viva, no desempeña un rol pasivo frente a las defensas del organismo, sino que además de atacar y de sufrir las consecuencias de la lucha que el organismo le entabla, reacciona a su vez y experimenta modificaciones tendientes a la defensa propia y la inmunidad es la historia de esa lucha, de ese conflicto.

B. DE LOS ANTIGENOS

En los comienzos de la bacteriología experimental, en la época pasteuriana, sólo se tomó en consideración la célula microbiana, como capaz de despertar las reacciones de inmunidad. Mismo esa propiedad se vinculaba estrechamente a la vida de la célula microbiana; porque la noción de la posibilidad de obtener una resistencia contra una enfermedad infecciosa, arrancaba de la comprobación de la resistencia que dejaba tras de sí un ataque de la misma enfermedad.

Las teorías e hipótesis de la época consagraban aún más ese principio, puesto que ponían como base de la inmunidad, ya un agotamiento en el organismo de los elementos utilizables por las bacterias para su nutrición (Pasteur), ya el desarrollo de substancias opositoras originadas del propio metabolismo microbiano (Chauveau). Estas hipótesis, a pesar de la inexactitud originaron resultados fecundos. Pues Pasteur orientó sus investigaciones, para obtener la atenuación de las bacterias y virus, con el fin de producir enfermedades benignas capaces de originar el estado de inmunidad sin riesgo para la vida de los sujetos.

Posteriormente fué demostrado que células bacterianas muertas, eran capaces de despertar reacciones análogas y lo mismo células de otros tejidos tales que las de la sangre.

A la noción de la célula, viva o muerta, como un todo indisociable, siguió la demostración, de que extractos celulares, albúminas y otras substancias inyectadas al animal determinaban respuestas orgánicas de diverso orden, verificable "in vitro"; ya de precipitación o aglutinación, de lisis, etc., y que la obtención de esas respuestas radicaba en distintas parcialidades de la célula, la cual fué considerada como un conglomerado antigénico y el antígeno quedó definido por tres propiedades fundamentales: *a)* Su capacidad para despertar reacciones en el organismo animal; *b)* Su capacidad para reaccionar "in vitro" con los humores procedentes del organismo, que sufrió la agresión del antígeno, y *c)* La especificidad de tales reacciones, es decir que las modificaciones humorales o reaccionales provocadas por la agresión de una substancia-antígeno, sólo se manifiestan en presencia de la célula o substancia que las provocó.

Más adelante se descubrió, que algunas substancias químicas, aisladas de las células microbianas o tisulares, eran capaces de reaccionar "in vitro", con los humores del organismo animal que habían sufrido la agresión de un antígeno. Estas substancias, principalmente lipoides, se mostraron en cambio incapaces de provocar por sí solas, respuestas reaccionales, de anticuerpos u otras, cuando eran inyectadas. Esta noción fué establecida principalmente por Landsteiner, quien creó así la noción del antígeno incompleto o de "Haptene", que es como se le distingue actualmente.

Estos "haptenes", impotentes por sí mismos para despertar reacciones de inmunidad, adquieren esa propiedad cuando son simplemente mezclados a albúminas, tales que a suero de cerdos, de caballo, etc., y más simplemente, a veces, mezclándolos a absorbentes minerales, tales que el caolín, el hidróxido de aluminio, etc.

La importancia de los haptenes, creció enormemente cuando fueron aislados de las bacterias, otras substancias con la estructura de polisacáridos y se demostró que el haptene representa la parte específica del antígeno. Los haptenes polisacáridos, permitieron en los neumococos, establecer una clasificación racional, en grupos precisos. Igualmente los haptenes fueron demostrados para otras bacterias.

Al lado de estos antígenos cuya capacidad reaccional es estrictamente específica, existen otros antígenos que reaccionan de un modo no específico, se entiende del punto de vista de la especie animal del cual proceden. Forssman demostró, que la inyección al conejo de extractos de órganos de cobayos, provoca la aparición de hemolisinas para los glóbulos de oveja; en cambio la inyección a otros animales de extractos de órganos de conejo, no daba el mismo resultado. Se comprobó luego que en la escala zoológica bajo el punto de vista de ese comportamiento, las especies animales se podían clasificar en dos grupos. Unos comportándose como el cobayo, es decir, poseedores en sus órganos de esos antígenos y otros, como el conejo.

Dentro del primer grupo estarían además del cobayo, el caballo, perro, gato, ratón, algunas aves, la tortuga, etc., y dentro del segundo, el hombre, conejo, vaca, oveja, rata, ganso, paloma, anguila, etc. En los sujetos del grupo del conejo, puede existir el antígeno en los glóbulos rojos, pero no en los órganos, como en la oveja y en el hombre (grupos sanguíneos A y AB).

A estos antígenos capaces de despertar reacciones humorales para antígenos procedentes de otras especies, se les ha llamado antígenos heterogenéticos, heterófilos o de Forssman. El haptene de estos antígenos o sea la parte específica de los mismos, reside en una fracción lipoide, soluble en el alcohol. Los anticuerpos correspondientes, llamados hetero-anticuerpos, obran floculando a estos lipoides y fijando el complemento.

Los antígenos heterogenéticos tienen una distribución desigual en los distintos órganos de un mismo animal. Son más ricos los riñones e hígado y parece general, que cuando existen en los glóbulos rojos de una especie, no existe en los demás órganos.

Además de estos antígenos de origen exógeno, es decir que proceden de otra especie animal, existen otros grupos de antígenos que ya proceden de la misma especie, pero de distintos individuos, ya

del mismo individuo por modificaciones orgánicas derivadas de infecciones. En el primer caso se hablará de iso-antígenos e iso-anticuerpos y en el segundo, de auto-antígenos y auto-anticuerpos.

La noción de iso-antígenos e iso-anticuerpos, resulta de verificaciones experimentales y tiene su más elevada expresión en la existencia de los grupos sanguíneos.

En cuanto a los auto-antígenos, responden a la hipótesis formulada para interpretar, como en algunas infecciones, tales que la sífilis humana, el organismo enfermo adquiere la propiedad, presente en el suero sanguíneo, de reaccionar con extractos de sus propios órganos y que son la base de los métodos de diagnóstico, de floculación y fijación del complemento. Estos hechos pueden interpretarse, como si el treponema produjera la liberación de substancias de los órganos, las que actuarían en tal caso como substancias extrañas al sujeto.

Se ha verificado, que la célula es un conglomerado de parcialidades antigénicas, es decir que la inyección a un animal, de una suspensión de determinada bacteria o célula, puede originar numerosas modificaciones, humorales o reaccionales; cada una de las cuales puede demostrarse in vivo o in vitro, por una acción sobre determinado componente de la bacteria o célula. Es que la cualidad antigénica, reside en una molécula aunque ella debe tener cierto grado de complejidad para poseer aquella cualidad.

Se han descripto y aislado en las bacterias, numerosos antígenos, más especialmente en el grupo de salmonellas. Así por ejemplo, se ha aislado un antígeno H, que corresponde a los flagelos y un antígeno O, al soma y dentro de ellos, numerosas parcialidades que han servido de base para una clasificación racional de las salmonellas y de otras especies microbianas. En el mismo grupo salmonella, se ha descripto un nuevo antígeno, el Vi-, que lo poseerían los gérmenes recientemente aislados de las infecciones. Sería un antígeno de gran valor para obtener la infección y la inmunidad.

Dentro de este orden de hechos, yo deseo llamar la atención sobre los glóbulos rojos de la oveja. Estas células se nos muestran como el reactivo más universal del punto de vista de los fenómenos de inmunidad.

En oportunidad de mis primeros trabajos sobre suero-diagnóstico de la lepra, pude comprobar, que ningún otro glóbulo presenta la particularidad en grado tan elevado de ser sensible a los anticuerpos leprosos. Por otra parte, los glóbulos de oveja se muestran aptos para el diagnóstico de la enfermedad de Pfeiffer, por la presencia en esa enfermedad de aglutininas de acción electiva; es también el antígeno universal para despistar los anticuerpos de Forssman; en el suero humano y de otras especies animales, se encuentran hemolisinas para esos glóbulos, etc.

C. DE LAS CONDICIONES PARA OBTENER LA RESPUESTA DEL ORGANISMO A UN ANTIGENO

Para que las reacciones de inmunidad tengan lugar, es necesario que el agente microbiano o el antígeno, entre en contacto íntimo con los tejidos. El organismo animal ofrece una primera barrera de defensa en la envoltura cutánea y en las envolturas mucosas que directa o indirectamente se comunican con el exterior.

La envoltura cutánea tiene un rol protector, mecánico pasivo, uniforme en toda su extensión y también un rol activo; es decir que es capaz de desembarazarse, en poco tiempo de agentes patógenos colocados en su superficie, no así de algunos estafilococos y difteroides ya adaptados. Pero esta protección, está estrechamente vinculada a su integridad anatómica, histológica, bastando para anularla la simple acción de afeitar. En cambio las mucosas ofrecen una desigual resistencia, porque son envolturas adaptadas a funciones especilizadas. No es lo mismo la mucosa ocular, que la respiratoria, bucofaringea o digestiva. Todas ellas disponen de secreciones para alejar los agentes que atacan, pero la eficiencia no es la misma. El aparato digestivo es especialmente adaptado para defender al organismo de la entrada de bacterias y otros antígenos. La secreción ácida del estómago y los jugos digestivos, hacen inadecuado el medio para la pululación microbiana, y los fermentos producen la demolición de los complejos antigénicos, evitando su entrada como tales al medio interno. Las mismas infecciones anteretropas, tales como el B. de Ebert y otras salmonellas, parecen que no siguen la vía digestiva para su instalación definitiva en la mucosa intestinal. Las amígdalas tienen un rol protector, a la par que sirven de puerta de entrada para muchos agentes de la infección. A ese respecto es interesante lo que ocurre en el cerdo. Muchas infecciones, tienen su punto de partida más frecuente en la amígdala, así por ejemplo el carbunclo bacteridiano y la tuberculosis. La alcalinización del tubo digestivo, disminuye muy sensiblemente el rol protector del mismo por lo menos asegura o más bien protege el tránsito de las bacterias patógenas en el curso del mismo, un rol análogo posee la bilis.

Aunque numerosas experiencias tienden a probar que por lo menos cuando se realizan determinadas condiciones, es posible obtener una respuesta de inmunidad utilizando la vía digestiva, para la obtención regular de tales respuestas se hace necesario el uso de las vías paraenterales; subcutánea, intramuscular, intravenosa, etc., aunque ellas se prestan en grado desigual según los antígenos y los propósitos que se persiguen.

D. DISTINTAS RESPUESTAS DEL ORGANISMO A LOS ANTIGENOS LOS ANTICUERPOS

Cuando el organismo animal es atacado por antígenos, pueden originarse numerosas respuestas, revelables por la presencia de anticuerpos circulantes en la sangre o modificaciones reaccionales.

Como anticuerpos debemos mencionar, las precipitinas, las aglutininas, las lisinas, ya bacterianas, bacteriolisinas, ya celulares, citolisinas, de las cuales las más importantes son las humolisinas, antitoxinas, opsoninas, bacteriotropinas y anticuerpos fijadores del complemento.

Como modificaciones reaccionales, debemos citar: un aumento de resistencia a la infección, o inmunidad antiinfecciosa, a las toxinas o inmunidad antitóxica, una hipersensibilidad o anafilaxia y la alergia, pudiendo incluirse también bajo ciertos aspectos la atopia.

Las precipitinas y aglutininas, son anticuerpos muy comparables en su comportamiento "in vitro". Ambos tienden a condensar los respectivos antígenos y se rigen por las mismas leyes.

Las precipitinas toman nacimiento cuando se inyecta al organismo un antígeno dispersado, albúmina o polisacárido por ejemplo o cuando por la existencia de una infección se dispersan en el organismo parcialidades antigénicas. Ellas son estrictamente específicas y sirven de base para numerosas verificaciones biológicas. Por ejemplo para el diagnóstico de enfermedades, ya sea por la presencia del antígeno circulante (precipitógeno), como en el carbunclo bacteridiano, ya por la presencia de precipitinas como en la tuberculosis. Pero la mayor aplicación la tienen en la determinación de la especificidad biológica de las albúminas, para diferenciar las albúminas de una especie animal, de las de otras especies.

Se entiende que las precipitinas se ponen en evidencia, por la aparición de un precipitado, cuando se mezclan el anticuerpo (suero del animal que recibió la inyección de antígeno), con el antígeno "in vitro". Pero es necesario realizar determinadas condiciones. En primer lugar, las reacciones de precipitación sólo se producen en presencia de electrolitos, el anticuerpo puede unirse al antígeno, pero la precipitación sólo tiene lugar cuando hay electrolitos, por ejemplo, NaCl, en concentración apropiada. En segundo lugar deben estar presentes en ciertas proporciones relativas. Un exceso de precipitina (anticuerpo) o de antígeno, establecen una tendencia a detener la producción de la reacción, es decir, obran como dispersantes. Para cada sistema anticuerpo-antígeno hay una proporción óptima para la producción del fenómeno; este óptimo que se denomina "óptimo-antígeno-anticuerpo", se revela por una precipitación más intensa y sobre todo por una mayor velocidad en hacerse ostensible.

Esta particularidad ha sido utilizada últimamente con gran eficiencia para la medida precisa de antitoxinas; por ejemplo el suero antidiftérico, después de los trabajos de Ramón.

Cuando se inyecta al caballo toxina diftérica para obtener la antitoxina correspondiente, el suero adquiere la propiedad de precipitar específicamente la toxina y su poder precipitante, es absolutamente paralelo a su propiedad antitóxica. Cuando se ponen en presencia "in vitro" en una serie de tubos, por un lado la antitoxina, en cantidad fija y por otro una toxina diftérica de potencia conocida, esta última en cantidad variable, en uno de los tubos de la serie, aparecerá más rápidamente la precipitación y corresponderá al óptimo de anticuerpo en el sentido de una neutralización.

Las aglutininas, toman origen principalmente cuando actúan como antígenos cuerpos microbianos o células de los tejidos. Aparecen en el curso de numerosas enfermedades infecciosas, prestándose en tal caso para el diagnóstico de las mismas, por pruebas "in vitro".

Las reacciones de aglutininas y aglutinógenos, se rigen por leyes muy semejantes a las de precipitación biológica. Es decir, sólo tienen lugar en presencia de electrólitos y son influenciables por las proporciones relativas de anticuerpos y antígenos, aunque el óptimo-anticuerpo-antígeno, no es siempre fácilmente observable.

Una misma bacteria puede dar origen a numerosas aglutininas, cada una de las cuales es la respuesta a un aglutinógeno. La inyección, por ejemplo, de una suspensión de bacilo de Eberth, generará aglutininas flagelares y somáticas, que pueden ser puestas de relieve por el tipo de aglutinación y por pruebas de absorción.

Las *lisinas* son anticuerpo con propiedades opuestas, podríamos decir, a las precipitinas y aglutininas, toman origen principalmente por inyecciones de células bacterianas o tisulares y se caracterizan por su propiedad de ataque a la célula tendiente a dispersarla, a disolverla. Pueden originarse igualmente por inyecciones de extractos de órganos y lipoides, como los antígenos eterogenéticos, que dan lugar a la aparición de las hemobisilinas antioveja. La lisina tipo es la hemolisina, que provoca la lisis de los glóbulos rojos y que se obtiene, por ejemplo, cuando al conejo se inyectan glóbulos de oveja.

Las condiciones para la realización del fenómeno "in vitro" son distintas, que para las precipitinas y aglutininas. Un suero calentado media hora a 56° puede provocar la precipitación o la aglutinación, pero no la lisis. Es que la lisis exige la presencia de la cualidad inherente a todo suero recién extraído del animal, que se conoce bajo la denominación de complemento o alexina. Cuando a un suero lítico le falta el complemento, cuando ha sido inactivado, como se dice en inmunología, ya sea por calentamiento o por envejecimiento, la lisis no tendrá lugar, sin embargo los anticuerpos

están presentes y pueden recobrar su actividad por el agregado de una pequeña cantidad de suero fresco, en tal caso, de cualquier especie animal.

Las antitoxinas forman un grupo muy importante de anticuerpos por su alcance teórico y práctico. Ellos se obtienen inyectando a los animales, toxinas, es decir productos tóxicos de origen microbiano, animal, o vegetal, cuya acción reside en una molécula albuminoidea. Poseen la propiedad de neutralizar "in vivo" e "in vitro", el antígeno tóxico que las ha originado y ocupan un lugar preponderante en la terapéutica biológica de numerosas enfermedades, tales la difteria, el tétano y varias enfermedades a anaerobios. Como las toxinas son antígenos dispersados, provocan también la aparición de precipitinas, las que por guardar un paralelismo estrecho con el contenido del mismo suero en antitoxina, se prestan para la medida de la potencia antitóxica, por lo menos para algunos tipos de sueros.

Los anticuerpos fijadores del complemento, aparecen en muchas enfermedades, especialmente en enfermedades prolongadas. Pueden también obtenerse experimentalmente, por inyección de antígenos, como se ha hecho para el B. de Koch y el treponema de la sífilis. Se caracterizan por la propiedad de que cuando se unen a su antígeno correspondiente y hay presente complemento, el complemento es también fijado al sistema. Actúan, como se dice en lenguaje inmunológico, como "amboceptores", por una parte se unen al antígeno y por otra al complemento. La presencia de esos "amboceptores" sirve de base para el diagnóstico, de enfermedades tales que la sífilis, brucelosis, hidatidosis, etc.

Las opsoninas y bacteriotropinas, son anticuerpos, que se manifiestan por propiedades que aparecen en los sueros, de estimular la fagocitosis y ayudan a los procesos orgánicos de defensa.

Además, de estos anticuerpos que aparecen en el organismo, como consecuencia de un estado de enfermedad o bajo el estímulo de inyecciones para-enterales de diversos antígenos, se ha verificado en el hombre y animales, la presencia de anticuerpos, sin ninguna vinculación aparente a un estado anterior de enfermedades, razón por la cual se les distingue bajo la denominación de "anticuerpos naturales".

A los anticuerpos naturales, se les atribuyen varios orígenes. En primer lugar, un origen materno, el que puede producirse por dos vías distintas. En algunas especies, como en el hombre, perro y roedores, por vía placentaria, y en otras especies, como en los porcinos y bovinos, por la secreción mamaria de los primeros días, el calostro. El pasaje por la vía placentaria para esas especies, está vinculado a la estructura de la placenta, a su permeabilidad, dependiente del número de capas celulares.

En Veterinaria estos hechos tienen mucha importancia en las infecciones de los animales de pocas semanas. Theobaldo Smith, estableció que los terneros que no se amamantaban en la madre sufrían considerablemente por infecciones intestinales y que esos trastornos se evitaban seguramente por la inyección de sangre materna. Esta práctica es de gran utilidad para preservar a los animales jóvenes de infecciones respiratorias e intestinales.

La circunstancia de que en la especie humana, la placenta sea permeable al pasaje de anticuerpos de la madre al feto, no excluye de que el recién nacido beneficie también de un cierto aporte de anticuerpos de origen mamario.

Pero la presencia de anticuerpos naturales no puede ser explicada solamente por el origen maternal. Pues esa inmunidad pasiva de origen maternal sólo puede durar un tiempo muy breve, y las investigaciones sistematizadas sobre el contenido en el suero de algunos anticuerpos naturales, como la antitoxina diftérica, al través de las diversas edades de los sujetos, demuestran variaciones muy sugestivas, en el sentido de un origen por ataques de infecciones inaparentes. En efecto a un breve período de algunos meses de edad, en que es verificable la antitoxina en un porcentaje elevado de sujetos, y que son posiblemente de origen materno, sigue luego un período, en que la antitoxina disminuye en frecuencia, para reaparecer nuevamente y esta vez progresivamente hasta la edad avanzada. Por otra parte el estudio de grupos humanos, demuestra que la presencia de antitoxinas para la difteria y la escarlatina, está en relación con la existencia de un estado de infección en el mismo grupo.

E. DEL LUGAR DE LA FORMACION DE LOS ANTICUERPOS EN EL ORGANISMO ANIMAL

No disponiendo de tiempo para desarrollar este punto con la debida amplitud, debo limitarme a señalar las ideas dominantes, en relación con los resultados experimentales.

Metchnikoff fué el primero en establecer de un modo experimental la naturaleza de los resortes que el organismo pone en juego para defenderse de las infecciones, demostrando la participación activa de los glóbulos blancos de la sangre, los polinucleares y de otros elementos presentes en la sangre y en los tejidos, que en la terminología de ese investigador se distinguen con la denominación de micrófagos y macrófagos. Tratándose de reacciones despertadas en las cavidades, por ejemplo en el peritoneo, la primera movilización corresponde a los polinucleares o micrófagos, la que es seguida de la invasión de los macrófagos o células monocitarias;

que barren con las bacterias no englobadas por las primeras y también con los micrófagos alterados, repletos de bacterias.

Estudios posteriores demostraron que cuando se inyectan por vía sanguínea, suspensiones granulares finas o bacterias; tales masas corpusculares son atrapadas por elementos celulares dispersos en distintos sectores del organismo, fijos unos, circulantes o errantes otros, desarrollando una acción análoga a la de los macrófagos de Metchnikoff. Aschoff, dió unidad a esos distintos elementos celulares, agrupándolos bajo la denominación de Sistema Reticulo Endotelial. Este sistema está formado por elementos fijos distribuídos en ciertas partes del endotelio vascular del hígado, del bazo, de la médula ósea, de los ganglios linfáticos, etc., y elementos errantes en los tejidos, que pueden hacerse libres en la circulación sanguínea.

Las investigaciones de estos últimos años, parecen establecer de un modo indudable, que la defensa principal del organismo animal reside en los elementos que integran el sistema retículo, endotelial y que ellos son los elaboradores de los anticuerpos.

F. DE LA PRODUCCION DEL ESTADO DE INMUNIDAD, EN EL SENTIDO DE LA OBTENCION DE UN GRADO UTIL DE RESISTENCIA CONTRA LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

a) Inmunidad y premunición.

Nos hemos ocupado sumariamente de las respuestas del organismo a los diversos agentes antígenos; ahora nos referimos, aunque brevemente, a algunos puntos que tienen relación con el aumento de la resistencia a las infecciones.

Cuando el organismo animal es agredido por los agentes de una infección, procedan éstos de un contagio natural o provocado experimentalmente, responde movilizando sus elementos de defensa y como consecuencia del conflicto entablado, puede resultar: a) la infección progresa y el sujeto sucumbe; b) la infección es liquidada de un modo completo y c) la infección es detenida o retardada y se establece un estado de convivencia entre el sujeto y el agente de la infección, estado que puede durar un tiempo más o menos largo, con suerte variable.

Cuando el sujeto ha curado de una enfermedad infecciosa puede ser seguido del establecimiento de un estado de inmunidad en el sentido de resistencia aumentada frente a un nuevo ataque del mismo agente. Estos hechos sirvieron de base para los procedimientos de vacunación, instituidos por la observación, a partir de Jenner y de un modo experimental a partir de Pasteur y sus contemporáneos.

Dentro de este tipo de infecciones, tenemos el carbunclo bac-

teridiano en los animales, el cólera aviario, el tifus humano, difteria, etc., en que, liquidada la enfermedad o terminado el proceso de vacunación provocada, se liquida también la infección, los gérmenes desaparecen, por lo menos como agentes de infección para el mismo sujeto (en algunas enfermedades pueden quedar portadores por algún tiempo) y queda instalado un estado de resistencia sólida. A este estado corresponde la denominación de inmunidad "sensu stricto".

Aunque este resultado es lo general para las enfermedades microbianas y a virus, no ocurre lo mismo con algunas enfermedades microbianas y con la mayoría de las producidas por protozoarios. Hay enfermedades microbianas tales como la brucelosis en los animales, la fiebre ondulante en el hombre y la tuberculosis en todas las especies, que la infección sigue un curso lento, prolongado, estableciéndose un estado de convivencia entre el sujeto y el agente de la infección, un cierto estado de equilibrio en que a veces el sujeto le lleva ventajas y la infección tiende a ser dominada, y otras veces, la ventaja está de parte de la infección, ya fuere por aumento de virulencia o por declinación de la resistencia del sujeto. Como consecuencia de estas oscilaciones en la potencia de los factores en juego, la enfermedad tiende a extinguirse o hace un empuje evolutivo, como se comprueba frecuentemente en la tuberculosis humana.

En este tipo de infección se realiza un estado de resistencia a nuevas infecciones, pero esta resistencia está condicionada a la permanencia de la infección en algún grado y si ella es liquidada por evolución o por la interposición de un tratamiento adecuado, el estado de resistencia cesa y el organismo queda en estado de receptividad a nuevas infecciones por los mismos gérmenes. Este tipo de inmunidad se distingue bajo la denominación de "inmunidad-infección" o más propiamente de "Premunición", creado por Sergent.

Los métodos de "premunición" provocada, instituídos para prevenir ese tipo de infección, implican pues el uso de cultivos microbianos vivos, de virulencia baja, pero suficiente para instalar en el sujeto una infección benigna, pero más o menos permanente. La instalación preliminar de una infección de grado bajo, determinará el mantenimiento de los resortes defensivos y ese juego de actividades orgánicas se revela frecuentemente por una modificación en la modalidad reaccional del sujeto frente al mismo antígeno, que es la base de nuestros conocimientos, sobre la llamada "alergia", cuya comprobación sirve de base para la verificación del estado de infección y de resistencia o premunición.

Estos estados, que son, podríamos decir, la excepción dentro de las enfermedades microbianas y a virus, constituyen la regla

en las enfermedades o protozoarios, inclusive en la sífilis humana, aunque pueda caber alguna duda sobre el lugar del agente, del treponema, dentro de las clasificaciones actuales. Tenemos en el hombre además las malarias y en los animales las piroplasmosis. En las piroplasmosis, sobre lo cual tengo alguna experiencia personal, puedo manifestar, que es el ejemplo más típico de la infección permanente con equilibrio inestable. Los ganados del norte del país, tienen un estado de resistencia a la garrapata, por la infección piroplásmica permanente; pero los animales están expuestos a sufrir ataques agudos de tristeza bovina, cuando intervienen factores adversos intercurrentes, bastando marchas forzadas, una enfermedad anergizante como la peste bovina o simplemente un traumatismo importante.

Deseo ahora referirme a algunos puntos de interés respecto al comportamiento del organismo, en los procesos de inmunidad. Cuando el organismo es tocado por primera vez por un antígeno, la respuesta de inmunidad, en el sentido de la producción de anticuerpos o de resistencia aumentada a la infección, sigue un proceso, en cierto modo prolongado. El ataque es seguido, podríamos decir de una fase negativa, en que el sujeto más bien resultaría más sensible al antígeno, esta fase es seguida de la reacción específica que lo lleva al estado de inmunidad, período que comprenderá, de un modo casi general, varios días. Pero este organismo que ya ha sido tocado por un antígeno, si en breve plazo es agredido nuèvamente por el mismo antígeno, dará una respuesta más rápida y más intensa en el sentido útil. De estos hechos ha derivado la práctica de las inyecciones múltiples en los procedimientos de vacunación, habiéndose demostrado, por lo menos para las toxinas, que a igualdad de cantidad de un mismo antígeno, el procedimiento de la misma dosis, en dos o tres inyecciones, da un resultado superior que la inyección única.

Trabajos de estos últimos años han demostrado hechos aún más interesantes. Desde la época de Pasteur era aconsejado y constituía la práctica habitual, que cuando había que dar a un sujeto varias inyecciones de antígenos microbianos, se alternaban los lugares de aplicación de las inyecciones, por ejemplo, la primera brazo izquierdo, la segunda brazo derecho y así sucesivamente, como si hubiera una contraindicación en insistir en los mismos puntos. Las investigaciones de Ramón y otros han demostrado que por el contrario, la aplicación sucesiva de inyecciones en lugares muy próximos, realizan las condiciones óptimas para la producción de la inmunidad, como si los tejidos "in situ", adquirieran una capacidad para la respuesta, en un grado más alto que el resto del organismo. A este procedimiento, Ramón lo distingue con la denominación de "inmunización-concentrada". El Profesor Berta y colaboradores de-

mostró los mismos hechos entre nosotros, y designó el fenómeno con la denominación de "inmunización-isotópica", que nos parece más adecuada. Cuando se deba dar grandes cantidades de antígeno sucesivamente, podrá elegirse dos o más puntos del organismo, alrededor de los cuales se darán las inyecciones sucesivas.

Deseo igualmente llamar la atención sobre otras nuevas conquistas en la inmunología, quiero referirme a los llamados antígenos o vacunas activadas.

Hace algunos años Ramón había llamado la atención, de que el agregado de algunas substancias insolubles a los antígenos, incorporados al ser inyectados, provocaban respuesta más intensa en anticuerpos. Estas técnicas fueron aplicadas por numerosos investigadores para la preparación de antitoxinas. El mismo Ramón y colaboradores, estudiaron los resultados por el agregado de sustancias salinas a los antígenos microbianos. Pero en estos últimos años ocurrió la idea feliz de aplicar a las técnicas bacteriológicas, algunos métodos de estudios de los fermentos tales como los absorbentes introducidos por Willstaetter.

Estos trabajos fueron iniciados por los daneses Schmidt y otros. Pudieron comprobar: 1.º) que el uso de absorbentes agregados a los antígenos, pueden anular la acción tóxica o virulencia, en el sentido de evitar un ataque agudo al sujeto y provocar en cambio inmunidad alta; 2.º) que el agregado de absorbentes tales como algunos hidróxidos de aluminio, elevan enormemente el valor antigénico en el sentido de una respuesta elevada de anticuerpos y que es posible obtener por tales procedimientos con una sola inyección de antígeno, un grado tan elevado de resistencia que pueden suplir a las inyecciones múltiples de antígenos. Estos antígenos o vacunas se les distingue con la denominación de "antígenos o vacunas activadas".

Debo agregar que estos procedimientos han permitido obtener resultados altamente satisfactorios, en enfermedades como la fiebre aftosa, en que se había fracasado hasta la fecha y mismo ha sido posible preparar vacunas a virus muertos, contra esa enfermedad, cuestión que parecía impracticable dentro de las técnicas anteriores.

Pienso que estos hallazgos tan importantes podrían explicarse, por lo menos en parte por la fijación "in situ" de los antígenos, en virtud de la presencia del absorbente, el que cediendo gradualmente el antígeno al sujeto, realizaría las condiciones óptimas de una inmunización isotópica a fases sub-intrantis.

SOBRE IXODES RICINUS

SU COMPROBACION EN EL PAIS. — DATOS SOBRE SU BIOLOGIA. MEDIOS DE LUCHA

(CON LA COLABORACION DEL DR. VARELA CALZADA)

Publicado en folleto del Laboratorio de Biología Animal - Dirección de Ganadería - 1943

El Jefe de la Sección Inspecciones Regionales, Dr. Humberto Badano, pasó una nota a esta Sección manifestando que habiéndose comprobado la existencia en el país del I. ricinus, estimaba de interés que este Laboratorio, informara sobre los medios para la lucha contra esa garrapata, dado que tiene una evolución distinta, a la de la garrapata común del ganado.

En un informe producido por esta Sección en agosto de 1942, se adelantaron algunos datos sobre la biología del I. ricinus y las dificultades que ofrece para la lucha, derivados precisamente de su ciclo evolutivo.

En el presente informe, se da cumplimiento, en forma más completa a lo solicitado por el Dr. Badano, compilando todo lo que se ha estimado conveniente para los fines señalados.

I. — GENERALIDADES. — SU COMPROBACION EN EL PAIS

El I. ricinus, es una garrapata que parasita numerosas especies animales: aves, mamíferos, etc.; entre los mamíferos a los bovinos, equinos, lanares, cérvidos, perros, etc., y hasta al hombre; es pues una especie muy cosmopolita.

El I. ricinus, está muy difundido en el mundo; es por excelencia la garrapata de los países europeos: Alemania, Francia, Inglaterra, Bélgica, Italia, España, Balcanes, etc., además en Asia, Africa y América. Ella es la responsable principal en muchos países de algunas formas de piroplasmosis, de donde deriva el interés de su erradicación.

En nuestro país, ella fué señalada en algunos departamentos del Este; datando la primera publicación del año 1936 (V. Calzada. Primera comprobación de I. ricinus (nueva sub-especie) en el Uruguay. — Boletín de la Dirección de Ganadería, N.º 2, 1936). Esta publicación partió de un hallazgo del Dr. Miguel L. Galain, en un establecimiento del departamento de Rocha. Más tarde se

recibieron por intermedio del Dr. Tedesco nuevos ejemplares del departamento de Maldonado y se habría comprobado también en el departamento de Lavalleja. A ese respecto el Dr. Calzada hizo una segunda publicación (Nueva comprobación de Ixodes ricinus en el país, (Boletín de la D. de Ganadería, N.º 3, 1938).

II. — IMPORTANCIA DEL PUNTO DE VISTA DE LA SANIDAD ANIMAL

El I. ricinus, está indicado en la bibliografía, como el responsable casi universal de la trasmisión al ganado de la Babesia bovis (o Babesiella) y por algunos autores (Zeller y Helm) también del Anaplasma, y de ambas especies de hematozoarios tenemos representantes en el Uruguay, la Babesiella o Piroplasma argentinum y el Anaplasma marginale.

Tanto el I. ricinus como los hematozoarios nombrados, Babesiella, están difundidos en los países europeos, Inglaterra, Alemania, Balcanes, Finlandia, Rusia, etc., Asia, Africa, América, etc., de manera que no se trata de parásitos de regiones tropicales, que solamente factores de orden excepcional pudiera justificar su presencia en el Uruguay.

Es muy probable, casi seguro, que el I. ricinus en el Uruguay por lo menos en los departamentos de Maldonado, Lavalleja y Rocha, en los que ha sido comprobado hasta la fecha, no se encuentren infestados por piraplasmas. Pero de eso no se podrá racionalmente sacar la conclusión de que su acción es innocua; podrá ser innocua en el momento presente, pero en forma alguna nadie estaría capacitado para afirmar que igualmente lo será dentro de un plazo breve o largo.

En efecto. Primero, la introducción en las actuales regiones a I. ricinus, de animales portadores de piroplásmidos, pueden producir la infestación del I. ricinus y cambiar el panorama. La limitación de la Tristeza en nuestro país en forma permanente a la zona norte del Río Negro y a algunos lugares del sur, está estrechamente vinculada, a las condiciones de la permanencia de la garrapata común que la vehícula y es sabido que cuando aparecen circunstancias favorables al trasplante de la garrapata, se producen mortandades grandes por Tristeza.

Es muy probable que la no existencia de Tristeza, en esos departamentos, en las zonas a I. ricinus, se deba al régimen de cría del ganado, a que no son frecuentadas o lo son en grado mínimo, por ganados parasitados por piroplásmidos.

Segundo, no está de ninguna manera probado que I. ricinus, actualmente existe sólo en algunas regiones, no pueda ser injertado también en otras regiones del país, en zonas de Tristeza y con las consiguientes gravísimas consecuencias. Pues como decíamos más

arriba, no se trata de una especie que reúna condiciones de exigencia vitales de un orden excepcional, puesto que su difusión en el mundo es enorme. Debemos atribuir ese hecho por tales razones, a factores puramente de orden circunstancial y todos sabemos la gravedad que acarrearía una tal difusión, conociendo las dificultades para la erradicación del I. ricinus, dado su ciclo de vida parasitaria y su resistencia a los agentes naturales.

III. — BIOLOGIA Y EVOLUCION DEL IXODES RICINUS

Esta garrapata se aparta completamente en su evolución, de la garrapata común del ganado (Boophilus microplus), necesitando para cumplir su vida parasitaria completa, pasar por tres hospedadores; uno para el estado larval, otro para el estado ninfal y otro para los estados sexuados. La terminación de cada estado evolutivo se cumple en el campo, en el suelo; la larva se trepa a los animales y cae al suelo para transformarse en ninfa, luego se trepa como ninfa y vuelve a caer al suelo para dar el estado sexuado, macho o hembra, los que vuelven a trepar a los animales, para luego, las hembras caer al suelo en su madurez, desovar y dar larvas.

Como los factores que influyen sobre esos estados evolutivos son variables en el suelo, por las distintas condiciones de los diversos lugares y por influencias meteorológicas, el ciclo evolutivo del I. ricinus, por lo menos en cuanto a su duración, está muy afectado de variaciones, las que tienen lugar dentro de límites muy amplios, cumpliéndose el ciclo en términos desde pocos meses a varios años; contrariamente al de B. microplus, que solamente, es afectado de un modo sensible en los desoves y eclosión de las larvas, dado que el resto de su ciclo se cumple en forma estrictamente parasitaria al amparo del calor de la piel del huésped.

Los tres hospedadores por los que debe pasar el I. ricinus para cumplir su ciclo evolutivo completo, pueden ser de diversas especies. Pero parece probado que al estado larval corresponde el mayor cosmopolitismo, parasitando a las aves, pequeñas especies de mamíferos, etc., en cambio las ninfas y sobre todo los estados sexuados prefieren los mamíferos, entre ellos las medianas y grandes especies.

Resumiremos a continuación la evolución del I. ricinus: La hembra facundada que cae de su huésped, pone de 1.000 a 5.000 huevos. El período del desove dura de una a dos semanas y el de incubación unas seis semanas, al cabo de las cuales los huevos eclosionan, dando nacimiento a las larvas, que después de 3 o 4 días que tardan en robustecerse ya están en condiciones de prenderse a su huésped, comenzando así la vida parasitaria. Como las larvas de Boophilus microplus, también éstas trepan a los tallos de las plantas a la espera del huésped. Cuando lo encuentran se prenden a la piel,

comienzan a chupar sangre, permanecen durante 3 a 6 días y luego caen. En el suelo sufren la primera muda transformándose en ninfas en el término de unas cuatro semanas, y como las larvas, también estas trepan en el pasto, a la espera del huésped, para poder así con más facilidad, alcanzar la piel de su nuevo huésped. Alcanzado este, permanecen en él chupando sangre, de tres días a una semana, al cabo de la cual caen al suelo donde permanecen ocho semanas. Al fin de este plazo, ya se encuentran transformadas en estados sexuados: machos o hembras Neoginas, las que suben nuevamente a un huésped y después de 6 a 9 días caen. La duración del desarrollo desde el momento de comenzar el desove, hasta la caída de las hembras sexuamente maduras, es término medio, de 19 semanas a seis meses. En todos los estados sus huéspedes pueden ser mamíferos o aves, aunque en los estados jóvenes (larva y ninfa) tienen preferencia por los pájaros y en los adultos por los mamíferos. En nuestro país parece que esto también fuera así, porque, por lo menos todos los ejemplares encontrados hasta ahora en mamíferos: bovinos, ovinos y Guazubirá (venado del bosque) han sido estado sexuados (Neoginas, Partenoginas, Teleoginas y machos).

Morfología e identificación. — Respecto a los estados jóvenes: larvas, ninfas y también huevos, sólo podemos ilustrar con datos tomados en la bibliografía, porque no hemos tenido a la vista ningún ejemplar de esos estados.

Los huevos son de forma ovalada, tienen color marrón aunque fueron observados de color amarillento o rojo. Sus dimensiones son de mm. 0,50—0,55 de largo por mm. 0,27 a 0,33 de ancho. La larva tiene un largo de 0,7 a 0,8 mm. y un ancho de 0,42 a 0,50 mm. Su cuerpo es parecido al del gorgojo con tres pares de patas. Una vez llena de sangre, su largo alcanza a 1.25 mm. y su ancho a 0,8 mm. y es entonces de color negro marrón.

La ninfa tiene un largo de 1,3 mm., un ancho de 0,74 mm., tiene el cuerpo parecido al de la larva, pero provisto de cuatro pares de patas. Una vez llena de sangre, mide alrededor de 2,0 mm. de largo por 1,25 mm. de ancho y es de un color gris obscuro.

La hembra joven (Neogina) es casi circular y mide alrededor de 2 mm. de largo por 1,8 mm. de ancho. Las Partenoginas llegan a tener 4 a 5 mm. de largo por 3 a 4 mm. de ancho.

Cuando están en este estado (Neoginas y Partenoginas) es cuando Ixodes ricinus es más susceptible de ser identificado, ya sea a simple vista o mejor con ayuda de una lupa.

En ambos estados el color del cuerpo es beige amarillento, sin brillo, este color hace contraste con el color negro que tienen sus miembros, así como el escudete y la cabeza (órganos bucales) y sólo se diferencian entre ellas en que las Partenoginas son más grandes que las Neoginas y más alargadas. Por otra parte las primeras fre-

cuentemente se las encuentra con el macho acoplado. En su último estado, fecundada y llena de sangre. (Teleogina) alcanza un largo de 10 a 15 mm. y un ancho de 5 a 8 mm.

Según algunos autores, en este estado, es de color gris ceniza, a veces tira a marrón o amarillento y tiene cuatro pares de patas. El macho es más pequeño y no aumenta su volumen por replesión de sangre.

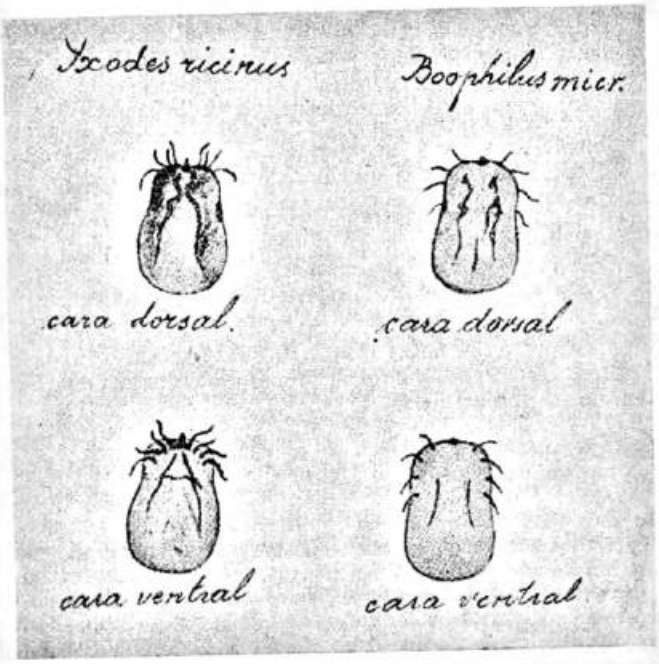
Los ejemplares que se han obtenido en nuestro país se alejan algo de esta descripción. Las hembras Teleoginas son bastante semejantes a las del Boophilus microplus, vale decir, color verdoso aceituna, y por lo tanto se prestan a confusión. El detalle más visible —y que más se presta para distinguir una de otra— es que Ixodes ricinus tiene sus miembros, escudete y órganos bucales color negro, mientras que estos órganos en B. microplus son de color marrón. Además los órganos mucales de Ixodes son bastante largos, mientras que en Boophilus son muy cortos. Además la hembra Ixodes es más angosta adelante que atrás, mientras que la similar Boophilus es uniformemente elipsoide. Otra diferencia macroscópicamente aparente es la implantación de los miembros en el cuerpo. En Ixodes hembra están agrupados hacia adelante siendo la del último par de miembros en el tercio anterior, mientras que en el Boophilus están implantados más atrás, correspondiendo la del 4.º par de patas, aproximadamente al medio de la longitud del cuerpo. (Ver lámina página siguiente).

El macho es más pequeño, apenas del tamaño de una Neogina recién nacida, midiendo 3 mm. de largo, por 1,5 mm. de ancho, de forma elipsoide y de color castaño obscuro, negruzco.

IV. — INFLUENCIA DEL MEDIO AMBIENTE SOBRE EL CICLO EVOLUTIVO

El I. ricinus, es la garrapata podríamos decir de los lugares húmedos y bosques. Los huevos y larvas encuentran sus mejores condiciones en las hondonadas húmedas, cubiertas de árboles y arbustos que mantienen de un modo permanente la humedad. Los huevos soportan perfectamente la sumersión en el agua y las larvas que nacen en tales condiciones, mantienen su vitalidad. Soportan temperaturas muy bajas, por debajo de cero grado, sólo que sus cambios evolutivos se retardan o se detienen, para recomenzar cuando se realizan de nuevo las condiciones favorables. Las temperaturas relativamente elevadas favorecen los cambios evolutivos acelerándolos, acortando los períodos de mudas, siempre que exista un grado elevado de humedad, pero resultan mortales cuando hay desecación o un grado muy bajo de humedad.

El medio ambiente influye de un modo marcado sobre la duración del ciclo evolutivo. Ello se debe en gran parte, a que la estada parasitaria del Ixodes es muy breve y la estada en el suelo es muy larga, y es en esta estada que se cumplen todos los grandes cambios del ciclo evolutivo: desove, germinación del huevo y eclosión de la larva, transformación de la larva en ninfa y de ésta en formas



sexuales, interponiéndose en cada uno de estos cambios una breve estada parasitaria sobre distintos hospedadores.

La duración de 5 a 6 meses, que corresponde al óptimo de condiciones, puede ser alargada mismo a varios años, ella puede ser interrumpida en los estados de huevo, larval o ninfal y recomenzar luego; — dada la interposición del invierno, nunca podrá producirse más de una generación en el término de un año y una generación que comenzó en un año muchas veces terminará sólo en el siguiente.

Estos factores, que pueden influir de un modo favorable sobre la lucha contra el parásito, por la reducida velocidad de multiplicación, influyen en cambio de un modo altamente desfavorable por la prolongación del período de infectación del campo, lo que obligará a una lucha más prolongada.

V. — ENFERMEDADES QUE TRASMITE

Como lo hemos dicho al principio, el I. ricinus, es el responsable en muchos países de la trasmisión de la Babesia bovis, cuyo representante del género en el Río de la Plata es la Babesiella argentina. Las experiencias de algunos autores, estarían en el sentido de que puede trasmitir la Anaplasmosis, aunque ello no es aceptado de un modo general. Parece probado que no trasmite el Piroplasma bigeminum; pero trasmitiría la Piroplasmosis del perro y se le ha inculpado también la trasmisión de hemogregarinas y otras enfermedades a diversas especies animales.

La trasmisión de los piroplasmas, tiene lugar por las larvas y ninfas, procedentes de hembras infestadas, es decir que se han alimentado sobre animales con la enfermedad. También sería posible la trasmisión por ninfas procedentes de larvas que hubieran parasitado sobre animales infestados.

La trasmisión por las formas sexuadas, se considera teóricamente posible, pero no probada.

La piroplasmosis aparece en los animales de los 8 a 11 días de haberse prendido la larva o ninfa.

VI. — LA LUCHA CONTRA EL IXODES RICINUS

La breve reseña que hemos hecho de la biología del I. ricinus, permite ya deducir que las condiciones de lucha para su erradicación deben diferenciarse completamente de las establecidas para erradicar la garrapata común (Boophilus microplus). En efecto, para la lucha eficaz contra I. ricinus deberá tenerse en cuenta las siguientes circunstancias:

1.º) El I. ricinus, cumple el ciclo evolutivo de su vida parasitaria sobre muy diversas especies de vertebrados, aves, reptiles y mamíferos, muchas de las cuales escapan al control del hombre y no permiten por lo tanto una intervención sanitaria directa.

2.º) El ciclo evolutivo de su vida parasitaria, no es contínuo sobre un mismo animal, sino que es interrumpido en

tres períodos: larval, ninfal y formas sexuadas; cayendo después de cada período que comprenden cada uno de ellos breves días, de 3 a 6 para la larva, 3 a 7 para la ninfa y 6 a 9 para las formas sexuadas (hembra).

De manera que una lucha a base de garrapaticidas, deberá prever la aplicación de balneaciones repetidas con breves intervalos, para evitar la caída al campo del parásito en sus diversos estados, en condiciones de conservar la especie.

3.º) La permanencia en el campo, del I. ricinus, en sus diversos estados, es sumamente larga, baste decir que la eclosión del huevo para dar larvas, puede tardar varios meses y que las larvas pueden prolongar su vida sin subir al huésped hasta un año o algo más. Las ninfas pueden también tener una vida muy prolongada fuera del huésped, un año o más.

A esto debemos agregar, la resistencia especialmente de los huevos y larvas, que pueden permanecer sumergidos en el agua, soportar temperaturas muy bajas y que su albergue en los lugares húmedos de los bosques los pone al abrigo de muchos factores de destrucción, entre ellos de las quemazones de los campos. Según los datos que hemos obtenido en la bibliografía, para obtener la esterilización parasitaria de un campo, se entiende con la eliminación de la intervención de todo huésped de conservación, sería necesario un plazo no menor de dos años.

No obstante las enormes dificultades que surgen de las circunstancias que hemos apuntado, será necesario encarar en el país una forma de lucha contra el I. ricinus, tendiente en primer término a evitar su difusión en el resto del país, y a aminorar la infestación de los campos actualmente infestados, lo que contribuirá seguramente a disminuir los riesgos de una difusión mayor y tentar el estudio de un plan de erradicación aunque fuere un tanto contingente en sus resultados contemplando también el lado económico de la cuestión.

Un estudio en tal sentido deberá comprender:

a) Estudio de los huéspedes vectores, a fin de establecer cuales son las especies salvajes que tienen predominancia y cuya extinción podría ser tentada.

En esta parte entra en consideración el guazubirá (Mazama simplicicarnis), especie de cérvido que vive en

los departamentos de Lavalleja y Maldonado, al cual se le señala como la especie salvaje que más frecuentemente estaría parasitado por el I. ricinus.

La actitud a asumir frente al guazubirá, deberá depender sin duda, de la eficiencia que aparejaría su desaparición en la lucha contra el I. ricinus.

Felizmente, las formas más avanzadas de la evolución del I. ricinus, los estados sexuados responsables de la conservación de la especie, prefieren a los mamíferos superiores, y ello limita sensiblemente el número de especies huéspedes que interesan en la lucha contra el parásito.

b) El trataminto del ganado, especialmente de los bovinos, con balneaciones garrapaticidas.

Felizmente el I. ricinus es sensible a los arsenicales de un modo igual que el B. microplus. Las soluciones arsenicales, con un contenido en anhidrido arsenioso de un 0.16 a 0.20 por ciento se muestran eficaces.

En la lucha contra el I. ricinus los baños garrapaticidas, dado el ciclo evolutivo del parásito, deberán ser aplicados con intervalo de 5 a 6 días.

c) Como medida complementaria, especialmente del punto de vista de evitar la difusión del parásito, habría que reglamentar y controlar el movimiento de los rodeos de las zonas infestadas, por lo menos impidiendo la movilización de ganado parasitado.

La aplicación de medidas en tal sentido, exigiría un estudio preliminar para la determinación precisa de la zona infestada, estableciendo para la misma límites controlables del punto de vista sanitario.

Dentro de las condiciones actuales, puede desarrollarse un plan mínimo, que podría comprender:

a) Delimitación precisa de la zona infestada, estableciendo para la misma límites controlables.

b) Establecer que para movilizar el ganado fuera de la zona, será necesario la intervención de la Inspección Veterinaria Regional para verificar que el ganado a transportar está libre de I. ricinus. Salvo el caso de embarque en estación próxima y con destino a la Tablada.

c) Balneación del ganado en los meses de verano y otoño, con soluciones arsenicales con una concentración mínima de 0.16 por ciento de anhidrido arsenioso, — con la frecuencia posible, teniendo en cuenta, que la aproximación del intervalo de los baños a periodos de 6 días, aumenta la eficacia del punto de vista de la erradicación del parásito.

Si bien es cierto, que la puesta en práctica de estas medidas no asegurarían por sí solas la erradicación del I. ricinus, darían un grado elevado de seguridad en el sentido de una reducción sensible de la infestación y de un menor peligro de la extensión a otras zonas del país.

Pando, Febrero 1943.

SOBRE VALORES NORMALES EN LA COMPOSICION QUIMICA DE LA SANGRE DE LOS BOVINOS (BOS TAURUS) Y SUS VARIACIONES EN LOS ANIMALES ATACADOS DE TRISTEZA BOVINA (PIROPLASMOSIS Y ANAPLASMOSIS)

(CON LA COLABORACION DEL DR. LUIS ALBERTO BARROS)

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXVII - N.º 3 - 1943

Anteriormente, Junio de 1942, uno de nosotros (Barros) presentó a la Sociedad de Biología de Montevideo, una comunicación relacionada con los valores normales en la composición química de la sangre de los bovinos (trabajo del Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería), haciendo la salvedad que esos valores podrían sufrir algunas variaciones cuando los dosajes fueran practicados en un mayor número de animales y en diversas circunstancias.

La presente comunicación complementa a la primera en el sentido de un aporte de nuevos datos sobre valores normales, pero se referirá de un modo especial a la variación en los valores de algunos elementos en animales infestados experimentalmente con hematozoarios de los géneros Piroplasma y Anaplasma.

Los valores normales se referirán solamente a las dosificaciones de la glicemia, reserva alcalina, urea, cloro, colesterol, fósforo inorgánico y calcio.

No incluímos a la bilirrubina ni al urobilinógeno no obstante ser considerados en los atacados de piroplasmosis, porque ellos normalmente casi siempre están ausentes en el suero sanguíneo de los bovinos (para las técnicas utilizadas), confirmando en cuanto a la bilirrubina lo ya verificado por el Dr. Varela Fuentes y colaboradores.

En cuanto a los valores obtenidos anteriormente, nos remitimos a la comunicación mencionada (boletín de la Dirección de Ganadería N.º 3 de 1942).

A continuación se expresan los encontrados en un nuevo lote de 10 animales.

CUADRO N.º 1

Bov. N.º	Glicemia	Reserva alcalina	Urea	Cloro	Colesterol	P. inorgánico	Calcio
400	0g.69‰	61,4%	0g.38‰	3g.72‰	194mlg.%	4,5mlg.%	10,5mlg.%
408	0g.49 "	66,2 "	0g.30 "	3g.55 "	100 "	4,9 "	10 "
452	0g.57 "	56,7 "	0g.25 "	3g.55 "	160 "	6,35 "	11,25 "
463	0g.67 "	61,3 "	0g.16 "	3g.72 "	122 "	4,75 "	10,4 "
469	0g.78 "	78,7 "	0g.41 "	3g.33 "	160 "	5,4 "	10.08 "
470	0g.75 "	72, "	—	3g.40 "	192 "	6 "	10,18 "
471	0g.74 "	69,1 "	—	3g.33 "	217 "	5,6 "	16,67 "
474	0g.73 "	76,6 "	—	3g.44 "	150 "	5,7 "	11,15 "
477	1g.14 "	55,9 "	0g.31 "	3g.40 "	135 "	5,3 "	11,52 "
480	0g.69 "	61,6 "	0g.35 "	3g.42 "	145 "	5,5 "	11,52 "

CUADRO N.º 2

Resumen de las variaciones del Cuadro N.º 1

	Máximos	Mínimos	May. frecuencia	Promedios
Glicemia	1g.14‰	0g.49‰	0g.60 a 0g.70	0g.674‰
Reserva alcalina	78,7%	55,9%	60 a 70	65,95%
Urea	0g.38‰	0g.14‰	0g.25 a 0g.35	0g.27‰
Cloro	3g.72‰	3g.33‰	3g.33 a 3g.55	3g.48‰
Colesterol	217mlg.%	100mlg.%	135 a 160	157,5mlg.%
P. inorgánico	6,35mlg.%	4,5mlg.%	5,4 a 5,7	5,4mlg.%
Calcio	11,52mlg.%	10mlg.%	10,5 a 11,25	10,72mlg.%

Comparando estos resultados con los anteriores (comunicación referida), resultan valores sensiblemente iguales, para reserva alcalina, urea, cloro y calcio, ligeras variaciones para el fósforo inorgánico y valores algo más altos para el colesterol y glicemia, que por otra parte son los que ofrecen, para todas las especies, mayores oscilaciones dentro de límites considerados como fisiológicos.

VARIACIONES EN LOS BOVINOS EXPERIMENTALMENTE INFESTADOS DE PIROPLASMOSIS Y ANAPLASMOSIS

Estas investigaciones químicas se han hecho correlativamente a los estudios experimentales que realiza la Sección Laboratorio de Biología Animal, sobre las diversas especies de hematozoarios y virulencia de los mismos, responsables de las diversas formas de Tristeza bovina en el Uruguay y responden a la finalidad práctica de servir de base para perfeccionamiento en el Servicio de Premunición que funciona en la sección mencionada de la Dirección de Ganadería.

En primer término debemos señalar que en el Uruguay se han comprobado, parasitando a los bovinos (Bos taurus) tres especies de hematozoarios de la clase Sporozoa, sub orden Piroplasmidae, géneros Piroplasma y Anaplasma, especies: Piroplasma bigéminum y Anaplasma marginal y Babesiella argentina.

Estos protozoarios vehiculizados por la garrapata (Boophilus microplus) tienen su asiento de predilección en los glóbulos rojos, determinando procesos de hemolísis dentro de un cuadro de enfermedad grave, muchos casos mortal en elevado porcentaje; afección muy difundida en la zona norte del país y en algunos departamentos del sur de Río Negro, lo cual además del interés científico, le confiere una gran importancia de orden económico por las pérdidas que ocasiona.

Esos tres hematozoarios pueden parasitar aisladamente al bovino, determinando cada especie enfermedad típica por su incubación, evolución y hematología; pero en la enfermedad natural, en nuestro país, las tres especies cabalgan en el mismo animal y las diversas sintomatologías inherentes a cada especie de hematozoarios se entremezclan, determinando un proceso patológico más o menos prolongado, de pocos días a los 60 o más días, cuando no es interrumpido por la muerte.

No obstante, que por recursos experimentales, es posible obtener aisladamente esas tres especies, y la Sección Laboratorio de Biología Animal mantiene algunas infecciones puras, las investigaciones a que se refieren esta comunicación comprenderá el estudio de las variaciones observadas en los animales infestados experimentalmente con sangres procedentes de enfermedad natural, comprendiendo por lo tanto las tres especies de hematozoarios.

Debemos agregar que se ha estudiado la composición química de la sangre de 25 animales enfermos de Tristeza bovina y realizado más de mil análisis.

A continuación figuran los cuadros individuales de los bovinos estudiados. Aunque en algunos animales los análisis han sido practicados con alguna irregularidad, se consignan porque ellos aportan elementos de juicio de interés en cuanto a algunos valores.

FICHA N.° 1

Bovino N.° 400 — Hembra 2 años mestizo Shorthorn — 1942

	Marzo				Abril			Mayo		Junio		Agosto
Día	**2**	**10**	**16**	**20**	**25**	**14**	**23**	**6**	**25**	**10**	**20**	**14**
Glicemia	0g.69‰	0g.54	0g.54	0g.56	0g.50	0g.60	0g.56	0g.48	0g.47	—	—	0g.46
Reserva alcalina	61,4 %	67,3	61,4	67,2	57,6	60,5	63,3	67,2	—	56,5	—	55,5
Urea	0g.38‰	0g.40	0g.26	0g.26	0g.26	0g.16	0g.31	0g.31	0g.31	—	—	0g.24
Cloro	3g.72‰	3g.92	3g.65	3g.65	3g.69	3g.67	3g.51	3g.48	3g.47	—	—	3g.83
Colesterol	194mlg.%	81	62	61,4	80	50	60	33	55	100	133	164
Fósforo inorgánico	4,5mlg.%	4,34	4,67	4,6	5	4,65	4	—	4,3	—	—	3,4
Calcio	10,5mlg.%	10,1	10,5	10	10,5	10	10,47	10,08	9,7	—	—	10,6
Bilirrubina indirecta ...	negat.	+	negat.	negat.	+D	+Int.	+Int.	+D	+	+D	—	negat.
Bilirrubina directa	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.		negat.

Comentario: Término de la observación: 5 meses. Glicemia, descendiendo en los últimos cuatro meses pero no en forma muy pronunciada. Reserva alcalina, algo bajos los dos últimos valores. Colesterol, descendiendo hasta los tres meses de la inoculación, presentando un mínimo en un sexto del valor inicial; los últimos valores ascendiendo. El fósforo inorgánico mantuvo su nivel exceptuando el último valor, bajo. La bilirrubina directa no se hizo aparente. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: febrero 23.

+D: positivo débil.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 2

Bovino N.º 403 — Hembra 2 años mestizo Shorthorn — 1942

	Febrero	Marzo					Abril		Mayo		Junio	Agosto
Día	**13**	**2**	**10**	**16**	**20**	**25**	**16**	**21**	**4**	**21**	**20**	**14**
Glicemia	1g.4‰	0g.71	0g.65	0g.62	0g.63	0g.70	0g.56	—	0g.55	0g.50	—	0g.62
Reserva alcalina	54,1 %	63,3	64,5	60,5	59,5	58,6	58,6	—	50	65,3	—	61,3
Urea	0g.36‰	0g.47	0g.55	0g.23	0g.35	0g.37	0g.37	0g.32	0g.25	0g.33	—	0g.28
Cloro	3g.79‰	3g.38	3g.70	3g.62	3g.72	3g.60	3g.65	3g.69	3g.70	3g.62	—	3g.76
Colesterol	162mlg.%	162	90	64	53,2	70	37,5	70	84	—	109	168
Fósforo inorgánico	4,15mlg.%	5	4,54	5,5	5,1	4,8	5,8	6	5,15	—	—	5
Calcio	11,5mlg.%	10,6	9,88	10,7	10,5	10,5	11,15	10,18	10,01	—	—	11
Bilirrubina indirecta ...	—	negat.	+Int.	negat.	negat.	+	+D	+	+	+D	—	negat.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	—	negat.

Comentario: Término de la observación: seis meses. El colesterol comienza normal, desciende en forma apreciable al mes de la inoculación, tiene su valor mínimo un mes después y a los cinco meses iguala al inicial. Bilirrubina indirecta, comienza negativa, tiene alternativas entre positivo intenso, franco y débil y termina con reacción negativa. Glicemia con variaciones dentro de lo fisiológico, lo mismo para reserva alcalina, urea, cloro, colesterol, fósforo inorgánico y calcio. Bilirrubina directa, negativa. Retirado con vida de la experiencia. Inoculado: febrero 23.

+D: positivo débil.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 3

Bovino N.º 402 — Hembra 2 años cruza Shorthorn-Hereford — 1942

	Febrero		Marzo			Abril				Mayo	Junio	Julio	Agosto
Día	**13**	**5**	**12**	**18**	**28**	**27**	**16**	**21**	**29**	**14**	**10**	**30**	**23**
Glicemia	0g.60‰	0g.51	0g.53	0g.63	0g.58	0g.59	0g.50	—	0g.61	0g.46	—	0g.42	0g.51
Reserva alcalina	63,6%	69,1	61,4	68,1	63,6	66,2	58,4	—	65,3	59,5	60,3	64,2	65,2
Urea	0g.29‰	0g.40	0g.26	0g.32	0g.30	0g.50	0g.30	0g.32	0g.29	0g.48	—	0g.31	0g.28
Cloro	3g.55‰	3g.50	3g.69	3g.62	3g.60	3g.58	3g.67	3g.65	3g.49	3g.26	—	3g.65	3g.55
Colesterol	204mlg.%	93	58	50	50,6	65,5	35	42	57,5	32	60	122	160
Fósforo inorgánico ..	5,67mlg.%	2,5	2,7	3,6	5,1	—	6,4	4,5	4,28	5,8	—	—	4,20
Calcio	11mlg.%	11	10	10	10,8	10,5	10,67	10,67	9,89	11,15	—	—	10
Bilirrubina indirecta .	—	—	+Int.	+D	+D	+D	+Int.	+	+	+D	+D	negat.	negat.
Bilirrubina directa ..	—	—	negat.	negat.	negat.	negat.	Indicios	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: seis meses. Colesterol, se inicia muy alto, desciende constantemente hasta un mínimo entre los segundo y tercero meses posteriores a la inoculación (menos de un sexto del valor inicial); después aumenta llegando a valores normales pero sin igualar al inicial. Fósforo inorgánico presenta algunas irregularidades en los valores, algunos por debajo de lo normal. La bilirrubina indirecta tiene alternativas entre los positivos intensos, franco y débil, pero al final negativo. Bilirrubina directa sólo una vez indicios a los 50 días de la inoculación. Glicemia, reserva alcalina, urea, cloro y calcio, con pequeñas variaciones dentro de los límites fisiológicos. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: febrero 23.

+D: positivo débil.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 4

Bovino N.º 474 — Macho castrado 18 meses raza Hereford — 1943

	Febrero		Marzo		Abril			
Día	**15**	**2**	**15**	**23**	**30**	**6**	**13**	**26**
Glicemia	0g.73‰	0g.56	0g.58	—	0g.56	0g.50	0g.68	0g.68
Reserva alcalina	76,6%	70	75,8	—	72	69,1	61,3	67,1
Urea	—	—	—	—	—	—	—	—
Cloro	3g.44‰	3g.12	3g.39	—	3g.35	3g.21	3g.30	3g.18
Colesterol	150mlg.%	57,5	65	35	43	65	50	45
Fósforo inorgánico	5,7mlg.%	4	5	—	4,9	5	5	6
Calcio	11,15mlg.%	10,94	10,56	—	11,04	10,27	10,08	11,90
Bilirrubina indirecta	—	+Int.	+Int.	—	+Int.	+Int.	+D	negat.
Bilirrubina directa	—	+	+	—	+	+	+	negat.

Comentario: Término de la observación: dos y medio meses. Animal reinoculado a los 32 días. La reserva alcalina se mantuvo alta en general y con poca variación. Colesterol, iniciándose normal, desciende, teniendo su valor mínimo a los 10 días de reinoculado y persiste posteriormente la hipocolesterolemia. Cloro, fósforo inorgánico y calcio, con variaciones pero dentro de lo normal. Glicemia con poca variación. Bilirrubina indirecta varía entre reacciones positiva intensa a negativa. Bilirrubina directa positiva franca a los 20 días de la inoculación, persistiendo dos meses; la última reacción negativa a los dos y medios meses. No se dosificó urea. Retirado con vida de la experiencia. Inoculado: febrero 11; reinoculado: marzo 13.

+D: positivo débil.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 5

Bovino N.º 469 — Macho 15 meses raza Hereford — 1943

	Febrero			Marzo		
Día	**8**	**22**	**4**	**15**	**23**	**30**
Glicemia	0g.78‰	0g.82	0g.68	0g.64	—	0g.54
Reserva alcalina	78,7%	80,6	71	73,9	—	73,9
Urea	0g.14‰	—	—	—	—	—
Cloro	3g.33‰	3g.72	3g.40	3g.26	—	3g.39
Colesterol	160mlg.%	57,5	90	40	35	57
Fósforo inorgánico	5,4mlg.%	4,6	4,7	4,6	—	4,5
Calcio	10,08mlg.%	9,12	10,57	11,04	—	10,75
Bilirrubina indirecta	—	+	+D	+D	—	+Int.
Bilirrubina directa	—	+D	+D	negat.	—	+

Comentario: Término de la observación: 2 meses escasos. Animal reinoculado a los 37 días. Glicemia, con variaciones hacia un descenso final. Reserva alcalina, siempre con valores algo elevados. Colesterol, algo elevado en su primer dosaje, sufre luego alternativas; los valores más bajos se obtuvieron después de la reinoculación; el valor mínimo es menos de un cuarto del inicial. La bilirrubina indirecta comienza positiva, tiene dos reacciones positivas débil y la última, intensa. La bilirrubina directa, positiva débil a los 15 días de inoculado, pasa a positiva franca. Cloro, fósforo inorgánico y calcio, permanecen normales a través de toda la experiencia. Muere a consecuencia de la inoculación. Inoculado: febrero 6; reinoculado: marzo 13. Muerte: abril 5.

+D: positivo débil.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 6

Bovino N.º 345 — Hembra 7 años mestizo Holandesa — 1941-1942

	Junio	Setiembre								Octubre						Noviembre		Agosto
Día		**5**	**8**	**15**	**25**	**27**	**29**	**2**	**3**	**6**	**9**	**10**	**13**	**14**	**17**	**20**	**5**	**26**
Glicemia	0g.61‰	—	—	0g.69	—	0g.71	—	—	0g.62	—	—	0g.68	—	—	0g.49	—	—	0g.50
Reserva alcalina ..	—	68,1%	69	—	—	—	65,3	69,1	—	59,5	66,1	—	59,4	—	—	71,9	—	59,4
Urea	0g.39‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0g.36
Cloro	3g.40‰	—	—	3g.40	3g.72	—	3g.62	—	—	3g.69	—	—	—	3g.76	—	3g.55	—	3g.62
Colesterol	171mlg.%	—	97,6	—	71,4	—	54,5	—	—	74,4	—	—	31,8	—	—	45,2	62 6	240
Fósforo inorgánico.	3,55mlg.%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4,6
Calcio	11mlg.%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11,3
Bilirrubina indirecta	—	—	negat.	—	+D	—	+D	—	—	+D	—	—	+D	—	—	+	+	negat.
Bilirrubina directa .	—	—	negat.	—	negat.	—	negat.	—	—	negat.	—	—	negat.	—	—	negat.	+D	negat.

Comentario: Se hicieron observaciones durante dos meses en forma continuada; diez meses después se hace una investigación completa. El colesterol se inicia algo elevado, posteriormente presenta alternativas, desciende a un sexto de su primitivo valor a los 40 días; por último sobrepasa al inicial. Bilirrubina indirecta comienza negativa, pasa a positivo débil y franco y termina con reacción negativa. Bilirrubina directa casi siempre negativa. Glicemia y cloro con variaciones dentro de lo normal. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: setiembre 5.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 7

Bovino N.º 344 — Hembra 10 años mestizo Holandesa — 1941-1942

	Junio	Diciembre		Enero	Febrero		Setiembre
Día		**24**	**27**	**27**	**3**	**9**	**10**
Glicemia	0g.51‰	0g.60	—	0g.54	0g.45	—	0g.46
Reserva alcalina	—	—	65,5%	—	—	—	55,7
Urea	0g.26‰	0g.50	—	0g.39	0g.26	0g.34	0g.18
Cloro	3g.69‰	—	—	3g.69	3g.65	—	3g.67
Colesterol	135mlg.%	109	—	20	30	68	172
Fósforo inorgánico	5,2mlg.%	—	—	—	—	—	5,3
Calcio	11mlg.%	—	—	—	—	—	10,56
Bilirrubina indirecta	—	+	—	+	+D	—	negat.
Bilirrubina directa	—	negat.	—	negat.	negat.	—	negat.

Comentario: Caso seguido irregularmente, observaciones aisladas, no obstante el colesterol muestra una curva de descenso intenso, para ascender después por arriba del valor inicial. Bilirrubina indirecta, pasa de reacción positiva franca a positiva débil y por último negativa. Glicemia, urea y cloro no tuvieron variaciones notables. Bilirrubina directa siempre con reacción negativa. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: diciembre 11.
+D: positivo débil.

FICHA N.º 8

Bovino N.º 406 — Hembra 2 años mestizo Hereford — 1942

	Febrero	Mayo		Junio	Agosto
Día	**22**	**12**	**27**	**22**	**20**
Glicemia	—	0g.58‰	0g.50	—	0g.40
Reserva alcalina	—	61,3%	65,2	—	63,2
Urea	—	0g.38‰	0g.36	—	0g.32
Cloro	—	3g.69‰	3g.55	—	3g.57
Colesterol	138mlg.%	90	86	99	192
Fósforo inorgánico	—	5,3mlg.%	5,65	—	4,63
Calcio	—	10,37mlg.%	12	—	11,2
Bilirrubina indirecta	—	+D	+D	—	negat.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	—	negat.

Comentario: Término de la observación: 3 meses. Glicemia descendiendo algo. Colesterol, con un valor anterior normal, desciende al mes de inoculado, a un valor mínimo y a los cuatro meses de inoculado notamos un valor alto. Bilirrubina indirecta positivo débil al comienzo, no se hace aparente en la última reacción. Reserva alcalina, urea, cloro, fósforo inorgánico y calcio, con valores normales. Bilirrubina directa dió siempre reacción negativa. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: abril 27.
+D: positivo débil.

FICHA N.º 9

Bovino N.º 452 — Macho castrado 16 meses mestizo Holandesa — 1942

	Abril	Mayo	Junio	Setiembre
Día	**27**	**14**	**22**	**16**
Glicemia	0g.57‰	0g.60	—	0g.57
Reserva alcalina	56,7 %	60,5	—	67,2
Urea	0g.25‰	0g.35	—	0g.35
Cloro	3g.55‰	3g.55	—	3g.56
Colesterol	160mlg.%	102	104	160
Fósforo inorgánico	6.35mlg.%	6,05	—	7
Calcio	11,25mlg.%	11,64	—	11,52
Bilirrubina indirecta	negat.	+D	—	negat.
Bilirrubina directa	negat.	negat.	—	negat.

Comentario: Término de la observación: 5 meses. El colesterol tuvo un descenso apreciable que conservó durante algún tiempo, para volver después a lo normal. El fósforo inorgánico se mantuvo más bien alto. Bilirrubina indirecta, dió un sólo valor transitorio positivo débil. Bilirrubina directa, siempre negativa. Glicemia, reserva alcalina, urea, cloro y calcio, se mantuvieron en un nivel normal. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: abril 22.
+D: positivo débil.

FICHA N.º 10

Bovino N.º 407 — Hembra 2 años mestizo Shorthorn — 1942

	Mayo	Junio	Julio	Agosto
Día	**12**	**27**	**22**	**20**
Glicemia	0g.70‰	0g.52	—	0g.46
Reserva alcalina	53,6 %	63,2	—	59,4
Urea	0g.36‰	0g.32	—	0g.32
Cloro	3g.65‰	3g.65	—	3g.79
Colesterol	80mlg.%	50	81	144
Fósforo inorgánico	4.75mlg.%	4,15	—	4,7
Calcio	9,7mlg.%	11,83	—	11,2
Bilirrubina indirecta	+Int.	+	—	+D
Bilirrubina directa	+	negat.	—	negat.

Comentario: Término de la observación: 3 meses. Glicemia, descendiendo paulatinamente. Colesterol, sufre un descenso grande a los treinta días de inoculado, después asciende y a los 70 días, normal. Bilirrubina indirecta, de reacción positiva intensa desciende a positiva débil. Bilirrubina directa, al principio positiva, pasa a negativa. Reserva alcalina, urea, cloro, fósforo inorgánico y calcio varían dentro de la tasa normal. Retirada con vida de la experiencia.

+D: positivo débil.
+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 11

Bovino N.º 339 — Hembra 2 años mestizo Shorthorn — 1942

	Febrero	Mayo		Junio	Agosto
Día	**11**	**8**	**25**	**20**	**26**
Glicemia	0g.53‰	0g.48	0g.47	—	0g.46
Reserva alcalina	71 %	67.1	69,1	—	67.1
Urea	0g.33‰	0g.40	0g.35	—	0g.34
Cloro	3g.65‰	3g.47	3g.50	—	3g.51
Colesterol	166mlg.%	70	95	120	172
Fósforo inorgánico	4,5mlg.%	4,7	4,1	—	5.6
Calcio	11mlg.%	10.67	11.05	—	11,2
Bilirrubina indirecta	—	+	+	—	negat.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	—	negat.

Comentario: Término de la observación: 6 meses. Animal inoculado en febrero, reinoculado en abril. Reserva alcalina presenta valores algo elevados. Colesterol normal antes de la primera inoculación; desciende al 42 % al undécimo día de la segunda inoculación, después asciende y por último sobrepasa en algo el valor inicial. Bilirrubina indirecta con reacción positiva post-inoculación, se hace negativa en la última reacción. Glicemia, urea, cloro, fósforo inorgánico y calcio, sin variantes notables. Bilirrubina directa siempre negativa. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: febrero 23.
Reinoculado: abril 27.

FICHA N.º 12

Bovino N.º 347 — 1941-1942

	Junio	Enero	Febrero		Agosto
Día		**27**	**3**	**9**	**28**
Glicemia	0g.41‰	0g.58	0g.40	—	0g.75
Reserva alcalina	—	—	—	—	62,4 %
Urea	0g.24‰	0g.35	0g.21	0g.22	0g.35
Cloro	3g.40‰	3g.48	3g.44	—	3g.90
Colesterol	125mlg.%	57	37	63	184
Fósforo inorgánico	5,2mlg.%	—	—	—	4.80
Calcio	12mlg.%	—	—	—	11.04
Bilirrubina indirecta	—	+	+D	—	negat.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	—	negat.

Comentario: Presenta pocas determinaciones en un lapso grande de tiempo, se toma en cuenta solamente el colesterol. Comienza normal, luego llega a un mínimo de 30 % de ese valor y luego aumenta en el último dosaje. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: diciembre 20.
+D: positivo débil.

FICHA N.º 13

Bovino N.º 446 — Macho castrado 15 meses mestizo Holandesa — 1942

	Abril		Mayo		Setiembre
Día	**20**	**27**	**6**	**10**	**14**
Glicemia	0g.67‰	0g.67	0g.61	0g.57	0g.58
Reserva alcalina	56,5 %	53,8	58,6	58,6	59,5
Urea	0g.35‰	0g.38	0g.29	0g.42	0g.40
Cloro	3g.65‰	3g.74	3g.56	3g.45	3g.55
Colesterol	142mlg.%	111	96	87	200
Fósforo inorgánico	—	4,48 %	—	6,05	6,4
Calcio	10,96mlg.%	10,47	10,1	10,37	10,56
Bilirrubina indirecta	negat.	+Int.	+D	+Int.	negat.
Bilirrubina directa	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: 5 meses. La urea se mantuvo algo elevada. Colesterol, desciende paulatinamente, dando su mínimo al mes de inoculado, luego aumenta en un valor bastante superior al inicial. Fósforo inorgánico, con oscilaciones pronunciadas, dentro de los límites normales. Bilirrubina indirecta con alternativas del negativo al positivo. Glicemia, reserva alcalina, cloro y calcio, variaron poco, dentro de lo normal. La bilirrubina directa no se hizo aparente. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: Abril 17.

+D: positivo débil.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 14

Bovino N.º 449 — Hembra 15 meses mestizo Holandesa — 1942

	Abril		Mayo		Setiembre
Día	**20**	**29**	**8**	**21**	**14**
Glicemia	0g.62‰	0g.62	0g.60	0g.63	0g.57
Reserva alcalina	48,7 %	57,6	58,4	53,8	60,5
Urea	0g.30‰	0g.35	0g.31	0g.23	0g.38
Cloro	3g.75‰	3g.73	3g.66	3g.76	3g.73
Colesterol	132mlg.%	120	75	—	188
Fósforo inorgánico	—	5,17 %	5,25	—	6
Calcio	11.64mlg.%	10,28	10,18	—	11,04
Bilirrubina indirecta	negat.	+	+D	+D	negat.
Bilirrubina directa	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: 5 meses. Reserva alcalina se inicia baja, después aumenta algo. Colesterol al comienzo normal, tuvo su valor mínimo a los veinte días de inoculado, aproximadamente un 50 % del inicial; a los 5 meses de inoculado elevó su valor por encima del inicial. Bilirrubina indirecta negativa en sus reacciones extremas, dió positivo franco y débil en las determinaciones intermedias. Glicemia, urea, cloro, fósforo inorgánico y calcio se mantuvieron con fluctuaciones dentro de los normal. La bilirrubina directa no se hizo aparente. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: abril 17.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 15

Bovino N.º 343 — Hembra 10 años mestizo Holandesa — 1941

	Junio	Setiembre										Octubre					Noviembre	
Día		**5**	**8**	**15**	**25**	**27**	**29**	**2**	**3**	**6**	**9**	**10**	**13**	**14**	**17**	**20**	**5**	**10**
Glicemia	0g.50‰	—	—	0g.73	—	0g.78	—	—	0g.58	—	—	0g.58	—	—	0g.65	—	—	0g.58
Reserva alcalina ..	—	61,7%	66,1	—	—	—	59,5	66,2	—	64,3	67,1	—	64,3	—	—	61,3	—	59,4
Urea	0g.27‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cloro	3g.55‰	—	—	3g.48	3g.69	—	3g.76	—	—	3g.76	—	—	—	3g.65	—	3g.33	—	—
Colesterol	100mlg.%	—	60,4	—	45,4	—	41	—	—	42	—	—	27	—	—	38	50,6	52,38
Fósforo inorgánico.	6,25mlg.%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,17
Calcio	11mlg.%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bilirrubina indirecta	—	—	negat.	—	+D	—	+D	—	—	+D	—	—	+D	—	—	negat.	+D	—
Bilirrubina directa .	—	—	negat.	—	negat.	—	negat.	—	—	negat.	—	—	negat.	—	—	negat.	negat.	—

Comentario: Animal seguido irregularmente durante dos meses, presenta pocos valores a tomarse en cuenta. Sin embargo se verifica que el colesterol desciende paulatinamente y en forma constante hasta un cuarto del valor inicial. Bilirrubina indirecta, negativa al comienzo, se hace después positiva débil con algunas alternativa; la primera positiva se nota a los 20 días de la inoculación. Glicemia, reserva alcalina y cloro, con variaciones dentro de la tasa fisiológica. La bilirrubina directa se mantuvo siempre negativa. Retirado, con vida de la experiencia; sacrificado: noviembre 11. Inoculado: setiembre 5.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 16

Bovino N.º 480 — Macho castrado 18 meses mestizo Hereford — 1943

	Marzo	Abril			
Día	**26**	**1º**	**8**	**15**	**26**
Glicemia	0g.68‰	0g.88	0g.64	0g.65	0g.62
Reserva alcalina	61,6 %	52,8	56,8	46,2	57,5
Urea	0g.35‰	0g.31	0g.20	0g.27	0g.35
Cloro	3g.42‰	3g.40	3g.53	3g.19	3g.23
Colesterol	145mlg.%	150	135	100	11,5
Fósforo inorgánico	5,5mlg.%	5	5,6	5,2	5,4
Calcio	11,52mlg.%	11,13	11,04	10,56	11.52
Bilirrubina indirecta	+D	+D	+D	+D	negat.
Bilirrubina directa	negat.	negat.	+D	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: un mes. Reserva alcalina, en el comienzo, normal; posteriormente persistió con valores bajos. Colesterol, al principio normal, descendió a un mínimo de 100 mlg. a los 20 días de inoculado. Bilirrubina indirecta, positivo débil desde el comienzo hasta los 20 días de inoculado; después negativo. Bilirrubina directa, positivo débil a los 13 días, después siempre negativo. Glicemia, urea, cloro, fósforo inorgánico y calcio persistieron en sus valores normales. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: marzo 25.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 17

Bovino N.º 477 — Macho castrado 18 meses mestizo Hereford — 1943

	Marzo	Abril			
Día	**23**	**1º**	**8**	**15**	**26**
Glicemia	1g.14‰	1g.09	0g.63	0g.68	0g.68
Reserva alcalina	55,9 %	51,9	58,7	64,3	62,3
Urea	0g.31‰	0g.22	0g.16	0g.20	0g.30
Cloro	3g.40‰	3g.37	3g.30	3g.26	3g.15
Colesterol	135mlg.%	130	125	100	65
Fósforo inorgánico	5,3mlg.%	4,9	5,2	5,1	5
Calcio	11,52mlg.%	11,04	10,08	10,17	11,04
Bilirrubina indirecta	+D	+D	+D	+D	+
Bilirrubina directa	negat.	negat.	negat.	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: un mes. La glicemia presenta dos valores elevados al principio, luego se normaliza. Reserva alcalina irregular con tendencia a normalizarse. Cloro, normal en las primeras determinaciones, desciende algo hacia el final de la observación. Colesterol, al principio normal, sufre un descenso constante y al mes de inoculado se obtiene un valor de 50 % del inicial. Calcio, presenta variaciones dentro de los límites normales. La bilirrubina indirecta, positiva débil en el comienzo, se mantiene así hasta el mes en que se hace positiva franca. Urea y fósforo inorgánico permanecen normales. La bilirrubina directa no se hizo aparente. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: marzo 22.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 18

Bovino N.º 350 — Macho castrado 18 meses mestizo Hereford — 1941-1942

	Junio		Julio		Agosto	Octubre	Setiembre
Día		**4**	**14**	**30**	**4**	**13**	**3**
Glicemia	0g.70‰	0g.45	—	—	—	—	0g.63
Reserva alcalina	—	—	—	—	57,4%	—	66,2
Urea	0g.60‰	0g.58	0g.40	—	—	—	0g.33
Cloro	3g.40‰	3g.55	—	—	—	—	3g.44
Colesterol	100mlg.%	60	52,3	—	—	80,8	176
Fósforo inorgánico	5,43mlg.%	3,67	—	—	—	—	7,60
Calcio	12mlg.%	10	—	—	—	—	10,56
Bilirrubina indirecta	—	—	—	negat.	—	—	negat.
Bilirrubina directa	—	—	—	negat.	—	—	negat.

Comentario: Este animal tiene pocas determinaciones en 15 meses de experimentación, por razones ajenas a la misma; en el colesterol se observa un descenso pronunciado (50 %) a los 20 días de la inoculación. Los otros elementos no son dignos de tomarse en cuenta. Retirado con vida de la experiencia.

Inoculado: Junio 23.

FICHA N.º 19

Bovino N.º 471 — Macho castrado 15 meses raza Hereford — 1943

	Febrero		Marzo	
Día	**10**	**24**	**10**	**18**
Glicemia	0g.74‰	0g.68	0g.60	0g.60
Reserva alcalina	69,1%	63,6	70,2	57,8
Urea	—	—	—	—
Cloro	3g.33‰	3g.55	3g.30	3g.55
Colesterol	217mlg.%	160	192	100
Fósforo inorgánico	5,6mlg.%	6	5,2	4,8
Calcio	10,67mlg.%	10,56	11,52	10,56
Bilirrubina indirecta	—	+D	+D	+
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	+D

Comentario: Término de la observación: un mes. Glicemia con poca variación y dentro de la tasa normal. Reserva alcalina presenta baja la última determinación. El colesterol se inicia muy alto, sufre un apreciable descenso a los 9 días de inoculado, sufre un pequeño ascenso y vuelve a descender a menos de la mitad del valor inicial. Calcio, con variaciones dentro de lo normal. Bilirrubina indirecta, se inicia con reacción positiva débil: al mes de la inoculación, positiva franca. La bilirrubina directa se hace aparente al mes de inoculado. Cloro y fósforo inorgánico con valores normales. Muere a consecuencia de la inoculación, en marzo 23.

Inoculado: febrero 15.

+D: positivo débil.

FICHA N.° 20

Bovino N.° 346 — Hembra 2 ½ años mestizo Holandesa — 1941

	Junio	Setiembre				Octubre									
Día		**5**	**8**	**15**	**25**	**27**	**29**	**2**	**3**	**6**	**9**	**13**	**14**	**17**	**20**
Glicemia	0g.60‰	—	—	0g.33	—	0g.40	—	—	0g.54	—	—	—	0g.45	0g.57	—
Reserva alcalina	—	65,2 %	61,7	—	—	—	63,3	74,8	—	69,1	71	75,8	—	—	63,2
Urea	0g.52‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cloro	3g.26‰	—	—	3g.26	3g.40	—	3g.55	—	—	3g.55	—	—	3g.88	—	3g.30
Colesterol	128mlg.%	—	74,4	—	47,6	—	59,8	—	—	60	—	47.7	—	—	52.2
Fósforo inorgánico ..	4,45mlg.%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Calcio	10mlg.%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bilirrubina indirecta .	—	—	negat.	—	negat.	—	+D	—	—	+D	—	+D	—	—	+int.
Bilirrubina directa ..	—	—	negat.	—	negat.	—	negat.	—	—	negat.	—	negat.	—	—	negat.

Comentario: Término de la observación: dos meses. La glicemia presenta su mínimo a los diez días de inoculado, luego asciende. Reserva alcalina con valores inconstantes, variados. Colesterol, se inicia normal, presenta su mínimo a los 20 días de inoculado y persiste bajo con poca diferencia. Bilirrubina indirecta al principio negativa, pasa a positivo débil y positivo intenso. Cloro se mantuvo con pocas variaciones. Bilirrubina directa no se hizo aparente. Urea, fósforo inorgánico y calcio, solo tienen un dosaje de c/u. Sacrificado por muy enfermo en noviembre 25.

Inoculado: setiembre 5.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 21

Bovino N.º 405 — Hembra 2 años mestizo Shorthorn — 1941-1942

	Diciembre		Enero
Día	**11**	**22**	**22**
Glicemia	0g.74‰	0g.52	0g.42
Reserva alcalina	68.1 %	61,4	—
Urea	0g.32‰	0g.32	0g.69
Cloro	3g.26‰	3g.55	—
Colesterol	100mlg. %	50	52
Fósforo inorgánico	3,8mlg. %	3,5	—
Calcio	11mlg. %	11	—
Bilirrubina indirecta	—	—	+Intenso
Bilirrubina directa	—	—	negat.

Comentario: Término de la observación: 40 días. Glicemia descendiendo. Urea al principio normal, aumenta el doble en el día anterior al de la muerte. El colesterol desciende un 50 % al undécimo día de la inoculación. Fósforo inorgánico (dos determinaciones) se mantuvo muy bajo. Bilirrubina indirecta positivo intenso (una determinación). Reserva alcalina, cloro y calcio, normales. Bilirrubina directa, negativa. Muere a consecuencia de la inoculación en enero 23.

Inoculado: diciembre 11.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 22

Bovino N.º 470 — Macho castrado 15 meses raza Hereford — 1943

	Febrero		Marzo		
Día	**10**	**24**	**10**	**18**	**26**
Glicemia	0g.75‰	0g.68	0g.54	0g.58	—
Reserva alcalina	72 %	57,9	64,5	70,1	—
Urea	—	—	—	—	—
Cloro	3g.40‰	3g.60	3g.26	3g.47	—
Colesterol	192mlg. %	85	108	52,5	55
Fósforo inorgánico	6mlg. %	5,6	4,6	4,6	—
Calcio	10,18mlg. %	10,08	10,56	10,08	—
Bilirrubina indirecta	—	+	+D	+	—
Bilirrubina directa	—	+D	+D	+D	—

Comentario: Término de la observación: un mes. Glicemia, descendiendo, pero no de modo notable. Reserva alcalina con valores irregulares. El colesterol se inicia muy alto, desciende irregularmente y muestra los dos últimos valores un cuarto del valor inicial. Bilirrubina indirecta, con valores positivos. Bilirrubina directa, positivo débil en las únicas tres reacciones. Cloro, fósforo inorgánico y calcio, con pequeñas variaciones dentro de los normal. Muere a consecuencia de la inoculación en marzo 26.

Inoculado: febrero 15.

+D: positivo débil.

FICHA N.º 23

Bovino N.º 408 — Hembra 2 años cruza Shorthorn-Hereford — 1942

	Marzo				
Día	**5**	**12**	**18**	**23**	**25**
Glicemia	0g.49‰	0g.64	0g.70	0g.67	—
Reserva alcalina	66,2 %	60,5	64,3	46,6	—
Urea	0g.30‰	0g.70	0g.29	0g.55	0g.35
Cloro	3g.55‰	3g.62	3g.57	3g.56	3g.97
Colesterol	100mlg.%	72	62	58,8	30
Fósforo inorgánico	4,91mlg.%	4,91	5,05	5,3	11,55
Calcio	10mlg.%	10	10,4	9,8	9,5
Bilirrubina indirecta	—	negat.	+	+Int.	+Int.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: un mes. Reserva alcalina, sufre un descenso al mes de inoculado, posteriormente no se obtuvieron valores. Urea, presenta un aumento a los 20 días de inoculado, después se normaliza. Colesterol, desciende paulatinamente hasta menos de un tercio del valor inicial. Fósforo inorgánico, muestra el último dosaje excesivamente alto (día anterior al de la muerte). Calcio más bien bajo, descendió al final. Bilirrubina indirecta, de negativo pasó a positivo y positivo intenso. Glicemia y cloro con poca variación. Bilirrubina directa siempre negativa. Muere a consecuencia de la inoculación.

Inoculado: febrero 23.
Muerte: Marzo 25.
+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 24

Bovino N.º 404 — Hembra mestizo Hereford — 1941-1942

	Diciembre		Enero
Día	**11**	**22**	**22**
Glicemia	0g.49‰	0g.48	0g.59
Reserva alcalina	60,5 %	59,5	—
Urea	0g.29‰	0g.32	0g.42
Cloro	3g.33‰	3g.69	—
Colesterol	130mlg.%	35	24
Fósforo inorgánico	4,8mlg.%	5	—
Calcio	10.5mlg.%	11	—
Bilirrubina indirecta	—		+D
Bilirrubina directa	—		negat.

Comentario: Término de la observación: 40 días. La urea aumenta en el último dosaje. Colesterol, comienza normal y a los 40 días de inoculado desciende a un quinto del valor inicial. Glicemia, reserva alcalina, cloro, fósforo inorgánico y calcio se mantuvieron dentro de valores normales. Muere a consecuencia de la inoculación en febrero 22.

Inoculado: diciembre 12-1941.
+D: positivo débil.

FICHA N.º 25

Bovino N.º 463 — Macho 15 meses mestizo Holandesa — 1942

	Abril		Mayo		Junio
Día	**11**	**23**	**4**	**19**	**11**
Glicemia	0g.67‰	0g.58	0g.56	0g.43	0g.30
Reserva alcalina	61,3 %	59,5	69,1	63,3	61,3
Urea	0g.16‰	0g.30	0g.42	0g.23	0g.70
Cloro	3g.72‰	3g.52	3g.54	3g.51	4,1
Colesterol	122mlg. %	100	90	70	13,5
Fósforo inorgánico	4,75mlg. %	4,62	5,35	5	2,1
Calcio	10,4mlg. %	10,28	10,18	10,67	9,7
Bilirrubina indirecta	—	+	+Int.	+Int.	+Int.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	negat.	+

Comentario: Término de la observación: dos meses. Glicemia descendiendo paulatinamente hasta un 50 % del valor inicial. Urea: presenta variaciones dentro de lo normal, pero el último dosaje presenta un valor alto (día anterior al de la muerte). Cloro normal durante el proceso, dió muy elevado el último dosaje. Colesterol comenzando normal, descendió en forma constante y paulatina; último dosaje con un valor cercano al décimo del inicial. El fósforo inorgánico se mantuvo normal hasta el último dosaje que dió notablemente bajo. Bilirrubina indirecta comenzando positiva franca pasa, en forma continuada, a reacción intensa. Bilirrubina directa, un sólo valor positivo (próximo al deceso). La reserva alcalina se mantuvo en tasa normal. Muere a consecuencia de la inoculación. El calcio se mantuvo dentro de los límites normales.

Muerte: junio 12.

Inoculado: abril 10.

+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 23

Bovino N.º 408 — Hembra 2 años cruza Shorthorn-Hereford — 1942

	Marzo				
Día	**5**	**12**	**18**	**23**	**25**
Glicemia	0g.49‰	0g.64	0g.70	0g.67	—
Reserva alcalina	66,2 %	60,5	64,3	46,6	—
Urea	0g.30‰	0g.70	0g.29	0g.55	0g.35
Cloro	3g.55‰	3g.62	3g.57	3g.56	3g.97
Colesterol	100mlg.%	72	62	58,8	30
Fósforo inorgánico	4,91mlg.%	4,91	5,05	5,3	11,55
Calcio	10mlg.%	10	10,4	9,8	9,5
Bilirrubina indirecta	—	negat.	+	+Int.	+Int.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	negat.	negat.

Comentario: Término de la observación: un mes. Reserva alcalina, sufre un descenso al mes de inoculado, posteriormente no se obtuvieron valores. Urea, presenta un aumento a los 20 días de inoculado, después se normaliza. Colesterol, desciende paulatinamente hasta menos de un tercio del valor inicial. Fósforo inorgánico, muestra el último dosaje excesivamente alto (día anterior al de la muerte). Calcio más bien bajo, descendió al final. Bilirrubina indirecta, de negativo pasó a positivo y positivo intenso. Glicemia y cloro con poca variación. Bilirrubina directa siempre negativa. Muere a consecuencia de la inoculación.

Inoculado: febrero 23.
Muerte: Marzo 25.
+Int.: positivo intenso.

FICHA N.º 24

Bovino N.º 404 — Hembra mestizo Hereford — 1941-1942

	Diciembre		Enero
Día	**11**	**22**	**22**
Glicemia	0g.49‰	0g.48	0g.59
Reserva alcalina	60,5 %	59,5	—
Urea	0g.29‰	0g.32	0g.42
Cloro	3g.33‰	3g.69	—
Colesterol	130mlg.%	35	24
Fósforo inorgánico	4,8mlg.%	5	—
Calcio	10.5mlg.%	11	—
Bilirrubina indirecta	—		+D
Bilirrubina directa	—		negat.

Comentario: Término de la observación: 40 días. La urea aumenta en el último dosaje. Colesterol, comienza normal y a los 40 días de inoculado desciende a un quinto del valor inicial. Glicemia, reserva alcalina, cloro, fósforo inorgánico y calcio se mantuvieron dentro de valores normales. Muere a consecuencia de la inoculación en febrero 22.

Inoculado: diciembre 12-1941.
+D: positivo débil.

FICHA N.º 25

Bovino N.º 463 — Macho 15 meses mestizo Holandesa — 1942

	Abril		Mayo		Junio
Día	**11**	**23**	**4**	**19**	**11**
Glicemia	0g.67‰	0g.58	0g.56	0g.43	0g.30
Reserva alcalina	61,3 %	59,5	69,1	63,3	61,3
Urea	0g.16‰	0g.30	0g.42	0g.23	0g.70
Cloro	3g.72‰	3g.52	3g.54	3g.51	4,1
Colesterol	122mlg. %	100	90	70	13,5
Fósforo inorgánico	4,75mlg. %	4,62	5,35	5	2,1
Calcio	10,4mlg. %	10,28	10,18	10,67	9,7
Bilirrubina indirecta	—	+	+Int.	+Int.	+Int.
Bilirrubina directa	—	negat.	negat.	negat.	+

Comentario: Término de la observación: dos meses. Glicemia descendiendo paulatinamente hasta un 50 % del valor inicial. Urea: presenta variaciones dentro de lo normal, pero el último dosaje presenta un valor alto (día anterior al de la muerte). Cloro normal durante el proceso, dió muy elevado el último dosaje. Colesterol comenzando normal, descendió en forma constante y paulatina; último dosaje con un valor cercano al décimo del inicial. El fósforo inorgánico se mantuvo normal hasta el último dosaje que dió notablemente bajo. Bilirrubina indirecta comenzando positiva franca pasa, en forma continuada, a reacción intensa. Bilirrubina directa, un sólo valor positivo (próximo al deceso). La reserva alcalina se mantuvo en tasa normal. Muere a consecuencia de la inoculación. El calcio se mantuvo dentro de los límites normales.

Muerte: junio 12.

Inoculado: abril 10.

+Int.: positivo intenso.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS

(En animales enfermos de Tristeza bovina)

GLICEMIA

Método de Folin y Wu, valores expresados en gramos por litro.

En la mayoría de los animales, se mantuvo con variaciones dentro de los límites considerados normales. Pero existe una tendencia a una disminución de la glicemia, que fué más acentuada en 7 casos (fichas N.º 1, 8, 10, 11, 20, 21 y 25) en que se registran valores por debajo de 0g50 por mil, llegando en algunos casos a valores próximos a un 50 % de lo normal (fichas N.º 20 y 25).

Queda descartada la intervención del régimen alimenticio en las variaciones anotadas, porque los animales dispusieron siempre de hidratos de carbono suficientes, más bien en algunos casos aumentados.

RESERVA ALCALINA

Método de Van Slyke.

En la mayoría de los animales no se observaron variaciones significativas. En dos se verificó tendencia al descenso por debajo de lo normal (462, 466); en tres casos valores más elevados que lo normal (75, 8-76, 6 y 80, 6 %).

UREA

Método del hipobromito, Ambard, resultados en gramos por mil de suero.

Pocas variaciones significativas; solamente en tres animales con enfermedad grave, mortal, se verificaron valores altos: 0g70, 0g70 y 0g69 por litro.

CLORO

Método argéntico de Volhard expresando en gramos de cloro por mil de suero.

Sin variaciones significativas.

FOSFORO INORGANICO

Valores variables dentro de límites conceptuados normales aislados, bajos, en dos animales 2,1 - 2,5 mlg. %) y valores altos en otros tres casos: (7 - 7,6 y 11,55 mlg. %). Método de Bell y Doisy expresando en mlg. % de suero.

CALCIO

Método de Kramer y Tisdall, expresando en mlg. de calcio % de suero.

Sin variaciones significativas; salvo en un caso, se comprobó alguna tendencia a un descenso sostenido (9,5 mlg. %).

BILIRRUBINA

Para la investigación se utilizó la reacción de Hijman van den Berg; directa e indirecta. No se hicieron dosificaciones porque las reacciones cualitativas demostraron poca intensidad en la mayoría de los casos.

La reacción indirecta fué generalmente negativa en los animales normales, siendo débilmente aparente en un 12 %. En cambio, en los animales en ataque de Tristeza, fué siempre en algún momento positiva (salvo en un animal), variando en intensidad de un positivo débil a positivo intenso, para desaparecer con el restablecimiento a la normalidad.

La reacción directa, ausente en los animales normales, sólo se hizo presente en siete animales sobre los 25 atacados de Tristeza. De los siete, cuatro correspondieron a casos mortales y uno a enfermedad muy grave pero que sobrevivió y dos casos de infección de mediana intensidad.

Tiene pues la presencia de la reacción directa un significado pronóstico de valor.

UROBILINOGENO

Método de Schlesinger.

Las investigaciones dieron siempre negativas, tanto en animales normales como en los enfermos.

COLESTEROL

Método de Bloor, expresando en mlg. % de suero.

Este componente de la sangre es el que ha presentado mayores variaciones en sus valores, tanto en el sentido de la frecuencia como de la intensidad. En todos los animales infestados experimentalmente se verificó un descenso significativo del colesterol en algún momento de la evolución de la enfermedad; pero como en algunos casos los análisis, por diversas circunstancias no se hicieron con regularidad se toman en consideración solamente 19 animales (sobre los 25 de la experiencia).

Los resultados se han dispuesto en gráficas numeradas del 1 al 19.

En cada gráfica figura el número del animal y el de la ficha correspondiente por si se desean relacionar los valores del colesterol con los de las otras sustancias analizadas.

En el eje de las abscisas figuran los días de la infección, el "0" indica el día de la inoculación y cada espacio representa 5 días. En el eje de las ordenadas el contenido de colesterol en miligramos para 100 c.c. de suero sanguíneo; cada espacio representa 10 miligramos.

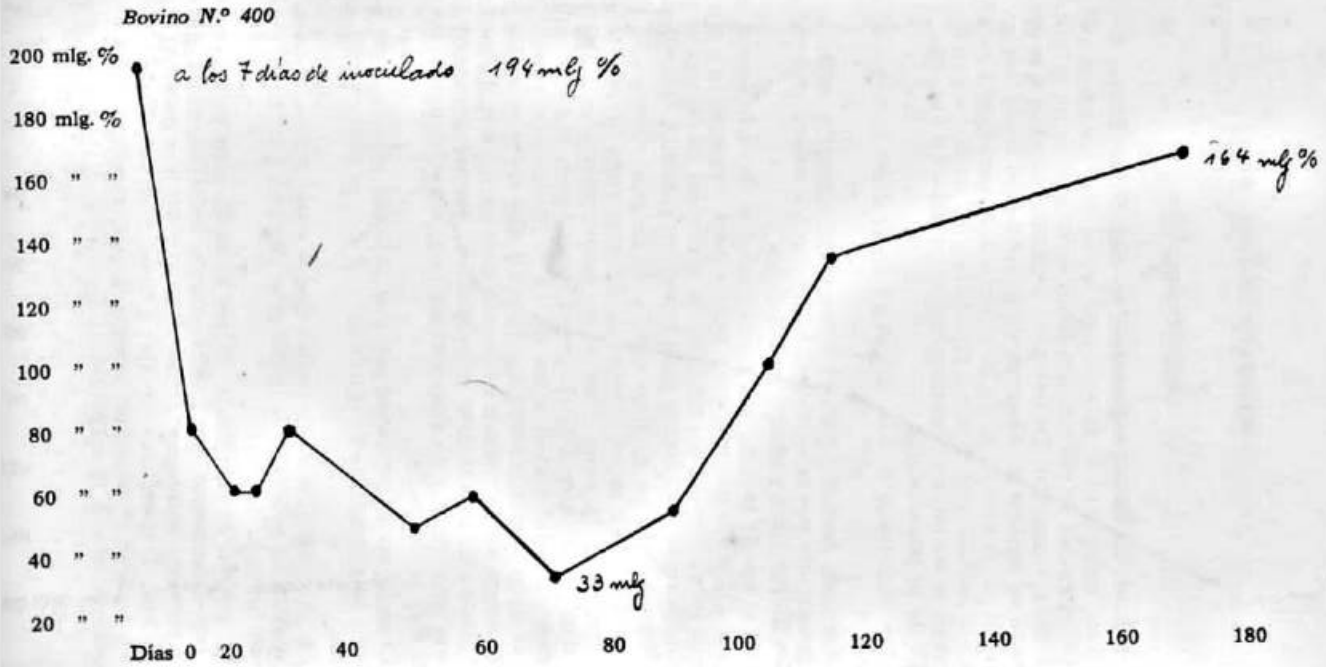
Examinando las gráficas resalta de un modo evidente: 1.º los grandes descensos en el colesterol. 2.º que para la casi totalidad de los animales, la gráfica indica un primer descenso entre los 10 y 25 días de la infección, correspondiendo para muchos animales el vértice de ese descenso entre los 14 y 25 días; un segundo descenso se hace aparente entre los 30 y 60 días de la infección. Estos dos descensos están presumiblemente en relación con la evolución por separado, de la infección piroplásmica (primer descenso) de incubación más breve y la anaplásmica (segundo descenso), de incubación más prolongada.

Cuando en la evolución de una primera infección, se ha intercalado una reinfección (gráficas 4 y 5) se observa un nuevo descenso.

En lo relativo a la magnitud de las variaciones debemos destacar que en 16 animales se verificaron descensos entre 50 y 90 % del valor inicial.

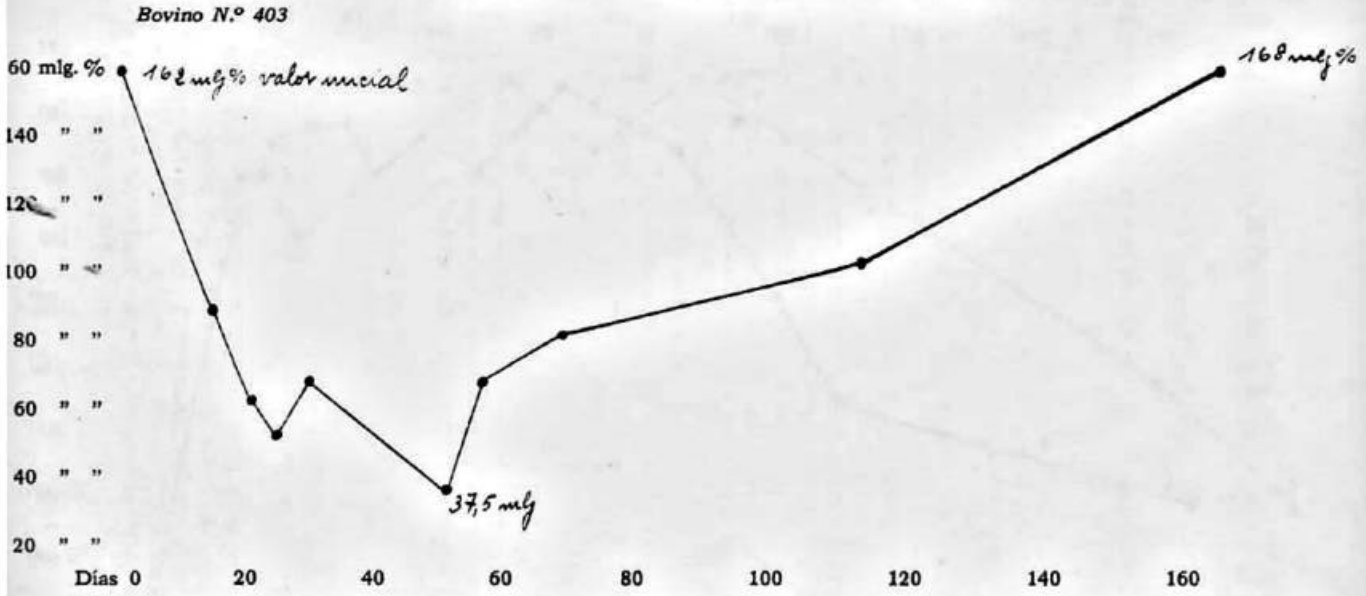
En cuanto al significado de los mismos, sólo podemos manifestar por el momento, que parece guardar relación con la gravedad de la infección; correspondiendo entre los valores más bajos (13, 24 y 30 mlg. %), algunos de ellos a casos mortales (fichas N.º 17, 18, 19), aunque se observan valores igualmente bajos en animales que sobrevivieron a la infección.

GRAFICA 1 — VARIACIONES DEL COLESTEROL



Muestra un valor inicial algo elevado, descendiendo con alternativas al 17 % a los 70 días de inoculado y por último normal. Retirado con vida de la experiencia.

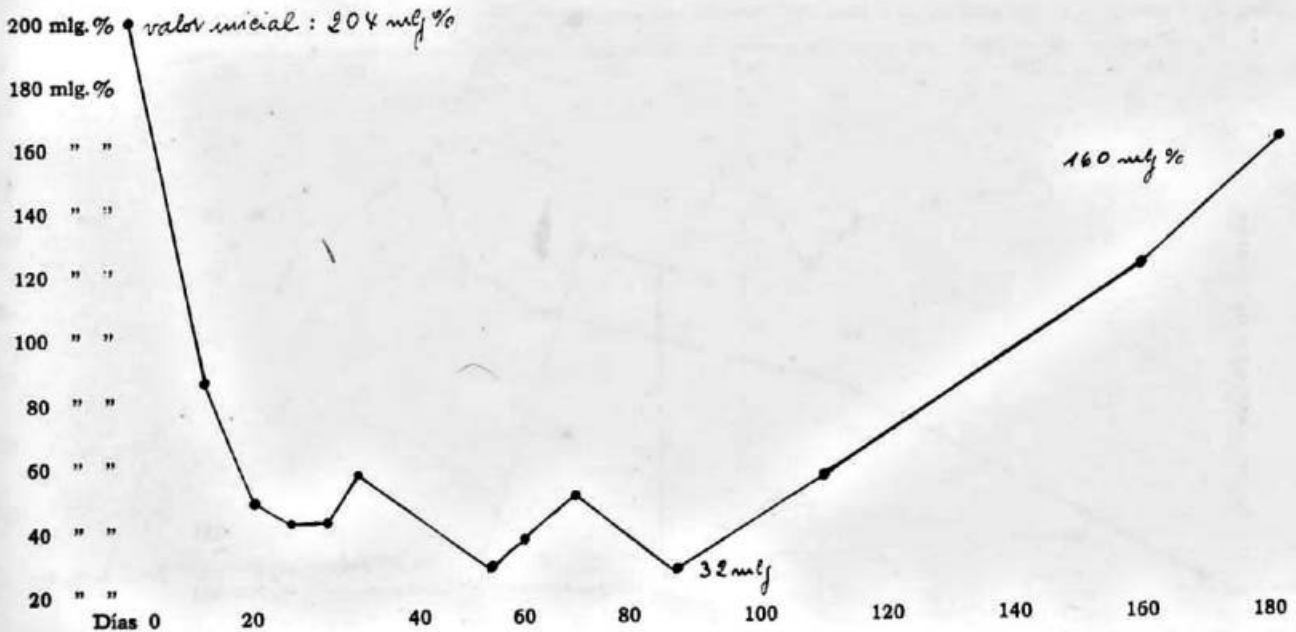
GRAFICA 2 — VARIACIONES DEL COLESTEROL



Muestra un valor inicial normal, luego de un descenso pronunciado, llega a un mínimo de 17 % de ese valor a los 55 días de inoculado para normalizarse posteriormente.
Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 3 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

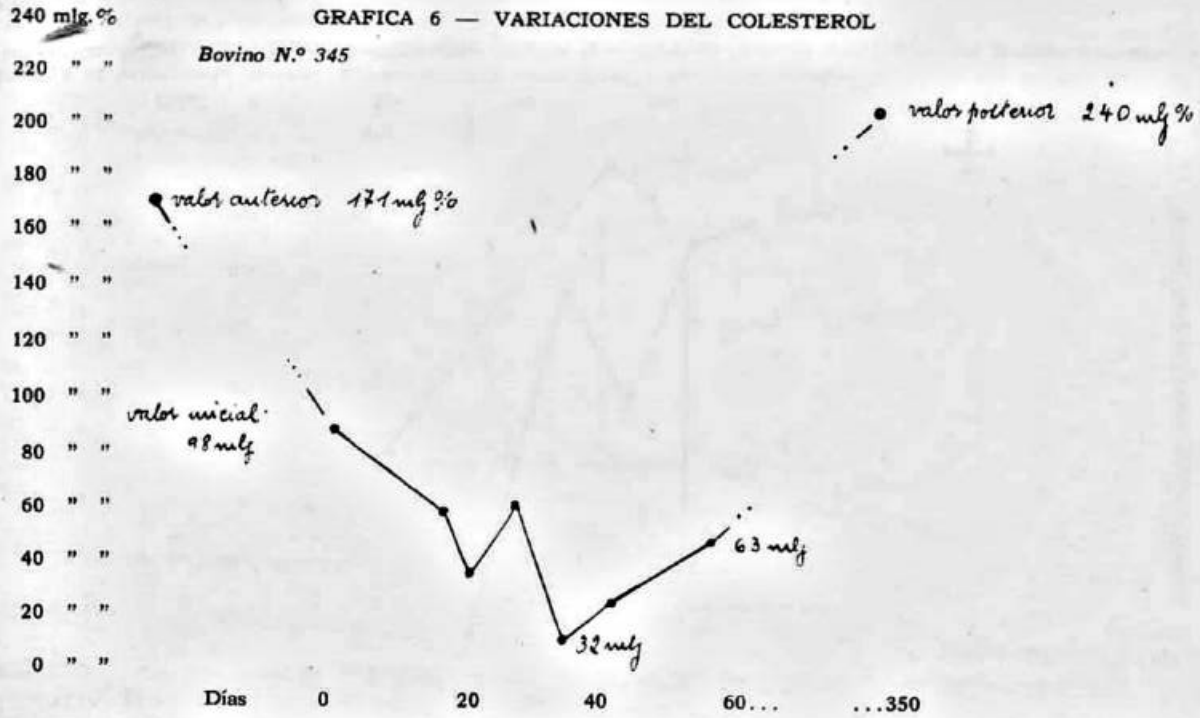
Bovino N.º 402



Muestra un valor inicial elevado, luego un descenso con alternativas. Sus valores mínimos (16 %) a los 55 y 80 días de la inoculación, posteriormente ascienden hasta normalizarse.
Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 6 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

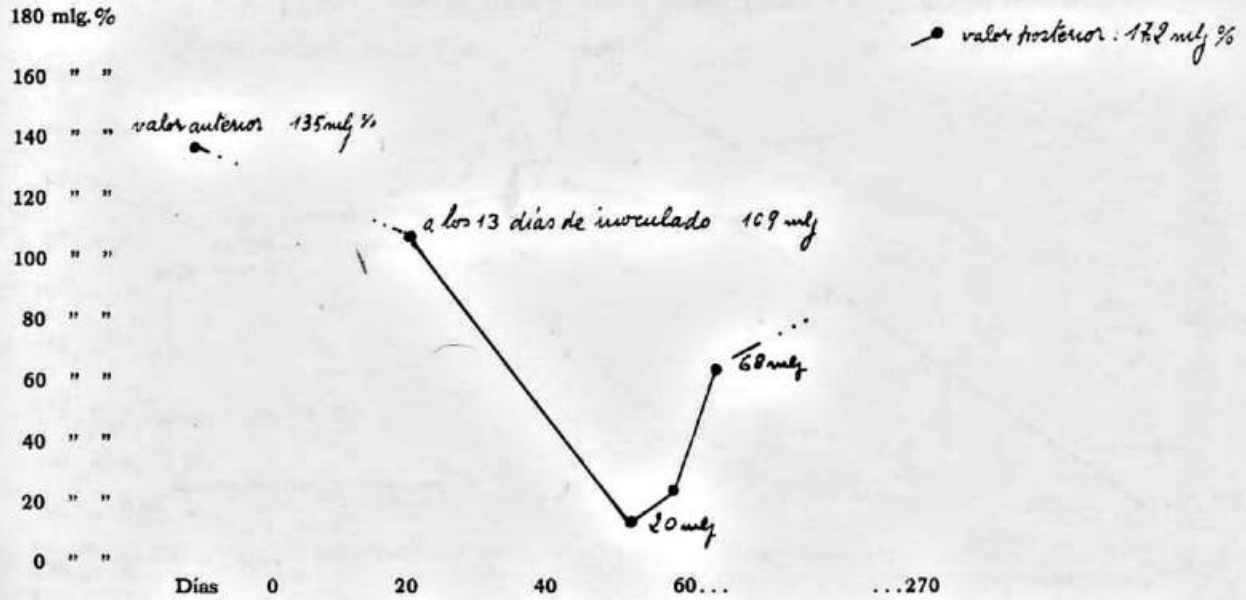
Bovino N.º 345



Muestra un primer valor elevado, presenta alternativas, desciende al 19 % del primitivo y por último sobrepasa al mismo. Retirado con vida de la experiencia.

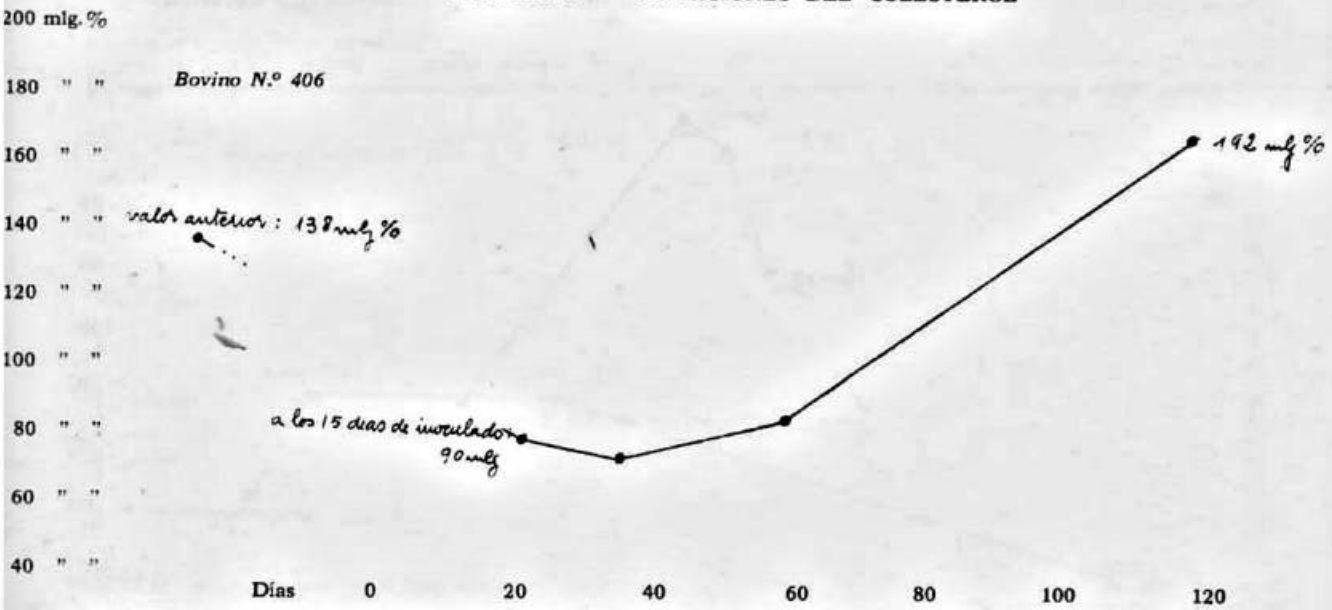
GRAFICA 7 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

Bovino N.º 344



Muestra un descenso intenso, 15 % del valor anterior, posteriormente asciende muy por encima de ese valor. Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 8 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

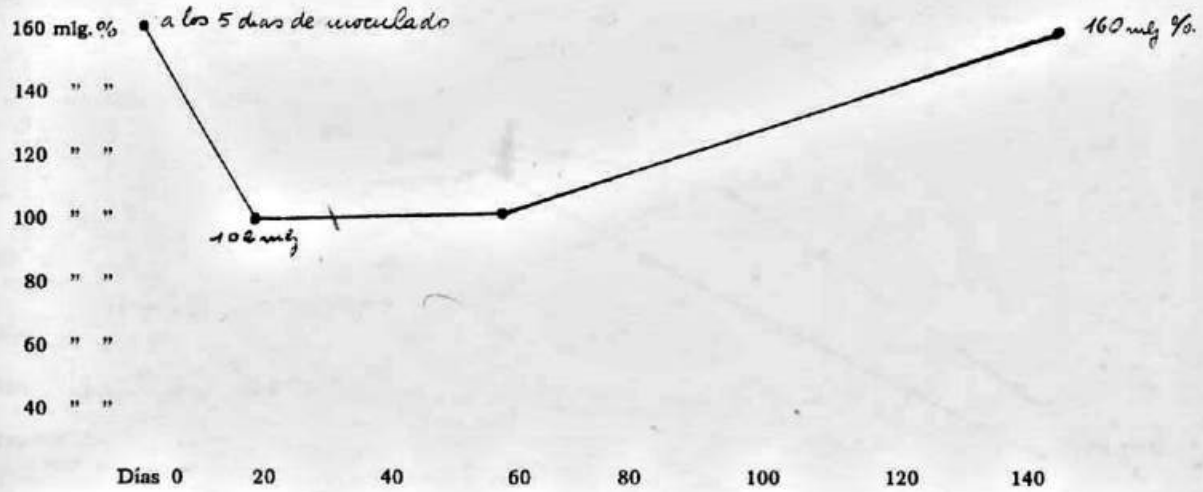


Muestra un valor anterior normal, luego un descenso con su mínimo (60 %) a los 30 días de la inoculación y por último un valor posterior más elevado que el primitivo.

Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 9 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

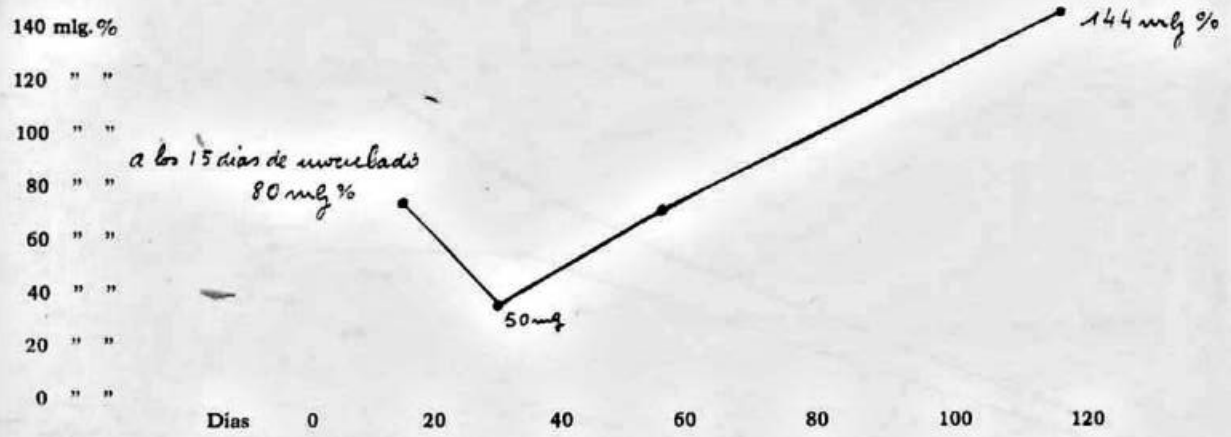
Bovino N.º 452



Muestra el valor inicial normal, un mínimo de 64 % a los 20 días de inoculado, que se mantiene algún tiempo y luego un ascenso, distante, que iguala al valor inicial.
Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 10 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

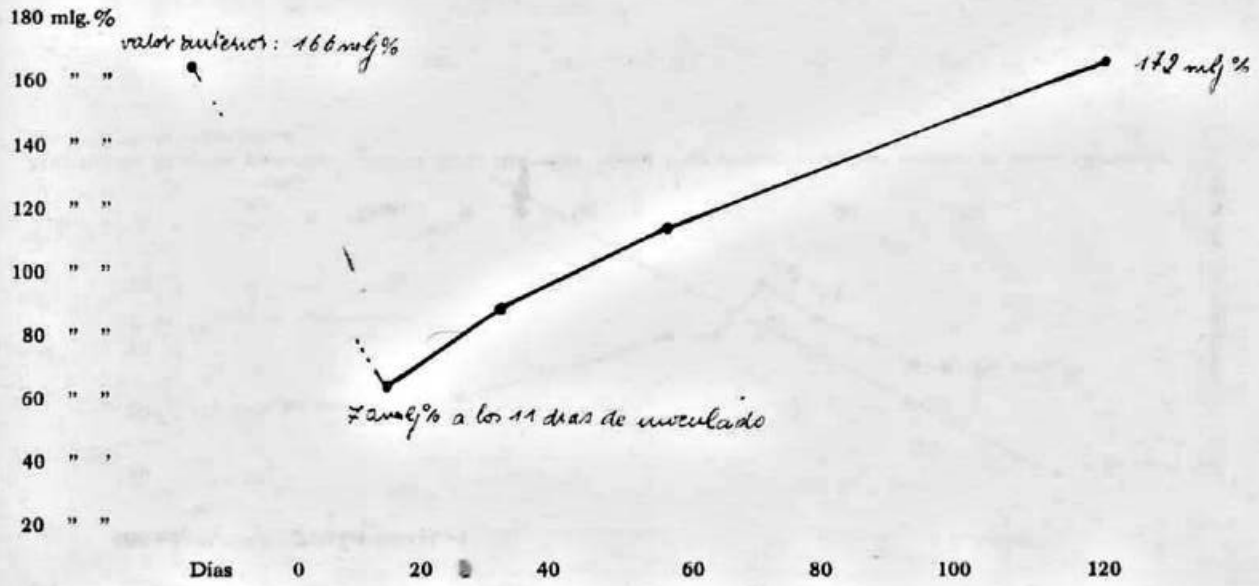
Bovino N.º 407



Muestra un mínimo a los 30 días de la inoculación y luego un ascenso hasta valor normal. — Falta el valor inicial. Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 11 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

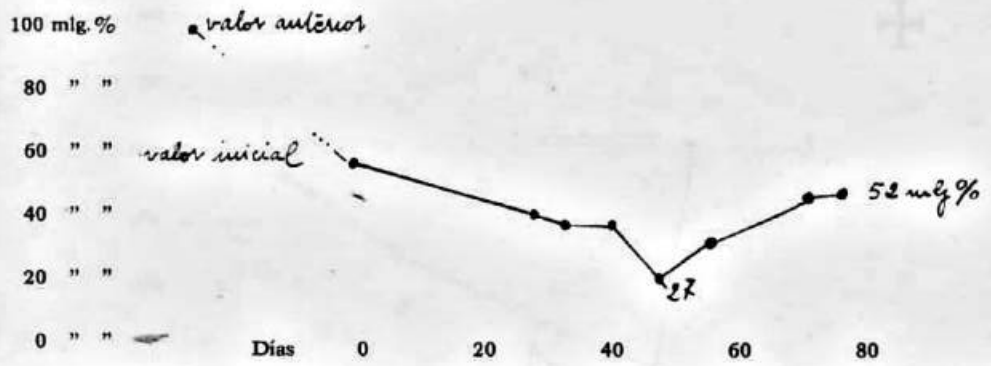
Bovino N.º 399



Muestra un valor inicial normal, un descenso al 42 % de ese valor y el último, normal. — Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 12 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

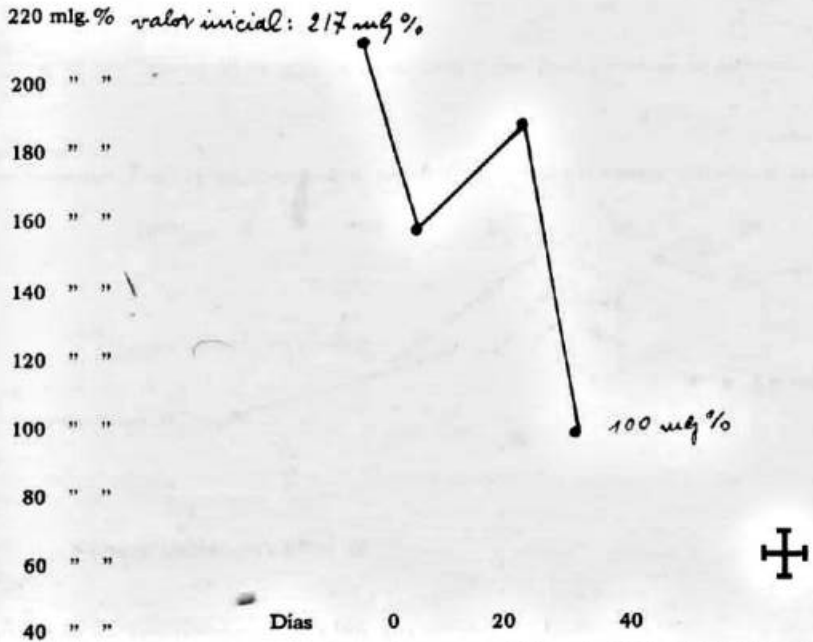
Bovino N.º 343 — (Corresponde a la Ficha 15)



Muestra un descenso paulatino hasta el 50 % del valor inicial y un ascenso posterior, cercano al inicial. Retirado con vida de la experiencia.

GRAFICA 13 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

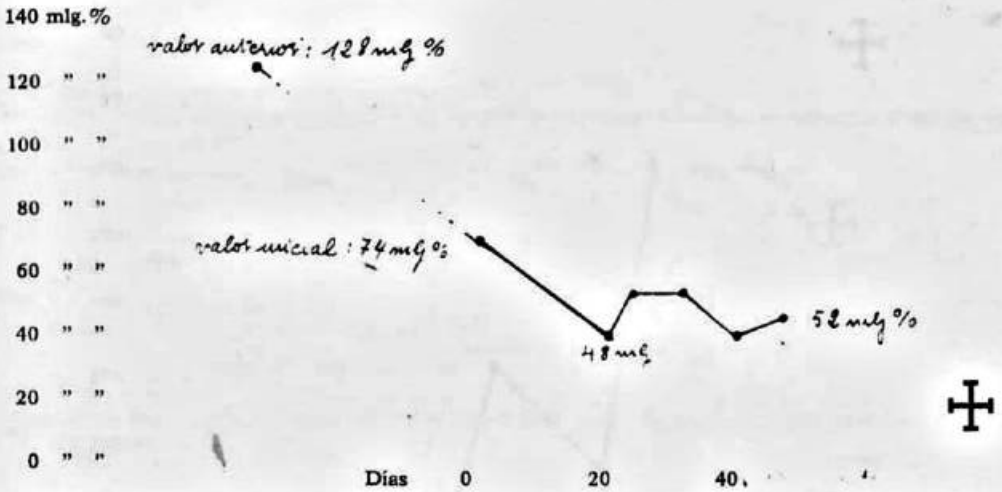
Bovino N.º 471 — (Corresponde a la Ficha 19)



Muestra un valor inicial elevado, un descenso con alternativas y un mínimo de 46 % del inicial a los 33 días de la inoculación. Muere a consecuencia de la misma, 4 días después.

GRAFICA 14 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

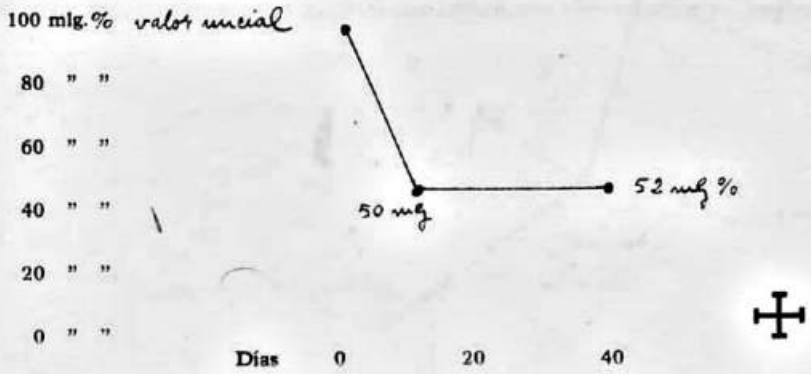
Bovino N.º 346 — (Corresponde a la Ficha 20)



Muestra un primer valor normal, desciende al 37 % de ese valor y con poca variación se mantiene bajo hasta la muerte por sacrificio.

GRAFICA 15 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

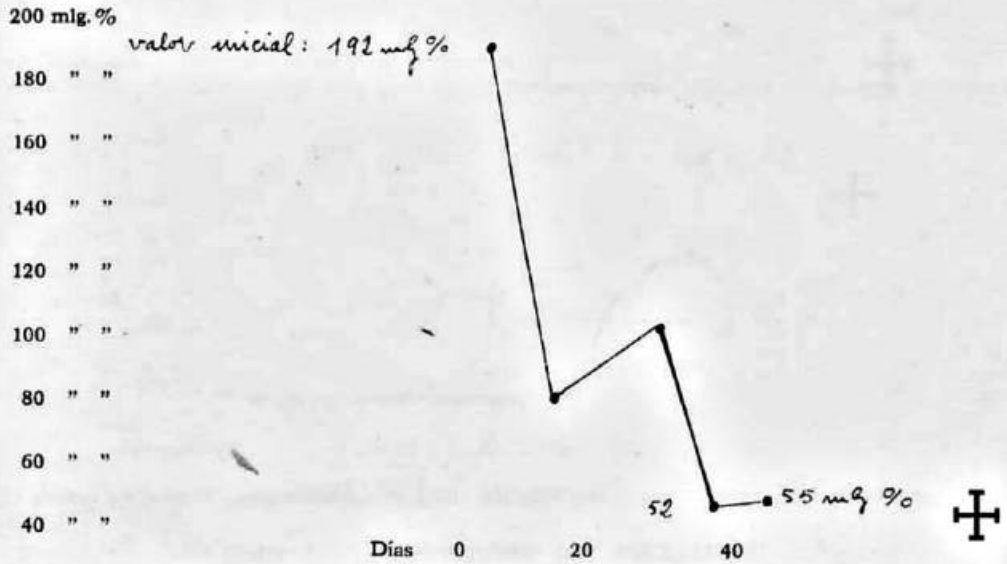
Bovino N.º 405 — (Corresponde a la Ficha 21)



Muestra el valor inicial normal, desciende al 50 % a los 10 días de inoculado y persiste en ese valor hasta los 40 días, fecha de la muerte a consecuencia de la inoculación.

GRAFICA 16 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

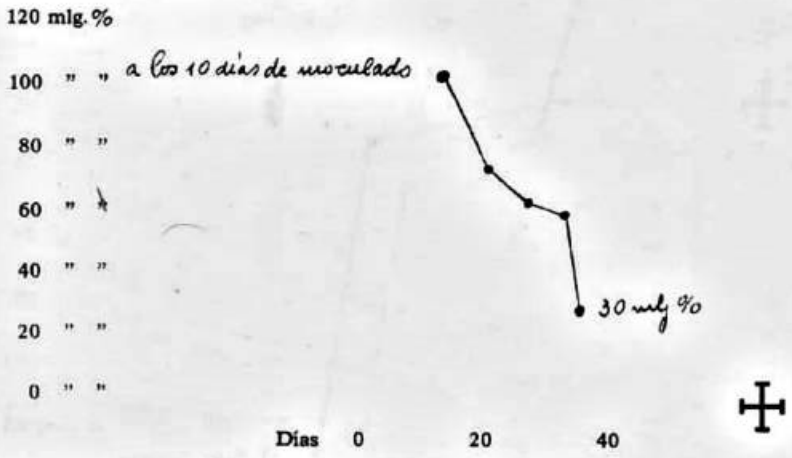
Bovino N.° 470 — (Corresponde a la Ficha 22)



Muestra un valor inicial elevado, un descenso con alternativas, y a los 30 días de inoculado un mínimo de 27 % del inicial que se mantiene hasta la muerte producida 8 días después.

GRAFICA 17 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

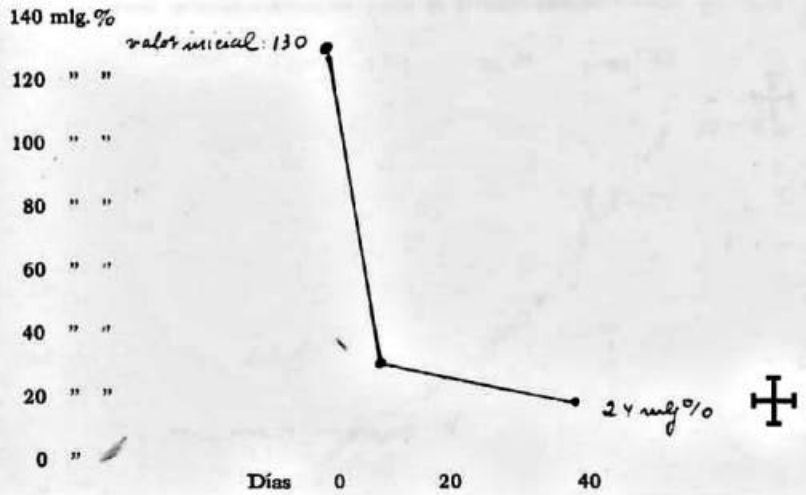
Bovino N.º 408 — (Corresponde a la Ficha 23)



Muestra un descenso constante hasta la muerte a consecuencia de la inoculación.

GRAFICA 18 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

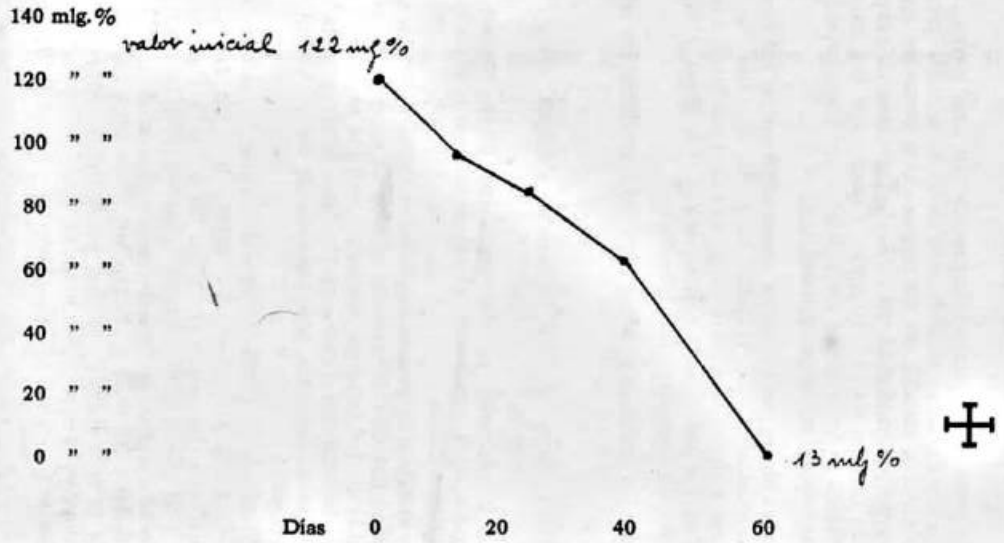
Bovino N.º 404 — (Corresponde a la Ficha 24)



Muestra el valor inicial normal, desciende al 17 % a los 40 días, fecha en que muere a consecuencia de la inoculación.

GRAFICA 19 — VARIACIONES DEL COLESTEROL

Bovino N.º 463 — (Corresponde a la Ficha 25)



Muestra el valor inicial normal y un descenso constante hasta la muerte, con un mínimo del 10% de ese valor a los 60 días de la inoculación.

RESUMEN

1.º El presente trabajo comprende por una parte el estudio de los valores de algunos componentes de la sangre en bovinos normales, y por otra, el estudio de los mismos componentes en bovinos infestados experimentalmente con los hematozoarios responsables de la Tristeza bovina en el Uruguay (Piroplasma bigeminum, Babesiella argentina y Anaplasma marginal) virus de campo comprendiendo las tres especies de hematozoarios.

2.º Los valores normales se estudiaron en un lote de 10 animales y complementa un trabajo anterior de uno de nosotros (Barros). Los valores hallados concuerdan sensiblemente, en los promedios, con los anteriores; salvo para el colesterol y la glicemia que resultaron ligeramente más elevados.

3.º En los animales infestados se verifican los siguientes hechos:

a) Pocas variaciones en la reserva alcalina, urea, cloro, fósforo inorgánico y calcio.

b) En la glicemia, se observó en un cierto número de animales, una tendencia al descenso, muy pronunciado en algunos casos.

c) Se verificó la presencia de bilirrubina indirecta en la casi totalidad de los casos, la que muy raramente se hace visible en los bovinos normales, con los métodos utilizados. La bilirrubina directa se hizo presente en siete casos, estando en relación con los estados de gravedad de la infección.

d) El colesterol presentó grandes variaciones en sus valores en cuanto a frecuencia e intensidad. En 16 casos se verificaron descensos entre un 50 y 90 % del valor inicial. En el curso del proceso, aparecen en la casi totalidad de los animales, dos descensos pronunciados; uno entre los 10 y 25 días y el otro entre los 30 y 60 días a partir de la inoculación, lo que presumiblemente está en relación con la evolución de la infección Piroplásmica (primer descenso) y de la Anaplásmica (segundo descenso).

Julio de 1943.

CONSECUENCIAS QUE RESULTAN DEL USO INADECUADO DE LAS TORTAS DE LINO Y GIRASOL EN LA ALIMENTACION DE LOS CERDOS

(CON LA COLABORACION DEL DR. LUIS ALBERTO BARROS Y QUIMICO SR. CARLOS M. FERNANDEZ)

Publicado en el Boletín de la Dirección de Ganadería - Año XXVIII - N.º 3 - 1945

Las causales principales que interesaron en el planteamiento y desarrollo de este trabajo, fueron por un lado, el poder reproducir experimentalmente las lesiones anatomo-patológicas que motivaron el decomiso de cerdos para consumo, faenados tiempo atrás en el Frigorífico Nacional; y por otro lado el poder contribuir, dentro de nuestros medios, a dilucidar los problemas sobre alimentación a que se ven abocados los criadores por falta de conocimientos broncomatológicos en nuestro medio rural.

Sabido es que el uso de tortas de lino y de girasol, subproductos en la elaboración de los respectivos aceites, como complemento en la alimentación de los animales de granja es bastante corriente, pero poco sabido es que cuando la alimentación tiene como base a estos subproductos, de una manera exclusiva o muy intensa, se producen alteraciones de dos órdenes en los animales; por una parte una modificación profunda de las grasas y por otra, en lo que se refiere al afrechillo de lino, fenómenos graves de intoxicación.

Son alimentos incompletos pero muy ricos en proteínas y grasas y su bajo costo motiva el uso, muchas veces sin control, de los mismos; por ello su empleo debe estar supeditado a un conocimiento a fondo de su composición para poder equilibrar las raciones y evitar que esas tortas sean suministradas en cantidades masivas, lo que implica a ir a un rotundo fracaso.

Aún equilibrando las raciones, el exceso de grasa de caracteres propios, y por ende muy diferentes a las grasas animales, ocasiona modificaciones muy acentuadas, las que resultan agravadas por la administración sin discernimiento, que trae aparejados trastornos en ellas, cambios físico-químicos difícilmente reversibles, cuando son muy pronunciados, que conspiran contra la racional explotación granjera como primera providencia, teniendo por base el estado sanitario intrínseco de los animales.

También la musculatura sufre alteraciones macroscópicas, por lo menos, debido al depósito de grasa en el conjuntivo inter-fascicular.

Es alarmante la forma primitiva e inconsciente que se emplea

en general en la alimentación de los animales de granja en nuestro medio. Se suministran alimentos sin el balance apropiado, de efectos unilaterales, ya sea ora con excesos; ora con carencia, lo que pudimos comprobar repetidas veces por los materiales recibidos en el Laboratorio de Biología Animal.

El estudio bromatológico de los alimentos para uso animal fué ha poco iniciado acá y ya tenemos palpables resultados que llevarán a un mejoramiento de nuestra pecuaria nacional.

Las lesiones anatomo-patológicas que motivaron el decomiso mencionado fueron de tal magnitud en las grasas, que sus caracteres eran totalmente anormales. Las alteraciones se evidenciaban ya por el aspecto físico, caracteres organolépticos: color, olor, sabor; al tacto también se encontraron anomalías.

Los cambios variaban en magnitud según las distintas regiones, siendo la grasa del peritoneo parietal la que presentaba mayor grado de desnaturalización. El color era amarillo ocre, el olor fuerte a aceite de lino, la consistencia se encontraba disminuída y eran untuosas al tacto, de aspecto granuloso.

Volviendo al tema que motiva esta comunicación, realizamos la experiencia sobre 16 cerdos agrupados en cinco lotes así distribuídos: un lote (1) de cerdos testigos alimentados con afrechillo (⅘) y maíz pisado (⅕), otro lote (V) de cerdos a mitad torta de lino y mitad torta de girasol, y tres lotes con mezcla de afrechillo, maíz pisado y torta de lino en cantidades crecientes (esta última) de ¼, ²/₄ y ¾ en la ración de los respectivos lotes: II, III y IV.

Previamente efectuamos los análisis de los distintos elementos que componían la ración y fueron estas balanceadas bajo el punto de vista de las unidades nutritivas diarias, las que se llevaron a un mismo tenor para los cinco lotes, en correspondencia al peso de los animales.

También se dosificó el ácido cianhídrico contenido en el lino el cual dió un resultado de 461 miligramos por kilo.

La experiencia abarca un año en su desarrollo y los análisis se hicieron por varios cientos, comprendiendo los pertenecientes a los alimentos, a los de sangre, orina, materias fecales y grasas; éstos últimos desde luego, después de sacrificados los animales, los anteriores en vida de los mismos.

Todos los resultados obtenidos se encuentran en tablas y protocolos a solicitud de los interesados, aquí destacamos solamente los datos más sobresalientes que se hicieron aparentes en el curso de la experiencia; no se consignan los análisis de alimentos.

Las proporciones grandes de tortas dadas de primera intención produjo trastornos digestivos traducidas por diarrea, más o menos intensa y un desgano en la ingestión de la ración. Luego sigue un acostumbramiento fisiológico que se implanta a los pocos días.

Al principio no se asimila toda la grasa ingerida, las fecas se encuentran recargadas de materia grasa, esteatorrea; también este ligero trastorno posteriormente queda en apariencia salvado.

Las tablas de peso, aumentos diarios y totales, no mostraron diferencias apreciables en los promedios, hay pocas variaciones que no tomaremos en cuenta en esta comunicación. Los aumentos se tomaron por cada 100 kilogramos de raciones ingeridas y por cada 100 unidades alimenticias, separadamente.

Los análisis de materias fecales comprendieron: reacción, grasas solubles en éter de petróleo, ácidos grasos de las mismas, ácidos grasos de los jabones, nitrógeno total y eventualmente reacciones de investigación de ácido cianhídrico y de sulfocianuros.

En las grasas solubles se presentaron variaciones en el porcentaje, a veces grandes variaciones, pero que no permiten extraer conclusiones definitivas. Lo mismo, para los ácidos grasos y el nitrógeno total.

Los análisis de orina mostraron que es ésta la gran vía de eliminación del ácido cianhídrico en forma de sulfocianuros, los testigos dieron solamente indicios, en los otros animales hubo una eliminación de HCN casi exacta en relación directa con la cantidad de lino ingerido. Tenemos un caso en el cual la dosificación de sulfocianuros expresados en HCN fué de 108 mlg. por litro; en el lote IV donde el lino entraba en mayor proporción en la ración; ese mismo animal, después de dos meses de retirada la torta de lino de su alimentación, dió reacción negativa de sulfocianuros. Otro animal, del lote III, primariamente de reacción positiva, después de un mes sin lino, también tornóse negativa.

Los análisis de sangre (suero) comprendieron dosajes de: colesterol, lípidos totales, sulfocianuros, reacción de ácido cianhídrico y bilirrubina (directa e indirecta). El colesterol, dentro de variaciones individuales, mantuvo sus límites entre 70 y 90 miligramos %. Los lípidos totales se encontraron aumentados hacia el final de la experiencia cuando el estado de gordura de los animales era mayor. Los últimos dosajes mostraron valores entre 400 y 500 mlg. %. Los sulfocianuros nuevamente aquí dieron la pauta de la importancia que representan en la eliminación del HCN.

Los testigos dieron siempre reacción negativa, así mismo los cerdos primariamente positivos a los cuales posteriormente se les suspendió la torta de lino en la ración. En los otros animales los dosajes de sulfocianuros expresados en HCN están en relación directa con la cantidad de lino ingerido, excepto para el lote V alimentado con partes iguales de lino y girasol, en el cual la correlación no fué muy exacta, posiblemente otro factor intervino en él. En los lotes II, III y IV el promedio de HCN varía entre mlg. 0,236 a mlg. 0,397 % en el transcurso de la experiencia. En los animales

faenados la cantidad de HCN osciló entre uno a dos mlg. % hacia el fin de la experiencia.

La reacción directa del HCN fué negativa en todos los casos. La bilirrubina nunca se hizo aparente.

El estudio de las grasas comprende el estudio más difícil pero el que dió resultados más ponderables. En ellas se estudiaron los caracteres físicos: color, olor, consistencia, y los caracteres físico-químicos.

Se tomaron separadamente seis muestras de cada animal, muestras que corresponden a distintas ubicaciones de las grasas, a saber: epiplón, tocino, riñonada, cabeza, sub-cutánea y peritonio parietal. Los puntos de fusión variaron en un mismo cerdo según el lugar de procedencia; también variaron los diversos índices (de iodo), las reacciones cromáticas de Heydenreich y Bellier; la reacción de hexabromocompuestos y la secantividad.

Pero por encima de estas variaciones que llamaremos de localización se destacan las otras, las variaciones de gran significación, las que precisamente justifican los decomisos y muestran la verdadera desnaturalización de las grasas específicas. El color naturalmente blanco fué tomando un tinte amarillo conforme aumentaba la proporción de lino en la alimentación.

El olor se fué intensificando a aceite de lino en la misma proporción.

La consistencia fué disminuyendo, y se hizo untuosa al tacto en el lote V (mitad lino, mitad girasol). El punto de fusión normal de 36° a 48° centígrados disminuyó a un extremo de 20° pasando por toda una gama de graduación decreciente. El número o índice de iodo normalmente de 60 a 66 se elevó a un máximo de 117 en el lote V, lo que demuestra los grandes cambios sufridos por esas grasas. Las reacciones cromáticas que caracterizan los aceites vegetales, normalmente negativas en los porcinos (incoloras o ligeramente coloreadas) se tornaron hasta pardo oscuro, dentro de una gama variada. La reacción de hexabromocompuestos normalmente negativa, dió ese resultado en las grasas de los lotes I y II (testigo y menor proporción de lino respectivamente), pero luego obtuvimos reacciones positivas en todos los otros lotes. La secantividad, es decir, la propiedad de absorber el oxígeno del aire debido a las dobles ligaduras en la molécula de los ácidos grasos, no se mostró muy consecuente en los resultados obtenidos, posiblemente el medio no era adecuado para esta prueba, pero de cualquier modo es evidente un aumento de la misma.

El tejido muscular se notó palidecido en el lote V que recibía mayor cantidad de grasa. El hígado y los riñones de un animal de este lote presentaron degeneración grasosa.

Como puede apreciarse por los datos aportados, son evidentes los trastornos ocasionados por un exceso de estos sub-productos en la alimentación del cerdo. En cambio creemos que el suministro en una proporción hasta de un 20 % en la ración resulta económico y no se producen trastornos apreciables.

Por otra parte observamos que es admirable la tolerancia del organismo frente a un tóxico cianogenético ingerido en dosis tan elevadas como las que recibían al fin de la experiencia, los animales de los lotes III, IV y V en sus raciones diarias. Indudablemente se mantuvo un tenor siempre alto de sulfocianuros en la sangre, no como un hecho pasajero, sino constante, pues las tomas de sangre siempre fueron hechas entre doce y quince horas después de ingerida la última ración.

A parte de esta experiencia tenemos conejos que desde hace un año se alimentan exclusivamente con torta de lino a discreción y un poco de verde para balancear la ración, dichos animales no presentan trastornos aparentes, aún cuando ya conocemos los cambios histo-patológicos.

A continuación siguen cuadros con algunos resultados.

DETALLE DE LOS LOTES Y ALIMENTACION

Números de los cerdos (tatuajes)

LOTE I (testigos), ración 4/5 afrechillo y 1/5 maíz pisado.
Cerdos N.º 215
" 219

LOTE II, ración: 3/4 ración del lote I y 1/4 torta de lino.
Cerdos N.º 211
" 216
" 218
" 220

LOTE III, ración: 2/4 ración del lote I y 3/4 torta de lino.
Cerdos N.º 217
" 223
" 224
" 226

LOTE IV, ración: 1/4 ración del lote I y 3/4 torta de lino.
Cerdos N.º 214
" 221
" 222
" 225

LOTE V, ración: 2/4 torta de lino y 2/4 torta de girasol.
Cerdos N.º 242
" 243

ANALISIS DE SUERO SANGUINEO EN CERDOS VIVOS

	Colesterol	Lípidos Totales	HCN (Guignard)	Sulfocianuros (Exp. en HCN)	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Indir.
Lote I						
N.° 215	77 mlg. %	240 mlg. %	Negativo	Negativo	Neg.	Neg.
" 219	80 " "	200 " "	"		"	"
	Prom. 78,5	Prom. 220				
Lote II						
N.° 211	70 mlg. %	280 mlg. %	"	0,232 mlg. %	"	"
" 216	80 " "	220 " "	"	0,210 " "	"	"
" 218	85 " "	320 " "	"	0,240 " "	"	"
" 220	70 " "	170 " "	"	0,258 " "	"	"
	Prom. 76,25	Prom. 247,5		Prom. 0,236		
Lote III						
N.° 217	70 mlg. %	250 mlg. %	"	0,330 mlg. %	"	"
" 223	68 " "	300 " "	"	0,290 " "	"	"
" 224	77 " "	290 " "	"	0,270 " "	"	"
" 226	95 " "	350 " "	"	0,340 " "	"	"
	Prom. 77,5	Prom. 297,5		Prom. 0,307		
Lote IV						
N.° 214	110 mlg. %	230 mlg. %	"	0,320 mlg. %	"	"
" 221	87 " "	260 " "	"	0,370 " "	"	"
" 222	85 " "	300 " "	"	0,600 " "	"	"
" 225	105 " "	220 " "	"	0,300 " "	"	"
	Prom. 96,75	Prom. 252,5		Prom. 0,397		
Lote V						
N.° 242	75 mlg. %	360 mlg. %	"	0,720 mlg. %	"	"
" 243	70 " "	200 " "	"	0,830 " "	"	"
	Prom. 72,5	Prom. 280		Prom. 0,775		

ANALISIS DE SUERO SANGUINEO EN CERDOS FAENADOS

	Colesterol	Lípidos Totales	Sulfocianuros (Exp. en HCN)
Lote I			
N.° 219 VI-8	95 mlg. %	460 mlg. %	negativo
Lote II			
N.° 216 V-29	107 " "	460 " "	1,58 mlg. %
Lote III			
N.° 217 V-18	65 " "	420 " "	2,10 mlg. %
" 226 VII-10	110 " "	440 " "	negativo (sin torta de lino desde VI-8)
Lote IV			
N.° 222 V-8	100 " "	500 " "	1,92 mlg. %
" 225 VII-10	100 " "	440 " "	negativo (sin torta de lino desde V-8)
Lote V			
N.° 242 V-29	95 " "	440 " "	1,71 mlg. %

ANALISIS DE ORINA DE LOS CERDOS EN EXPERIENCIA

	Reacción:	Sulfocianuros (Exp. en HCN)
Lote I		
N.º 215 III-14	ácida	Indicios
" 219 V-8 †	"	"
Lote II		
N.º 216 III-8	"	17 mlg. x litro
" " III-14	"	13 " " "
" " V-29 †	"	45 " " "
Lote III		
N.º 223 III-8	"	38,5 mlg. x litro
" 226 VII-10 †	"	negativo (sin torta de lino desde VI-8)
" 217 X-14	"	54 mlg. x litro
" " X-27	"	27 " " "
" " XI-9	"	90 " " "
" " III-14	"	45 " " "
" " VI-8 †	"	90 " " "
Lote IV		
N.º 222 III-14	"	65 mlg. x litro
" " V-8 †	"	67,5 " " "
" 225 III-14	"	108 " " "
" " VII-10 †	"	Negativo (sin torta de lino desde V-8)
Lote V		
N.º 242 V-29 †	"	13 mlg. x litro
" 243 XI-10	"	54 " " "

RESUMEN:

Se alimentaron varios lotes de cerdos con distintas proporciones de afrechillo o torta de lino, comparativamente con un lote testigo con alimentación normal. Otro lote fué alimentado con partes iguales de torta de lino y girasol.

Se observaron los siguientes hechos:

1.º Una proporción de torta de lino superior a un 20 % en la ración, calculada por unidades nutritivas para los diversos pesos permitió verificar modificaciones profundas en el estado nutricional de los animales. Principalmente del punto de vista de las grasas, reveladas por: cambios en los caracteres físicos y en los caracteres físico-químicos.

2.º No obstante la elevada proporción de principios cianogenéticos del lino ingerido (linamarina) no se observaron fenómenos de intoxicación aparentes. Se comprobó un elevado nivel de sulfocianuros en la sangre y su eliminación por la orina en cantidades proporcionales al tóxico ingerido, calculado por el lino suministrado.

3.º No se verificaron las alteraciones del mismo orden del tejido adiposo de los cerdos decomisados en frigorífico, que habían tenido esa alimentación; ignoramos si para llegar a un grado tal de alteraciones será imprescindible la intervención de factores no tomados en cuenta en la experiencia, si además de la alta proporción de afrecho de lino en la alimentación se exigirá un tiempo más prolongado de ese régimen alimenticio.

NOTA

El presente trabajo fué iniciado en Setiembre de 1943 y su duración fué de un año.

La enfermedad y deceso del Dr. Rubino postergó su publicación hasta el presente, aunque la redacción del mismo quedó terminada en Setiembre de 1944.

SOBRE EL COLESTEROL EN LOS OVINOS

EN COLABORACION CON EL DR. RODRIGUEZ GARCIA (J. A.) (inédito)

En el presente trabajo nos propusimos determinar la tasa de este elemento en la sangre de ovinos normales, durante un período de un año, a fin de establecer sus variaciones fisiológicas.

La experiencia la realizamos sobre dos lotes de ovinos de raza Corriedale, compuestos cada uno de cinco animales.

Uno de los lotes estaba constituído por ovejas de cuatro años tatuadas con los siguientes números: 978 - 979 - 980 - 981 - 982.

El otro lote comprendía cinco borregos castrados, de un año de edad y tatuados así: 984 - 985 - 986 - 987 - 992.

Estos ovinos, durante el día pastaban libremente en el campo, siendo encerrados durante la noche en galpón.

Las extracciones de sangre se practicaban por punción de la vena yugular, por la mañana y antes de soltarlos al campo y a razón de 4 a 5 veces por mes.

Enseguida de obtenido el suero se efectuaba el dosaje del colesterol, según la técnica de Bloor, bajo las más rigurosas condiciones de uniformidad.

A fin de poder determinar la influencia que podría tener el largo de la lana, procedimos a esquilar en el mes de noviembre, solamente los ovinos Nos. 981 - 982 - 987 y 992, dejando los restantes como testigos.

RESULTADOS

A) Lote de ovejas.

El período de observación se extendió desde el mes de junio de 1942, hasta julio de 1943. Por diversos motivos no pudimos proseguir las determinaciones durante los meses de abril y mayo de 1943.

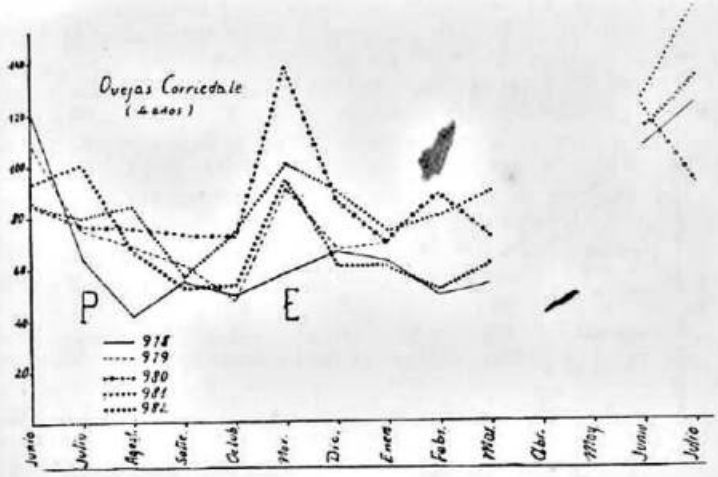
El siguiente cuadro indica los valores máximos, mínimos y medios encontrados en cada animal, así como el número de análisis.

CUADRO 1

Ovejas Nos.	Val. máx. %	Val. mín. %	Val. med. %	N.º de análisis
978	128 mg.	38 mg.	68.7 mg.	42
979	120 "	48 "	78 "	24 (1)
980	180 "	52 "	83 "	45
981	100 "	60 "	88 "	40
982	123 "	38 "	71 "	43

(1) Murió en enero de 1943.

La gráfica que presentamos a continuación resume los valores encontrados en estos animales, en base a los promedios mensuales, (4-5 análisis por mes), durante el período de tiempo anteriormente indicado.



Gráfica 1

En ordenadas miligramos de colesterol por %. — En abscisas meses de la experiencia. — P.- Fecha de las pariciones. — E.- Fecha de la esquila.

B) Lote de borregos.

Fueron observados desde julio de 1942 a julio de 1943.

No se practicaron análisis durante los meses de abril y mayo de 1943.

En el siguiente cuadro se indican los valores máximos, mínimos y medios de cada animal y el número correspondiente de análisis.

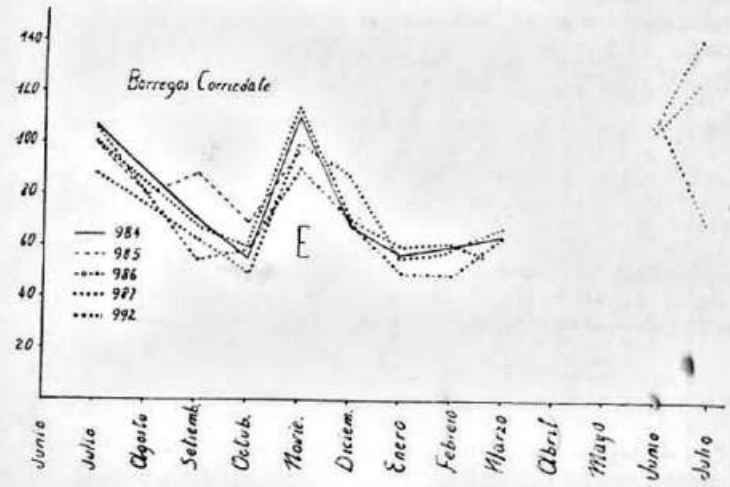
CUADRO 2

Borregos Nos.	Val. máx. %	Val. mín. %	Val. med. %	N.º de deter.
984	131 mg.	51 mg.	68 mg.	38
985	106 "	53 "	82 "	20 (1)
986	106 "	39 "	66 "	35
987	94 "	38 "	73 "	32
992	104 "	34 "	70 "	35

(1) Murió en noviembre de 1942.

La siguiente gráfica, análoga a la anterior, basada en los valores promedios mensuales, da idea de las variaciones del colesterol durante el período de observación.

La letra E indica el momento de la esquila.



Gráfica 2

Según puede verse en ambas gráficas, existe cierta regularidad en la tasa del colesterol relacionada con los períodos del año, en todos los animales observados.

Es posible, de acuerdo con nuestros resultados, establecer dos épocas en el año, en las cuales la colesterolemia alcanza sus valores más altos.

Esos períodos corresponden a los meses de junio-julio y noviembre.

En los restantes meses, los valores encontrados son sensiblemente uniformes y menores.

En lo que respecta al largo de la lana, nuestros estudios no nos permitieron establecer, diferencias entre los animales esquilados y los dejados como testigos, en ambos lotes.

Otro tanto podemos decir en lo relativo al estado de gestación, en nuestro lote de ovejas, especialmente por el número limitado de animales puestos en observación.

CONCLUSIONES

1.º) En 10 ovinos normales de raza Corriedale (machos y hembras), sometidos a las mismas condiciones de vida, la colesterolemia media, determinada durante un período de un año, alcanzó la cifra de 75 mg. por 100.

2.º) Existe cierta regularidad en la curva anual de la colesterolemia, con valores máximos en los meses de junio-julio y noviembre.

ENSAYOS SOBRE NUEVOS TRATAMIENTOS DE LA SARNA DEMODECTICA EN LOS CANINOS

Trabajo del Instituto de Terapéutica y Medicina Experimental. Facultad de Veterinaria
(CON LA COLABORACION DEL DR. JUAN A. RODRIGUEZ GARCIA) (inédito)

Se sabe que la sarna demodéctica del perro, es una afección parasitaria sumamente rebelde a los tratamientos usados habitualmente para combatir otras formas de sarna. Probablemente, esta resistencia se debe a la ubicación del parásito en los folículos pilosos y glándulas sebáceas.

Otro elemento perturbador es la formación de pústulas en algunos casos, en que al elemento parasitario se agrega la infección por un estafilococo, dándole al proceso morboso una mayor resistencia a los tratamientos y una mayor gravedad a la evolución.

Fundados en estas consideraciones fuimos inducidos a ensayar algunos tratamientos tomando como base, por una parte, la utilización de sustancias de acción parasiticida intensa y por otra, de antivirus para combatir la infección concomitante.

Como sustancia parasiticida, se eligió la bencina de petróleo y como elemento anti-infeccioso un antivirus contra estafilococo, preparado según la técnica de Besredka y concentrado al décimo de su volumen, incorporados esos elementos a lanolina, vaselina y aceite vegetal. Además creolina para incorporar y mantener en la pomada la bencina de petróleo.

Posteriormente, en los casos en que había seguridad de no existir infección se prescindió del antivirus, en la preparación de la pomada.

Por otra parte, se intentó el uso de pomadas cáusticas, a base de biioduro de mercurio, al 12.5 %, con el fin, podríamos decir, de hacer más accesibles los ácaros a los parasiticidas.

A continuación se expresan las diversas formas medicamentosas utilizadas.

POMADA DE ENSAYO

Fórmula A		*Fórmula B*	
Creolina	10 c.c.	Antivirus al 1/10	40 c.c.
Bencina	10 "	Creolina	10 "
Lanolina	50 gr.	Bencina de petróleo	10 "
Vaselina	30 "	Lanolina	50 gr.
Aceite de almendras.....	20 c.c.	Vaselina	40 "
		Aceite vegetal	10 "

POMADA CAUSTICA

Biioduro de mercurio	12.5	gr.
Axonge c. s. p.	100	"
Alcohol-éter (partes iguales)		

MODUS OPERANDIS

Las unciones de pomada fueron precedidas por corte de pelo en la periferia de las placas y "toilet" de las mismas mediante alcohol-éter, aplicado con algodón, friccionando enérgicamente a fin de desembarazarlas de restos epidérmicos.

La pomada curativa se extendió en las partes afectadas mediante fricciones prolongadas con una torunda de algodón, hasta desaparición del exceso.

En los casos en que el proceso parasitario era generalizado, se trató por regiones progresivamente, a fin de evitar la absorción masiva de los principios medicamentosos.

La frecuencia de las aplicaciones varió de acuerdo con la gravedad de las lesiones, como puede verse en la casuística adjunta.

La pomada cáustica fué aplicada en la misma forma, vale decir, con una torunda de algodón, friccionando unos 10 minutos y dejando actuar 24 horas.

En esas condiciones, provoca eritema seguido de abundante descamación que desaparece prontamente.

Como adyuvante del tratamiento, instituímos baños profilácticos tibios al 3 % de una mezcla a partes iguales de creolina y bencina, con objeto de eliminar los ácaros diseminados superficialmente por el rascado, y que podría dar lugar a nuevas localizaciones.

Debemos hacer notar que los animales en tratamiento permanecieron en jaulas independientes, las cuales eran diariamente lavadas con creolina y las camas de paja se renovaban cada 24 horas.

CASUISTICA

Para ordenar la exposición describiremos en primer lugar los resultados obtenidos con el solo empleo de pomada antivirus, y en segundo lugar los obtenidos mediante esta pomada precedida de cáustico.

A) Casos tratados exclusivamente con pomada de antivirus

Caso N.º 1. Canino macho, común. Edad: 7 meses.

Regiones afectadas: presentaba una placa circular de 3 cms. de diámetro en la frente y otra de 5 cms. de diámetro en la parte lateral del tórax, cerca de la axila.

Forma en que se efectuó el tratamiento: empleamos pomada fórmula B durante un período de dos meses, con aplicaciones trisemanales.

Al cabo de ese tiempo estaba completamente curado, con ausencia total de pemodex en los raspajes.

A los 15 días, es traído nuevamente, por la aparición de una placa de sarna demodéctica en la frente.

Se reinició el tratamiento en las mismas condiciones anteriores, curando definitivamente en dos semanas.

Caso N.º 2. Canino Foxterrier. Macho. Edad: 10 meses.

Fué presentado en Policlín as el 12 de febrero de 1940, quedando registrado con el N.º 680.

Regiones afectadas: se observaba una placa en la región infraorbitaria derecha y otra a la altura del codo, lado interno, del miembro anterior izquierdo. Ambas de un diámetro de unos 3 cms., contenían gran cantidad de ácaros.

Se trató diariamente durante una quincena. En ese interín, intercaláronse algunos baños generales profilácticos de creolina bencinada al 3 %.

En estas condiciones, se obtuvo la cura radical y definitiva del paciente.

Caso N.º 3. Canino Hembra. Mestizo Pomerania. Edad: 2 meses. Registrado en Policlínica con el N.º 1413.

Lesiones: una placa depilada, con piel espesada y costrosa que ocupaba la frente y alrededor de los ojos. En la región torácica inferior existía una zona depilada de 4 cms. de diámetro. (Foto 1).

Los raspajes procedentes de dichas zonas manifestaban la presencia de Demodex.

Se inició el tratamiento el 2 de abril con pomada fórmula B. Se hicieron aplicaciones diarias hasta el día 8 de dicho mes, intercalando baños de creolina bencinada. No se comprueban parásitos en los raspajes efectuados cotidianamente del 8 al 15 de abril.

En ese momento, se observaron depilaciones en las caras internas de los cuatro miembros, desde las babillas y codos hasta los dedos. En los raspajes de esas lesiones se comprobaron Demodex.

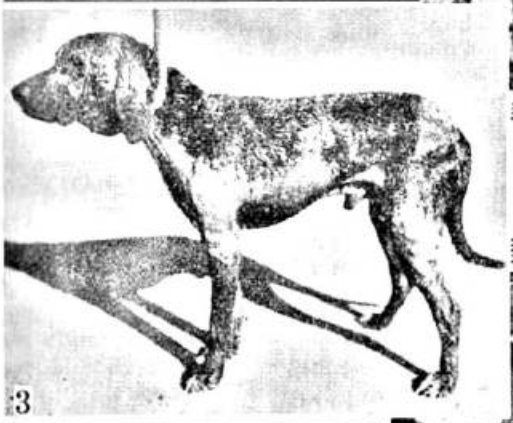
Se reinició el tratamiento hasta los primeros días de mayo, fecha en que pudo apreciarse una sensible mejoría, manifestada por crecimiento de nuevo pelo en la frente y regresión de las lesiones de los miembros.

El día 13 del mismo mes, practicóse una cura minuciosa de todas las partes afectadas. Se repitió el día 20 la aplicación.

En la frente no quedaron rastros de la antigua depilación, pero alrededor de los ojos comprobose una reiniciación del proceso parasitario.


1


2


3


4

En vista de ello se repitieron las aplicaciones de pomada, fórmula B, cada 4 días, hasta principios de julio. En el interín adminístrose baños de creolina bencinada.

A mediados de ese mes verificóse la curación completa del animal.

Caso N.º 4. Canino común. Edad: 10 meses. N.º de registro en Policlínicas, 230.

Localizaciones: Se comprobaron placas de unos 2 cms. de diámetro en el labio superior y en la parte anterior de ambas articulaciones carpianas.

Tipo de lesiones: Placas depiladas con gran descamación. Los raspajes correspondientes a estas lesiones contenían numerosos Demodex.

Tratamiento: Se efectuó a base de pomada fórmula A, en aplicaciones diarias. A los 15 días, las lesiones de los miembros progresaron, llegando hasta las partes superiores de los mismos. Al cabo de un mes de tratamiento, curó la lesión del labio superior, pero comprobamos pequeñas depilaciones en el miembro posterior derecho a la altura del tarso, las cuales desaparecieron con unas pocas aplicaciones de pomada.

Las lesiones de los miembros anteriores fueron particularmente rebeldes, tardando unos 4 meses en curar.

En los últimos 3 meses que duró el tratamiento, efectuamos aplicaciones trisemanales de pomada. Cada 4 días administramos baños de creolina bencinada al 2 %.

A pesar de los múltiples raspajes efectuados sobre las zonas anteriormente parasitadas, no fué posible encontrar Demodex, por lo cual dimos por terminadas las aplicaciones.

Caso N.º 5. Canino, cruza Pomerania. Edad: 5 meses.

Al ingresar a la Clínica, presentaba depilaciones en las siguientes regiones: cabeza, cuello, parte anterior del pecho y extremidades distales de los miembros. (Foto 2).

Los raspajes resultaron ricos en Demodex.

El dia 6 de junio de 1941 se inició el tratamiento, prolongándose hasta el mes de octubre. En junio y julio se trató intensamente, pero en los meses sucesivos las aplicaciones fueron esporádicas.

A principios de setiembre conservaba solamente una zona depilada en el cuello, escasamente parasitada. Después de cuatro unciones más de pomada en dicho lugar, la lesión se encaminó rápidamente hacia la curación.

Mantuvimos este caso en observación hasta el mes de noviembre en previsión de alguna recidiva.

Caso N.º 6. Canino de raza Danesa (blanco). Edad: 10 meses. Registrado en Clínica con el N.º 405.

Este animal que ofrecía un aspecto bastante bueno, presentaba depilaciones más o menos circulares que variaban entre 1 y 3 cms. de diámetro en las regiones que detallaremos a continuación: frente, alrededor de las narinas, labio inferior, cara inferior del cuello, cara externa del antebrazo izquierdo, cara externa del miembro posterior izquierdo, miembro posterior derecho (cara externa), región costal, a la altura de las últimas costillas, región cervical superior, al nivel del hipocondrio derecho y en la oreja derecha.

En el tratamiento de este sujeto, utilizamos pomada fórmula B, efectuando aplicaciones diarias en todas las regiones arriba indicadas a partir del día 10 de febrero de 1941.

Baños de creolina bencinada fueron administrados cada 4 días, en la proporción del 2-3 %.

La curación de las lesiones se produjo rápidamente, puesto que desde el 22 del mismo mes siempre obtuvimos raspajes negativos en cuanto a la presencia de Demodex, habiendo crecido nuevamente el pelo en las partes anteriormente depiladas.

Como medida de precaución continuamos con las curaciones hasta fines de febrero, dando luego por terminado el tratamiento.

Caso N.º 7. Canino común, de pelo corto. Edad: 1 año.

Ingresó a la Clínica el 20 de abril de 1940.

Fué uno de los casos más interesantes de los tratados por nosotros, pues ofrecía el cuadro típico de la sarna Demodéctica generalizada y pustulosa.

Presentación del caso. — Estado general: podía considerarse como bueno, en lo que respecta a engorde, apetito y jovialidad.

Partes afectadas: cabeza, cuello, miembros y partes látero-inferiores del tronco.

Tipo de lesiones: en las partes afectadas, la piel se encontraba depilada y eritematosa, de color rojo vinoso. Donde habitualmente es lasa, estaba notablemente espesada (cuello).

Pústulas: se encontraban distribuídas en todas las zonas parasitadas. La disposición era aplanada, de un diámetro de tres milímetros aproximadamente. Se deprimían fácilmente al presionarlas, sin que estallara su contenido, el que por otra parte, no se evidenciaba claramente al exterior.

Al lado de estas pústulas que eran de color amarillento, existían otras de color rojo obscuro, atribuíble a las hemorragias causadas por el rascado.

En el contenido de las pústulas observamos abundantes ácaros en diversos estados evolutivos.

Extirpamos pústulas de los tipos arriba descritos, con el fin de estudiarlas histológicamente, con el resultado que se consigna a continuación.

Pústulas amarillas. — Degeneración hialina del conjuntivo; lesión traumática con hundimiento del epitelio.

Pústulas rojas. — Proceso inflamatorio agudo; hemorragia intersticial; pequeños abscesos subdérmicos cerrados; solución de continuidad hemorrágica en la piel.

También efectuamos cultivos del contenido de las pústulas, tomado asépticamente, obteniendo al estado puro un estafilococo, que se manifestó poco patógeno en las pruebas a que fué sometido.

Tratamiento. — Dada la gravedad del caso se trató en su totalidad, con pomada fórmula B, previa "toillet" con alcohol-éter los días 20-23 y 25 de abril. El día 25 de abril se notó una mejoría de las lesiones; había signos de cicatrización de algunas pústulas. Otras se encontraban más deprimidas y secas. El día 13 de mayo comprobamos una agravación notable del proceso; se necrosaron vastas zonas de la piel, la cual sangraba fácil y abundantemente.

Creímos interesante verificar la distinta actividad de las dos fórmulas de pomadas, es decir, con y sin antivirus. Se probó la pomada con antivirus en la mitad lateral derecha del vientre y caras internas de los muslos y partes distales de los miembros del mismo lado. Estas regiones, pero del lado izquierdo, se trataron con pomadas sin antivirus, es decir, la fórmula A. No se logró mejoría en ningún caso. Se resolvió seguir la curación con la fórmula B, aplicándola cada dos días.

En vista del mal estado general del paciente, se siguió un tratamiento diario con cacodilato de sodio (0 gr. 02, por vía subcutánea).

A pesar de todo, el paciente siguió agravándose y murió completamente caquéctico, con supuraciones y hemorragias cutáneas profusas, el día 10 de junio.

Caso N.º 8. Canino, raza Basset. Edad: 1 año. Color marrón.

En el momento de iniciarse el tratamiento presentaba una forma generalizada de sarna demodéctica, asumiendo la forma pustulosa.

Los miembros y cuello ofrecían un aspecto elefantiásico, supurando y sangrando a la menor presión.

Según los datos que nos fueron facilitados por el Dr. M. Espantoso, el proceso se habría iniciado unos seis meses atrás.

Teniendo en cuenta la gravedad de la supuración cutánea, creímos oportuno administrar una auto-vacuna, a partir de un estafilococo obtenido puro, procedente del contenido de una pústula cerrada.

El estado general del paciente no ofrecía muchas esperanzas de que pudiera sobrevivir algún tiempo. A pesar de todo empezamos el tratamiento el día 16 de enero de 1941, utilizando pomada A.

El siguiente cuadro ilustra en lo relacionado con las curaciones, baños e inoculaciones de auto-vacuna.

Día	Partes tratadas	Baños	Auto-vacuna
16	Cab. y miembro ant. izq.	Creol.-benc. 1 %	
17	Cab. y miembro ant. der.		
18	Cuello y miembros posteriores		
20	Dorso y vientre	Creol.-benc. 1 %	
21	Cab. y miembro ant. izq.		
22	Cuello y miembros posteriores		
23	Cab. y miembro ant. der.	Creol.-benc. 1 %	0c.c.25 (subcut).

El día 24 del mismo mes, falleció sin que pudiéramos notar alguna mejoría.

Caso N.º 9. Canino Perdiguero. Sexo macho. Edad: 2 años. Registrado en Clínica con el N.º 2305.

Presentaba una forma generalizada, con grandes zonas depiladas. Estado general malo. (Foto 3).

Se empezó a tratar el día 26 de junio de 1941. Durante los meses de junio y julio curose casi diariamente, en forma parcial, para evitar la intoxicación por absorción masiva de principios medicamentosos.

Cada 4 días bañamos al paciente con solución de creolina bencinada al 2 %.

A pesar del tratamiento, no se percibió ninguna mejoría. En agosto se aplicó pomada solamente los días 10 y 12. El animal estaba materialmente cubierto de pústulas y completamente depilado.

Para levantar el estado general, administramos una serie de 10 inyecciones de 0.5 c.c. de cacodilato sódico al 10 %.

A principios de setiembre el proceso tendió a agravarse más aún, aumentando la supuración. Creímos conveniente administrar sulfatiazol (Sulfazol), suministrando el primer día 2 grs. (mañana y tarde). El segundo día 2 grs. (0.5 gr. cada 4 horas); tercero y cuarto días, 1.5 gr.; quinto día, 2 grs. y sexto día, 1 gr.

El resultado obtenido con esta medicación fué apenas discreto. En octubre resolvimos intensificar la aplicación de pomada, haciéndolo diariamente y en todo el cuerpo a la vez. A mediados de dicho mes, se hizo aparente una neta mejoría, manifestada por la desaparición de muchas pústulas y un crecimiento general de pelo. Es de notar que en cuanto dejamos de tratar con la pomada el proceso

se agravaba. Las curaciones correspondientes a octubre se realizaron con pomada A.

En estas condiciones se prolongó el tratamiento hasta mediados de noviembre, con una acentuada mejoría. Inesperadamente el paciente falleció, encontrándose a la autopsia, como única alteración visible, una enorme meteorización gástrica.

B) Casos tratados con nuestra pomada, precedida por una aplicación de cáustico

En un cierto número de casos que se manifestaron extremadamente rebeldes al tratamiento usual, al punto de haberlos considerado incurables, procedimos al empleo de una pomada de biioduro de mercurio al 12.5 % con el objeto de obtener una más favorable acción de contacto entre los ácaros y las sustancias parasiticidas de nuestra pomada.

Ya nos hemos referido a los efectos provocados por dicha pomada cáustica, por lo cual, pasamos a exponer la marcha del tratamiento en esos casos.

Caso N.º 10. Se trataba de un perro perteneciente al Servicio de Clínicas, registrado con el N.º 5490.

Este animal presentaba una dermatosis generalizada, característica de las causadas por la Sarna Demodéctica.

Prácticamente toda la piel se encontraba afectada.

Clínicamente las lesiones consistían en depilaciones, eritema intenso y prurito que llevaba al animal a rascarse, provocando así, escoriaciones en diversas regiones.

En la frente comprobamos dos placas depiladas, muy costrosas, producidas por hongos (Dermatofitos), cuya especie no determinamos, pero que curaron pronto por aplicación de tintura de iodo.

Los raspajes que efectuamos, correspondiente a varias regiones cutáneas, resultaron altamente positivos, encontrándose los ácaros en todas las faces de su evolución.

Es de hacer notar, que a pesar de la intensidad de la parasitosis, el estado general del paciente era bastante bueno: bien nutrido, con buen apetito y alegre.

Comenzamos el tratamiento el 21 de noviembre de 1939, aplicando alcohol-éter para hacer la "toilet" y luego, pomada fórmula B.

Seguimos curando diariamente en forma progresiva, por regiones; primero cabeza, después los miembros anteriores, los posteriores, y por último el tronco.

Después de la primera aplicación de pomada, los raspajes siguieron siendo positivos. Del 6 al 11 de diciembre suspendimos las aplicaciones por falta de aquella.

A mediados de este mes, el proceso había progresado considerablemente; la piel se encontraba completamente depilada, y sembrada de pústulas y escoriaciones por el rascado.

Fué en ese momento que decidimos aplicar la pomada cáustica, en la cara interna de un miembro anterior, la que fué seguida a las 24 horas por la pomada fórmula B. Este mismo tratamiento fué instituído en otras zonas parasitadas, pero momentaneamente con poco éxito, pues los raspajes siguieron acusando Demodex.

El animal no se trató en los meses de enero y febrero del año siguiente.

A principios de marzo se notó una sensible mejoría en el estado de la piel pues en varias regiones que anteriormente estaban completamente depiladas, se pudo comprobar el crecimiento de pelo nuevo.

A mediados de ese mes recomenzamos el tratamiento, practicando aplicaciones diarias de pomada fórmula B y administrando cada cuatro días, baños de creolina bencinada al 3 %.

En los meses siguientes se espaciaron las curaciones. En abril se encontraba muy mejorado, como puede verse en la fotografía 4.

A fines de julio este animal curó completamente, dándose por terminado el tratamiento.

Caso N.º 11. Canino mestizo Foxterrier. Edad: 3 meses.

Remitido por el Dr. M. Cagnoli. Registrado en Clínica con el N.º 5456.

Este animal presentaba una lesión localizada en la región frontal y otra en la región rotuliana de uno de los miembros posteriores.

Efectuamos raspajes de estas zonas afectadas, verificando la presencia de gran cantidad de Demodex.

El 30 de noviembre de 1939 empezamos el tratamiento a base de pomada B en forma diaria, hasta el 6 de diciembre.

En ese entonces se comprobó una diseminación del proceso, especialmente en las caras internas de los miembros.

El día 12 del mismo mes se aplicó cáustico en las lesiones frontales y las 24 horas pomada B.

La misma operación se practicó en las restantes zonas al día siguiente.

A partir de entonces los raspajes acusaron ausencia o escasísima cantidad de parásitos. En enero del año siguiente, los mismos resultaron definitivamente negativos.

En marzo, el animal se encontraba clínica y microscópicamente libre de sarna demodéctica.

Caso N.º 12. Canino de raza Pomerania, color negro. Edad: 8 meses.

Registrado en Clínica con el N.º 5427.

Localizaciones: Depilaciones, acompañadas de descamación en la cabeza, cuello, tórax y miembros. Presencia de ácaros en los raspajes.

Se inició el tratamiento el 1.º de diciembre, a base de aplicaciones diarias de pomada B, prolongándose una quincena.

Al cabo de ese tiempo se comprobaron nuevas localizaciones, donde abundaban Demodex, por lo cual decidimos tratar previamente las partes afectadas con cáustico.

Con objeto de establecer el valor relativo de ambos procedimientos, aplicamos cáustico solamente en la cabeza y en un miembro posterior, tratando solamente con pomada B las demás regiones atacadas.

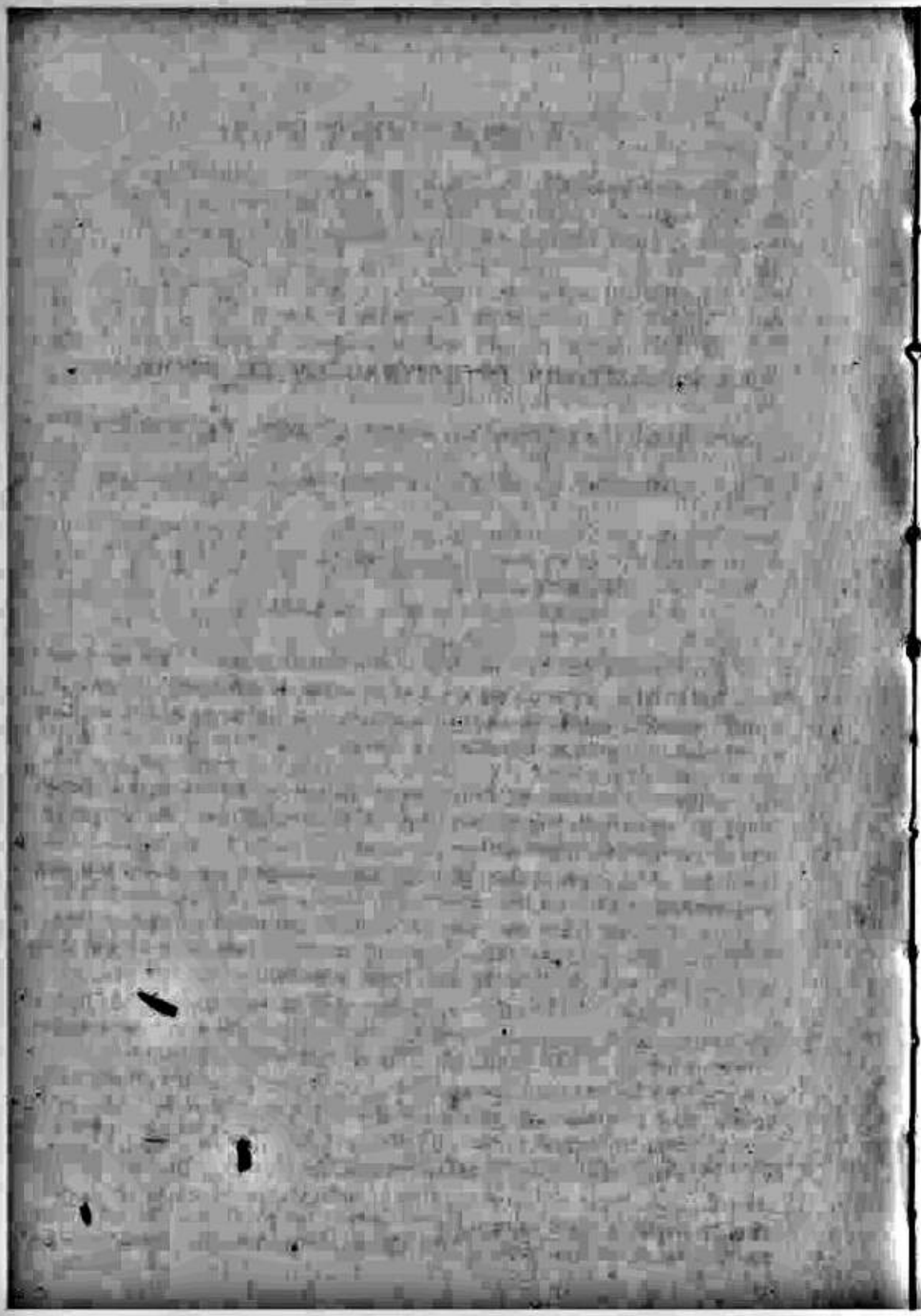
Por diversas causas nos desentendimos de este caso, hasta que a comienzos de marzo nos sorprendimos al comprobar que el animal estaba completamente curado.

CONCLUSIONES

1.º Algunos casos de sarna demodéctica sin complicación pustulosa y con distinto grado de extensión, curaron de modo radical con el solo empleo de pomada antivirus.

2.º Otros casos, que no obedecieron al tratamiento de pomada solamente, fueron influenciados favorablemente por la aplicación previa de pomada cáustica.

3.º Las formas graves pustulosas, no obedecieron a ningún tratamiento.



LA PARASITOSIS INTESTINAL EN EL URUGUAY

SUS RELACIONES CON DIVERSOS ESTADOS PATOLOGICOS

EN COLABORACION CON LOS DRES. PASCUAL RUBINO, BENIGNO VARELA FUENTES, JULIO MOREAU Y LUIS J. MURGUIA

CAPITULO I

CONSIDERACIONES GENERALES

En nuestra práctica médica diaria, los fracasos de las terapéuticas habituales, para corregir los trastornos de un buen número de nuestros enfermos del aparato digestivo, nos llevaron a intensificar el estudio microscópico, químico y bacteriológico de las heces, esperando obtener por esta vía, nuevos datos que nos permitieran orientar mejor el tratamiento de aquellos enfermos. El resultado inmediato de tales investigaciones, fué el de comprobar con sorpresa, que la parasitosis intestinal entre nosotros, es un hecho mucho más frecuente de lo que hubiéramos podido imaginar, guiados por las nociones corrientes en nuestro medio. Desde entonces, concentramos nuestra atención sobre este problema de la parasitosis intestinal, sospechando que pudiera tener especial interés para aclarar algunos puntos obscuros de nuestra patología regional.

En Junio de este año comunicamos a la Sociedad de Medicina de Montevideo, los resultados de nuestras primeras observaciones que comprendían el estudio de 270 enfermos de los cuales 128, es decir, el 48 %, estaban parasitados, lo que nos permitió afirmar entonces, que la *entozoosis intestinal debía ser considerada, entre nosotros, como un hecho clínico de frecuencia extraordinaria.* (1)

Las investigaciones posteriores que abarcan el segundo semestre de este año, han venido a confirmar, ampliamente, estas conclusiones, permitiéndonos reunir hasta ahora, un total de 296 casos de parasitosis intestinal, sobre 700 enfermos estudiados. En el mismo

sentido hablan los resultados del Dr. J. F. *González* (2), comunicados posteriormente al Congreso Sud Americano de Patología e Higiene reunido en Buenos Aires, en Julio último, en el que también nosotros volvimos a insistir sobre el mismo punto. — Serán necesarios estudios muy prolijos para poner en claro el motivo de esta enorme frecuencia de la parasitosis intestinal en nuestro país; estudios que permitirán además delinear la conducta a seguirse, para evitar la trasmisión de este tipo de infecciones. Algunos hechos aislados nos permiten entrever desde ahora, la importancia de dos grandes factores: en primer lugar, las condiciones higiénicas defectuosas del agua de bebida, especialmente en nuestro medio rural; y en segundo término, la convivencia en condiciones poco higiénicas con los animales domésticos, posibles intermediarios del contagio.

Con respecto al primer factor recordaremos, que si bien los conocimientos actuales sobre el mecanismo de la infección intestinal por los protozoarios son todavía incompletos, se tiende a aceptar que la penetración de estos gérmenes en el tubo digestivo, se hace sobre todo, por intermedio de las aguas contaminadas o de los alimentos que han estado previamente en contacto con dichas aguas.

Se trata de un problema semejante al de la infección tífica, que está felizmente, en vía de ser solucionado favorablemente, en las poblaciones urbanas del interior del país.

Sospechamos la importancia entre nosotros, de este mecanismo de infección, desde que conocemos casos interesantes de familias parasitadas integralmente. Tal el caso de una familia del departamento de Cerro Largo, en la que la gran mayoría de sus miembros padecen de colitis, habiendo ya, 4 operados de crisis apendiculares agudas. La investigación de las heces practicadas en 6 miembros de esta familia, demostró que todos ellos estaban parasitados por la *Lamblia intestinalis*. Hace algunos años, se sospechó que el aljibe de la casa no estaba en buenas condiciones, haciéndose analizar una muestra del agua; el resultado del análisis fué tan desfavorable, que se resolvió vaciar de inmediato el aljibe, encontrándose en su fondo un sedimento espeso, de carácter fecaloideo, comprobándose entonces, que había amplia comunicación por una gran fisura, con el pozo negro cercano. En tales casos se comprende que basta que haya un miembro de la familia parasitado por protozoarios, para que estos infecten secundariamente a todos los demás componentes de la misma.

La importancia del segundo factor de contagio aparece, por algunos ejemplos que ya conocemos. Recordamos aquí el intere-

sante estudio del *Dr. J. F. González* sobre un caso de trasmisión de la Lambliasis por intermedio de un gato parasitado. Nos ha sorprendido a nosotros además, la frecuencia de la protozoosis intestinal en algunos gatos, perros y ratas que pudimo estudiar, habiendo encontrado en el intestino de una rata una amiba, forma vegetativa, de caracteres muy semejantes a los de la *Entameba histolítica* del hombre. Estos hechos aislados, bastan para plantear la necesidad de un estudio prolijo del asunto en nuestro medio.

Esta notable frecuencia de la parasitosis intestinal en nuestro país, debe necesariamente, llamar nuestra atención y nos obliga a preguntarnos, si realmente estos parásitos no ejercen ninguna influencia sobre los estados patológicos digestivos. El juicio exacto sobre la importancia que pueden tener en nuestros enfermos y sobre la participación que les corresponde en la génesis de las modalidades especiales de nuestra patología regional, solo podrá ser establecido mediante una observación clínica prolongada.

Hasta hace algunos años los protozoarios intestinales eran considerados, simplemente, como comensales inofensivos para el organismo humano. Basta recordar las dificultades que tuvieron los protozoólogos ingleses y alemanes para imponer la noción del rol causal de la Entameba histolítica de *Schaudinn* en la producción de la disentéria de los países tropicales. Es el gran mérito de los trabajos de *Dessy* y *Marota* (3) en la Argentina, y de *Ricaldoni* y *Berta* (4) en el Uruguay, corroborados por *Gaminara* (5) en 1918, el haber demostrado que la misma Entameba histolítica era, entre nosotros, causa temible de colitis disentéricas, cuya etiología habia sido hasta entonces completamente ignorada. Pero al lado de este protozoario se han reconocido otros, cuyas características han sido bien precisadas por los protozoólogos, ante los cuales la Clínica ha permanecido largo tiempo indiferente, por creerlos inofensivos para el huésped. Nos referimos a las Tricomonas hominis, Chilomastix Mesnilii, Entameba coli, Endolimax nana, Blastocystis hominis (1) Lamblia intestinalis, y mismo las formas minutas de *Hartmann* de la Entameba histolítica, que se encuentran fuera de las crisis de colitis aguda disentérica, en los llamados portadores de amibas. En los últimos años esta noción de inocuidad de los protozoarios mencionados ha sido motivo de serias dudas.

Para las Tricomonas son bien conocidos los estudios de *Escomel* (6) en el Perú, demostrando su rol patógeno. Para las Lam-

(1) El Blastocystis hominis es probablemente un hongo. Se incluye en esta lista, por tener significación clínica análoga a la de los protozoarios mencionados.

blias, ya se acepta corrientemente un rol etiológico de primera importancia en la sintomatología intestinal y hepática de muchos enfermos, desde los trabajos de *Castex* y *Galán* (7) en Buenos Aires, de *Deschiens* (8) en Francia, de *Carr y Chandler* (9) en Estados Unidos, corroborados por *Labbé* y asociados (10), recientemente aparecido, y por las observaciones de *Carrére* (11), entre nosotros.

Son sumamente interesantes las constataciones anatomo-patológicas de *Wenyon* (12) en Londres, demostrando en cortes histológicos la penetración hasta la submucosa del intestino grueso, del Tricomonas hominis y del Chilomastix Mesnilii. El Blastocystis hominis ha sido aceptado como agente patógeno por *Jakimof* y *Wassilewsky* (13) en las colitis agudas disentériformes en Petrogrado; por *Beaurepaire de Aragao* (14) en Río Janeiro y por *Mazza* (15) en 1922 y *Castex* (16) en 1925 en la Argentina.

Es evidente que la tendencia se acentúa cada vez más, en el sentido de atribuir una importancia patógena a los parásitos intestinales. Los trabajos recientes de *Castex* y *Greenway* (17) en Buenos Aires, y de *Boech* y *Stiles* (18) en Estados Unidos, hacen una revisión general de este asunto, estimando que es necesaria una observación clínica acumulada y prolija, con el estudio sistemático de las heces y con una apreciación justa de los resultados obtenidos con el tratamiento antiparasitario para poder llegar a construir un criterio firme sobre el valor patógeno de estas especies.

En primer lugar, concebimos muy bien que estos protozoarios sean perfectamente tolerados por muchas personas. Es un caso especial de la Patología general de los procesos infecciosos. Basta recordar por ejemp.: los casos tan numerosos de los portadores del bacilus diftérico o del bacilus de Eberth en las heces, en el curso de una epidemia, que no experimentan la menor molestia por la presencia de estas bacterias en pleno período de virulencia, capaces en cambio, de trasmitir la enfermedad a las personas que los rodean. En el terreno de la parasitosis, el mismo problema existe p. ej.: para el anquilostoma duodenalis, que infecta sin producir molestias especiales a un 50 % de la población de algunas provincias del norte argentino, pero que en determinadas personas acarrea la muerte produciendo la anemia típica de estos parásitos.

Hay aquí todavía un problema más complejo: ¿cuánto tiempo necesita un protozoario, p. ej., la Lamblia intestinal, para llegar a producir la colitis y los accidentes hepáticos serios de la Lambliasis intestinal?

Las historias de muchos de nuestros enfermos, nos impresionan en el sentido de que la protozoosis intestinal obra muy lentamente

para producir trastornos en el organismo del portador. Tal el caso (observación Núm. 689) de un abogado con una psicastenia grave, tratada infructuosamente por todos los métodos clásicos y que desapareció completamente, después del tratamiento de la amibiasis intestinal de nuestro enfermo. Aquí pudimos precisar que la amibiasis aguda había sido constatada hacía 10 años, tratada entonces al parecer con éxito y hasta olvidada por el enfermo. La presencia actual, con gran abundancia, de las formas vegetativas de la Entameba histolítica, sin ningún trastorno intestinal aparente, demuestra que la amibiasis no había sido curada y había pasado a un estado latente durante años, con perfecta tolerancia por parte del tubo digestivo, pero con repercusión tardía sobre el sistema nervioso del enfermo.

La presencia de protozoarios en el intestino, sin trastornos actuales, visibles, no quiere decir pues, que el parásito en cuestión, deba ser considerado simplemente como un elemento inofensivo para el portador. Es el mismo problema que se plantería p. ej., con respecto a un protozoario bien conocido: el espiroquete de la Sífilis.

Desde el punto de vista estrictamente científico, afirmar la relación de causa a efecto entre la presencia de un parásito en el tubo intestinal del hombre, y determinados estados patológicos, es todavía más difícil. Solo la observación clínica acumulada, podrá demostrar la presencia de ciertas perturbaciones funcionales u orgánicas frente a tal parásito, y que la supresión de este último por el tratamiento, arrastra la desaparición simultánea de tales trastornos. Pero mientras esta demostración no llega, nuestro rol de médicos nos obliga a tener en cuenta tal posibilidad, dejando librado al porvenir la solución definitiva del problema del poder patógeno de muchos de ellos. En todo caso, una observación sistematizada de los signos clínicos y una selección cuidadosa de los medios terapéuticos para apreciar el resultado de los tratamientos instituídos, no harán sino aportar nuevos elementos de juicio.

FRECUENCIA RELATIVA DE LOS DISTINTOS PARASITOS

Resumimos aquí el resultado del análisis de 2.028 muestras de materias fecales, correspondientes a 756 enfermos diferentes.

Se encontraron parásitos en 296 enfermos, es decir, en 39 % de los casos estudiados.

En la Tabla que sigue, se indica la distribución de los distintos parásitos encontrados.

DISTRIBUCION DE LOS DISTINTOS PARASITOS EN LOS 296 ENFERMOS ESTUDIADOS

Se encontraron Protozoarios en 259 casos (88 %)

Especie	PARASITOS	Número de casos	Porcentaje del total
Una sola especie en 202 casos	Entameba Histolítica	49	16.5 %
	Lamblia Intestinalis	30	10.1 "
	Chilomastix Mesnilii	18	6.1 "
	Tricomonas Hominis	14	4.7 "
	Endolimax nana	22	7.4 "
	Entameba Coli	34	11.4 "
	Blastocistis Hominis	29	9.7 "
	Flagelados indeterminados	5	1.6 "
	Coccidias	1	0.3 "
Dos especies distintas en 53 casos	Ent. Histolítica - Lamblias	2	0.6 %
	" " - Chilomastix ..	4	1.3 "
	" " - Tricomonas ..	2	0.6 "
	" " - Blastocistis ..	2	0.6 "
	" " - Entameba Coli.	7	2.3 "
	" " - Endol. Nana ..	4	1.3 "
	Lamblias - Blastocistis	2	0.6 "
	Chilomastix - "	2	0.6 "
	Tricomonas - "	6	2. "
	Entameba Coli - "	6	2. "
	Endol. Nana - "	5	1.6 "
	" " - Lamblias	1	0.3 "
	Tricomonas - Ent. Coli	3	1. "
	" - Chilomastix	5	1.6 "
	Endol. Nana - "	2	0.6 "
3 especies en 3 casos	Tricomonas - Lamblias - Blastocistis	2	0.6 %
	Ent. Histolítica - End. Nana - Blastocistis	1	0.3 "
4 especies en 1 caso	Entameba Histolítica - Endolimax Nana - Blastocistis - Lamblias	1	0.3 %

	Especie	PARASITOS	Número de casos	Porcentaje del total
Helmintos en 31 casos (10 %)	Una sola especie en 30 casos	Tenia Suginata	2	0.6 %
		Himenolepis Nana	3	1. "
		Tricocephalo Trichiurus	15	5. "
		Anquilostoma Duodenalis	1	0.3 "
		Ascaris Lumbricoides	3	1. "
		Oxiurus Vermicularis	3	1. "
		Anguilula Estercoralis	3	1. "
	Varias esp.: 1 caso	Ascaris Lumbricoides - Anquilostoma - Tricocefalo Triquiurus	1	0.3 %
Protozoarios y Helmintos en 6 casos (10 %)		Himenolepis Nana - Endolimax Nana	1	0.3 %
		Tricocefalo Trichiurus - End. Nana.	2	0.6 "
		" " - Blastocistis	3	1. "

Se nota el predominio notable de los protozoarios, que fueron encontrados en 88 % de los casos parasitados. De los diversos protozoarios, la proporción mayor corresponde a la Entameba histolítica; siguen la Entameba Coli y la Lamblia intestinalis.

Son muy frecuentes las asociaciones de dos protozoarios, habiéndonos encontrado con la mayor parte de las asociaciones posibles. En un caso se encontraron cuatro protozoarios diferentes. En la Plancha N.º I aparece un campo microscópico muy ilustrativo, con tres especies diferentes de protozoarios, que da una idea clara de la riqueza posible de las heces en estos organismos.

En lo que se refiere a los helmintos, se nota el predominio neto del Tricocéfalo Trichiurus, cuyos huevos característicos se encontraron en 5 % de los enfermos parasitados. Hacemos notar que nuestra experiencia se refiere al parasitismo de los adultos.

En un caso se encontraron simultáneamente tres helmintos diferentes; esta enferma tenía una anemia grave hipocrómica.

Solo en seis casos encontramos la asociación de protozoarios y helmintos, estos últimos representados habitualmente por el Tricocéfalo Trichiurus.

PARASITOS Y APENDICES

El dolor apendicular o de la fosa ilíaca derecha es uno de los síntomas que con más frecuencia hemos constatado en los parasitados.

Y si, en cierto momento, aun faltando todos los signos del ataque inflamatorio pudo imponerse a nuestro espíritu la idea de una apendicitis crónica, bastaban a disiparla la desaparición del dolor a raíz de un simple tratamiento dietético al cual se unía el de los parásitos, cuando podía ser constatada la presencia de éstos, nos planteamos sin embargo el problema de si los parásitos a cuya presencia atribuímos, cierto rol en esta sintomatología fugaz de la fosa iliaca derecha, podían en un momento dado, llevar su ataque más a fondo y favorecido por condiciones especiales de éxtasis mecánico, etc., determinar una reacción inflamatoria.

La solución de este problema, cuyo interés en la práctica no puede ocultarse, es particularmente difícil. En efecto no basta la presencia del parásito en el órgano enfermo para afirmar su rol de agente causal del mismo modo atribuiríamos ese rol a un microbio determinado en condiciones semejantes.

Si bien es cierto, la tendencia actual, a raíz de las experiencias de *Rossenow*, es la de aceptar el rol del tropismo de ciertos microbios circulantes en el organismo, en la génesis y la localización del proceso apendicular; no por eso queda excluída la posibilidad de que el parásito, pueda en cierto modo provocar la eficiencia de aquel factor, creando el momento decisivo para el ataque inflamatorio, sea por irritación, sea por debilitamiento de la resistencia local a causa de acciones tóxicas.

Lo lógico frente a estas dificultades de discernir la parte que corresponde a cada factor en el determinismo del proceso, es la observación acumulada de los hechos que la clínica pone en nuestras manos, unido a las constataciones de la anatomía patológica y al examen de la flora local del apéndice. El estudio de las heces en el intestino del enfermo puede proporcionar datos importantes pero que no nos ha sido dable utilizar de un modo sistemático, en el presente trabajo, dejamos esto para un desarrollo ulterior del tema.

Clínicamente hemos observado en los parasitados todas las formas imaginables, de ataques apendicular, el simple dolor pasajero, el dolor lento y permanente, con pequeñas exacerbaciones, o con ataques repetidos hasta las formas más intensas de apendicitis aguda. Relativa a la extensión de los dolores a los otros segmentos del tubo digestivo hemos encontrado las localizaciones más varias: dolor del ciego y del colon ascendente en unos casos dolor del colon descendente, o del colon ilíaco en otros.

Prácticamente no nos ha sido dable observar un dolor apendicular de cualquier orden que sea en los parasitados sin que una exploración más extendida no nos revelara en un momento dado, dolores en otros segmentos del tubo digestivo o de sus divertículos, canales biliares, etc.

Bajo este punto de vista el apéndice debe ser considerado no solo anatómicamente sino también bajo el punto de vista patológico como una prolongación del ciego.

Tiene importancia este concepto por lo menos en los parásitos que tiende a explicar las dificultades y la diversidad de diagnósticos si se tiene en cuenta que en determinado período el momento patológico se juega en más de un punto del tractus digestivo, y es necesario un factor local agregado; éxtasis por acodamiento o por insuficiencia de la musculatura o por obstrucción mecánica, para crear en el apéndice las condiciones requeridas de localización inflamatoria, a partir de este instante las causas se suceden independientemente de lo que ocurre en los otros segmentos digestivos, el ataque apendicular está constituído.

Es importante que aun en los casos de apendicitis constituída en sujetos portadores de parásitos, un tratamiento instituído al efecto ha permitido la regresión rápida de los síntomas, tal como no se obtiene con el tratamiento médico habitual.

Esto no debe inducirnos como es natural a postergar el acto operatorio cuando las indicaciones lo exigen sino al contrario a completar el tratamiento quirúrgico con el tratamiento parasitario para asegurar su eficacia desde el punto de vista de la regresión de los síntomas.

Nuestras ideas se acuerdan perfectamente con las del Profesor *Navarro* en cuanto a admitir que en las llamadas apendicitis crónicas la sintomatología del resto del intestino juega un rol por así decirlo preponderante (32).

METODO DE ESTUDIO

Recolección del material: En general, el apéndice recientemente extraído y acondicionado asépticamente era llevado en el acto al Laboratorio —y colocado en caja Petri aséptica— después de hacer las anotaciones sobre las particularidades externas se procedía a las diversas manipulaciones.

1.º *Estudio bacteriológico:* Abertura aséptica por una incisión, se cargaba el ansa normal con el contenido, después se diluía en 10c^3 de caldo, esta dilución servía para las demás siembras en dos distintos medios de cultivos utilizados; los que fueran seleccionados

con las siguientes dos finalidades: a) riqueza relativa de la flora aerobia y anaerobia; b) identificación de las especies sobre la base de los caracteres más salientes. — Para lo primero se utilizaron, además del caldo simple, la placa de Gelosa simple y el tubo Gelosa en profundidad (Veillon). Para lo segundo: placa de Gelosa endo, el caldo lactosado con tubo campana para gases, leche, "petit lait" tornasolado y además los medios especiales para cada caso según la especie microbiana a identificar.

Examen directo Gram - Fontana: Después de las siembras se hacían por lo menos dos frotis; una para colorear al Gram y otra al Fontana; el primero para establecer la relación cuantitativa de los Gram positivos y los Gram negativos, datos estos que para algunos investigadores tienen mucha importancia hasta el punto que han servido de base para clasificar la flora en buena o mala según el predominio de una u otra; el 2.º (Fontana): espiraquetes.

2.º *Estudio parasitológico y citológico:* "Examen en fresco". De un modo sistemático, con este fin se hizo el examen en fresco, diluyendo un ansa del contenido en II o III gotas de suero fisiológico y observando entre lámina y laminilla, está por demás decir la importancia que tiene este examen para la comprobación de parásitos.

Giemsa modificado: para la coloración utilizamos el mismo método por los colorantes Romnowky que hemos descripto en la parte de materias fecales; la importancia de este método es enorme porque permite diferenciar muy bien las células alteradas de los parásitos y además establecer la fórmula citológica en los apéndices inflamados.

3.º *Estudio macroscópico interno:* Una vez hechas las tomas del contenido para las siembras, frotis y demás exámenes, se procedió a la abertura del apéndice para descubrir su cara interna; procediéndose primero al examen del contenido para comprobar la presencia o no de cálculos y cuerpos extraños, para continuar luego por el examen minucioso de la mucosa.

4.º *Estudio histológico:* Para el estudio histológico un pequeño trozo de cada apéndice fué colocado unas veces en formolina al 10 % otros en líquido de Buuin y otros en alcohol a 60º; los primeros para cortes por congelación y el último para la inclusión en parafina. — Como coloración, aporte de algunos ensayos con varios colorantes, la coloración habitual se hizo a la hematoxilina-eosina.

PARASITOLOGIA

Sobre un total de 103 apéndices examinados se encontraron parásitos en 24; ocho casos corresponden a apendicitis aguda sobre un total de 43 enfermos; diez y seis a apendicitis crónica y sujetos normales (apendicectomia de oportunidad) sobre un total de 60 sujetos 20 casos son a protozoarios y 4 a helmintos distribuyéndose así:

Amibas	en	10	casos
Tetramitus	"	6	"
Tricomonas	"	4	"
Lamblias	"	1	"
Blostocytos	"	3	"
Anguilulas	"	2	"
Oxiuros	"	2	"

De los diez casos de Amibas, 4 son de Endolimax nana, uno de Amiba Coli y cinco sin clasificar, — 7 son a infección pura y 3 asociados a otros parásitos (Tetramitus y Blastocytos).

De los seis casos Tetramitus, 2 a infección pura, 2 con Tricomonas, 2 con Emdolimax nana y 1 con Emdolimax y Blastocytos.— De los cuatro casos de Tricomonas, 2 asociados Tetramitus, 1 con Blastocytos y 1 en infección pura. De los tres casos de Blostocytos, 1 en infección pura, 1 con Tricomonas y el otro con Tetramitus y Emdolimax nana. — Los cuatro casos de helmintos fueron a infección pura.

No se puede establecer ninguna relación entre determinados parásitos y el estado apendicular agudo, crónico o normal.

RESUMEN DE LOS PROTOCOLOS

1. P. S. — Sala Doctor del Campo. Apendicitis crónica; en el contenido apendicular se comprueba quistes de amibas.

2. S. A. G. Apendicitis aguda. — Sala Cabrera. Sin pasado intestinal siente un dolor apendicular; ingresa al Hospital Maciel, se le opera y se constata un apéndice congestionado con un abceso en la punta. En el examen del contenido se observan formas sospechosas de amibas.

3. Apendicitis aguda. — Apéndice congestionado, casi hemorrágico en algunos puntos. No se encuentran parásitos.

4. Apendicitis aguda. — Apéndice congestionado y hemorrágico en varios puntos. No se encuentran parásitos.

5. Apendicitis aguda. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice perforado y gangrenado. No se encuentran parásitos.

6. Apendicitis aguda. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice perforado y gangrenado. No se encuentran parásitos.

7. R. P. Apendicitis crónica. — Dr. Nin y Silva. No se encuentran parásitos.

8. Apendicitis aguda. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice gangrenado; se encuentran dos cálculos en su interior; la punta está perforada por donde ha salido otro cálculo que se encontró en el peritoneo. No se encuentran parásitos.

9. Apendicitis aguda. — Dr. Rodríguez Guerrero. Apéndice con focos hemorrágicos. No se encuentran parásitos.

10. Apendicitis aguda. — Dr. Diego Lamas. Apéndice hemorrágico, tiene un cálculo en su interior No se encontraron parásitos.

11. Apendicitis aguda. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice grueso congestionado, mucosa desprendida, contenido hemorrágico. No se encuentran parásitos.

12. A. C. Apendicitis crónica. — Apéndice con dilatación vascular; puntos hemorrágicos en la mucosa. No se encuentran parásitos en el apéndice ni en las materias fecales.

13. Apendicitis aguda. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice con focos necróticos y hemorrágicos. No se encuentran parásitos.

14. E. M. — Apéndice con foco hemorrágicos, contenido claro. No se encuentran parásitos.

15. A. W. C. — Apéndice con mucosa sana, no congestionado. No se encuentran parásitos.

18. N. N. — Dr. Nin y Silva. Apéndice engrosado, congestión vascular periférica, mucosa con puntillado hemorrágico. En el contenido hay numerosos quistes de Lamblias y formas vegetativas.

Apendicitis aguda, dos ataques, el último hace dos meses.

19. A. S. — Sala Mateo Vidal. Apéndice engrosado, congestionado, turgescente, mucosa congestionada. No se encuentran parásitos.

20. J. P. — Dr. A. Ugón. Apendicitis crónica. Apéndice en parte tamaño normal, se ven los folículos y mucosa normal, submucosa un poco espesada. En otra parte, dilatado, con paredes adelgazadas, submucosas con vasos dilatados y poco espesa. Se encuentran Tricomonas y Tetramitus.

21. Apendicitis crónica. — Mucosa poco congestionada. No se encuentran parásitos.

22. P. P. de B. — Dr. Nin y Silva. Hace 8 años siente a intervalos largos dolores en la fosa ilíaca derecha, hace 1 mes acompañados de vómitos biliosos. Constipada. Apéndice largo no engrosado, congestionado exteriormente; mucosa rojiza, contenido sanguinolento. No se encuentran parásitos.

23. P. S., 23 años. — Dr. Nin y Silva. Hace (9) nueve meses sentía dolores apendiculares; dolores sin relación con las comidas, acentuándose en el período menstrual; los dolores no eran agudos, se acentuaron 1 mes antes de ser operada; constipada. Apéndice mediano, engrosado y congestionado exteriormente, mucosa pálida, sin hemorragias, contenido fecal. Se encontraron numerosas larvas de Anguílulas.

25. Apéndice engrosado, congestionado exteriormente, algo blando, mucosa con fino puntillado hemorrágico, no hay contenido fecal. No hay parásitos.

27. O. Z., 16 años. — Dr. Nin y Silva. Apéndice de 15 ctms. de largo,

grueso con adherencia del ciego en la pared, muy congestionado en la punta. No se encuentran parásitos.

28. N. N. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice largo, grueso, congestionado exteriormente, turgescente; piqueteo hemorrágico en algunos puntos de la mucosa, en otros francamente hemorrágica; contenido sanguinolento. No se encuentran parásitos.

29. N. N. — Dr. Abente Haedo, Florida. Apéndice muy engrosado, de 1 cmt. y ½ de diámetro, pared intensamente congestionada. Abierto a lo largo sale un pus cremoso, achocolatado, mucosa rojiza ulcerada. Flora microbiana poco abundante; no hay predominancia de ninguna especie, bacilus Gram negativos tipo Coli bacilus Gram positivos, diplococcus. Se encuentra amibas, formas vegetativas y quistes.

30. N. N. — Dr. A. Ugón. Enfermo operado por neoplasma del recto. Apendicectomia. Mucosa con pequeñas zonas rojizas. Se encuentran Tricomonas y Amibas.

31. B. S. — Dr. Nin y Silva. Trastornos dispépticos datando de 6 meses, después dolores abdominales; luego dolores localizados en la región apendicular. Apéndice largo y delgado, congestionado exteriormente; en su interior hay materias fecales y líquidos sanguinolentos, mucosa congestionada y hemorrágica en algunos puntos. Se encuentran forma adultas de anguílulas.

32. N. N. — Hospital Maciel. Apéndice largo, congestionado exteriormente, con nódulos donde se encuentran materias fecales. Flora microbiana muy abundante; predomina la flora Gram negativa, bacilus tipo Coli; flora Gram positiva muy abundante, bacilus medianos y enterococcus; hay espiroquetes. No se encuentran parásitos.

34. N. N. - C. D. P. — Servicio del Dr. Lamas. Apendicitis aguda con peritonitis. Apéndice delgado, mediano, rojo; en el extremo proximal hay coprolitos, la mucosa roja, contenido hemorrágico. Flora microbiana pobre. No hay parásitos.

35. N. N. — Dr. Nin y Silva. Apéndice mediano, delgado, congestionado exteriormente; contenido algo sanguinolento. Flora microbiana pobre; predomina bacilus tipo Coli y enterococcus. No se encuentran parásitos.

36. A. F. — Dr. Nin y Silva. Apéndice normal. Flora microbiana abundante; predomina la Gram negativa, bastante enterococcus.

37. P. C. — Sala Jacinto Vera. Flora microbiana pobre, predomina la Gram negativa. Se encuentra amibas nanas.

38. J. Y. — Dr. Nin y Silva. Padece dolores abdominales hace varios años; hace 8 meses colitis muco-membranosas con adelgazamiento de 11 kilogramos. Al examen, ciego grueso y doloroso. Apéndice de 10 cmts. de largo, congestión moderada de serosa; calibre irregular con dos estrechamientos marcados; contenido pastoso color rojo obscuro. Flora microbiana abundante; predomina la Gram negativa: bacilus fusiformes, bacilus tipo Coli, algunos esperilus; en la flora Gram positiva predomina el enterococcus. En las materias fecales quistes de amibas.

39. Sala Dr. Lamas. Apéndice sano. — Flora microbiana pobre, enterococcus, espirilos. Se encontraron numerosos Blastocytos.

40. A. C., 27 años. — Sala Dr. Lamas. Apendicitis aguda hace 20 días sin fiebre ni vómitos; defensa y dolor de la zona apendicular. Mucosa conges-

tionada y prutrefacta. Flora microbiana abundante predomina la Gram positiva: enterococcus y bacilus Seudos diftéricos. No se encuentran parásitos.

41. M. B. de H. — Sala Mateo Vidal. Apéndice grueso con algunas adherencias; 10 cmts. de largo, engrosada; mucosa con ligero puntillado hemorrágico; en la parte proximal hay un coprolito; materias fecales sanguinolentas. Flora microbiana abundante; hay enterococcus. Se encuentra tetramitus.

43. P. V., 48 años. — Escuela de Nurses. Colítica desde hace 30 años. Apéndice largo de 12 cmts. No está congestionada exteriormente; contenido fecal amarillento; en la parte proximal la mucosa está congestionada y el contenido es sanguinolento. Flora microbiana abundante tanto la Gram positiva como la Gram negativa, en la primera domina el enterococcus y seudo diftérico, en la segunda bacilus tipo Coli. Hay Endolimax nana y Blastocyto.

44. S. D. Sala Cabrera. Apendicitis aguda. — Apéndice perforado en varios puntos y toda la pared del ciego acartonada, gran cantidad de pus en la cavidad abdominal. Apéndice perforado en su extremidad distal, varias perforaciones con expulsión de coprolitos. Flora microbiana pobre. Hay Blastocyto.

46. U. P. Sala Mateo Vidal. Operada por el doctor Iraola. — Apéndice algo engrosado, no congestionado, mucosa algo edematosa; contenido muy poca materia fecal con mucus. Flora microbiana abundante; predomina la flora Gram positiva formada por bacilus gruesos y cortos y enterococcus; flora Gram negativa poco bacilus tipo Coli, algunos espiroquetes. Hay Tricomonas y Tetramitus.

47. M. S. Policlínica del Dr. Nin y Silva. — Hace 1 año varias crisis dolorosas del vientre, constipada. Apendicitis aguda. Apéndice largo de 6 cmts., serosa congestionada, mucosa con puntillado hemorrágico, contiene materias fecales. Flora microbiana abundante, tanto la Gram positiva como la Gram negativa; en la primera hay enterococcus, en la segunda bacilus largos y finos. Hay Tetramitus y Endolimas nana.

48. F. B. — Sala de Cirugía B. Operada por anexitis doble. Apéndice normal. Predomina la flora microbiana Gram negativa, bacilus tipo Coli y un diplococcus; la Gram positiva formada por enterococcus y bacilus seudo diftérico. No se encuentran parásitos.

49. F., 75 años. — Sanatorio Uruguayo. Apendicitis aguda desde hace 4 días. Apéndice muy friable con adherencia y perforado en varios puntos, con expulsión de chumbos; en la extremidad distal hay una zona necrótica; muy poca materia fecal. Flora microbiana muy pobre; la Gram positiva formada por bacilus tipo mediano y enterococcus; la Gram negativa por bacilus tipo Coli. No hay parásitos.

50. Apéndice normal. — Operada por anexitis *(No vale)*.

51. F. C., 39 años. — Escuela de Nurses. Dr. Nin y Silva. Hace 5 o 6 meses colitis mucomembranosas. Apéndice largo 10 cmts., engrosado en su parte distal, congestionado; en su interior materias fecales duras y contenido sanguinolentos, mucosas muy congestionadas en toda su extensión. Flora microbiana muy pobre, numerosos espiroquetes. No se encontraron parásitos.

52. E. Q. — Dr. Mondino. Apendicitis aguda de pocas horas; hace un año tuvo otro ataque. Apéndice de 6 cmts., parte proximal normal el resto engrosado, rojo y turgescente; mucosa muy congestionada con puntillado hemorrágico; contenido sanguinolento, no hay materias fecales. Flora microbiana pobre; algunos bacilus Gram negativo tipo Coli y enterococcus.

53. S. C. — Dr. Prat. Aspecto normal ensanchado en la punta, contenido materia fecales, zona equimótica cerca de la extremidad distal, investigación de parásitos negativos. Predomina la flora Gram positiva, enterococcus. En el corte aparece una apéndice normal. Se trata de una apendicitis aguda enfriada.

54. P. S. — Dr. Lamas. Ataques apendiculares a repetición, con vómitos, fiebre y períodos de constipación. Apéndice al parecer sano en su interior la mucosa está espesada por un piqueteo hemorrágico, contenido materias fecales hemorrágicas. Examen directo se encuentra tetramitos. Predomina la Flora Gram positiva; enterococcus, al corte aparece una atrofia folicular y glandular.

55. V. — Dr. Vázquez. Operado por hernia inginal, apendicectomia ocasional, probable cólico apendicular pasado. Apéndice largo engrosado con contenido sanguinolento. No se encuentran parásitos, Flora muy abundante. Enterococcus en cantidad.

56. V. — Dr. Vázquez. Apendicectomia ocasional. Operada de histectonia. Apéndice anormal, predomina la flora Gram negativo. No se encuentran parásitos.

57. J. D. — Dr. Nin y Silva. Apéndice engrosado con materias fecales (coprolitos) en su interior. Mucosa equimótica. No se observan parásitos. Flora escasa. Enterococcus Coli y diplococcus catarralis. Probable protozoarios (amibas).

58. M. A. — Dr. Nin y Silva. Desde hace 10 días dolores en la fosa ilíaca derecha irradiados a la pierna. Al examen dolor apendicular. Apéndice de 6 cmts. de aspecto normal. Flora Gram positiva muy rica, con predominio del enterococcus. Al corte aparece la luz llena de detritus celulares y hemorrágicos. Folículos desaparecidos. No se encuentran parásitos.

59. Enfermo del doctor Arrizabalaga — Se sospecha bacilosis del apéndice rodeados de una masa fi' osa, sin contenido materias fecales. No se encuentran parásitos y microbios tampoco.

60. V. — Doctor Nin y Silva. Ataques de apendicitis a repetición, operado en frío. Apéndice pequeño no inflamado. No hay parásitos, flora muy pobre.

61. T. — Doctor Nin y Silva. Colitis datando de 8 a 10 meses, ataques apendiculares. Apéndice de aspecto sano. No se encuentran parásitos. Flora muy abundante. Gram positivo, entero, esclerosis apendicular.

62. E. T. de V. — Dr. Lamas y Etchevarría. Apendicitis aguda enfriada y operada a los 45 días del ataque. Apéndice engrosado contenido sanguinolento, no se encuentran parásitos, abundantes enterococcus.

63. Enviado por el Dr. Echevarría. — Apendicitis sub-aguda con fenómenos de colitis, aspecto congestivo con contenido sanguinolento, no se encuentran parásitos, escasas bacterias, enterococcus y Coli.

64. G. P. — Dr. Nin y Silva. La apendicitis crónica en el examen directo se encuentran amibas.

65. M. L. — Sala San Luis. Hospital Maciel. Ataques apendiculares a repetición. Apéndice engrosado. Aspecto equimótico, mucosa sanguinolenta. No hay parásitos. Flora muy pobre.

66. Apéndice enviado por el Dr. Vázquez. — Apendicectomia ocasional. Apéndice distendido en forma de masa, esclerosis de la submucosa. No hay parásitos.

67. C. A. — Dr. Echevarría. Ataques apendiculares a repetición. Operada

de colecistectomia, por cálculos en la vesícula. Apéndice de aspecto normal. Formas vegetativas de amibas.

68. F. L. — Dr. Lamas. Apendicitis crónica. Apéndice con un estrangulamiento ⅓ distal muy edematoso. No hay parásitos. Tejido al corte se ve esclerosis que cierra la luz.

69. J. L. — Dr. Nin y Silva. Apéndice aspecto normal. Contenido muco sanguinolento. No hay parásitos. Infiltración difusa en todas las capas.

70. C. P. de la C. — Enferma operada de anexitis. Apéndice en apariencia normal. No hay parásitos. Muy rica en bacterias, algunos espirilos, predomina la flora Gram negativa, hay enterococcus.

71. R. I. de A. — Operada por fibroma del útero. Apéndice engrosado y congestivo, no hay parásitos, folículos aumentados.

72. P. D. — Sala Mateo Vidal. Constipada desde los 18 años, crisis de diarreas. Hace 2 años primer ataque de apendicitis, con fiebre sin vómitos, hace seis días tuvo otro. Apéndice de 6 cmts., contenido fecal; parece esclerosado, no se encuentra parásitos.

73. V. R. — Enviada por el Dr. Caffera. Constipada, hace 5 meses primer ataque apendicular, colitis crónica, apéndice grueso, no se encuentran parásitos, no se ven microbios.

74. A. F. — Primera crisis apendicular el año pasado, último ataque hace 4 días, cerca de la punta se ve un foco de necrosis, folículos dilatados, esclerosis apendicular.

75. P. S. — Dr. Lamas. Apendicitis aguda, hace 7 años, desde entonces pequeñas febrículas por la tarde. Hace 5 meses ictericia. Dolores en la fosa ilíaca derecha. Mucosa hiperemiada; contenido materias fecales. Numerosas tricomonas espirilos y blastocytos.

76. M. P. — Sala Mateo Vidal. Apendicitis crónica. Apéndice de aspecto sano, no se encuentran parásitos. Flora muy pobre.

77. R. B. — Dr. Iraola. Apendicitis aguda. Pus en el peritoneo, apéndice hiperémico, sale del interior líquido sanguinolento. Espirilos y algunas formas de protozoarios pequeños, tipo badomona?

78. R. G. — Dr. Nin y Silva. Cuadro vesicular desde hace un año. Apendicitis aguda. Contenido sanguinolento. Formas vegetativas de amiba. Flora escasa.

79. C. P. — Sala Cabrera. Apendicitis aguda. Dolor brusco desde hace 3 días en la fosa ilíaca derecha y ombligo con vómitos. Apéndice engrosado en toda su extensión presentando una zona de esfacelo y contenido sanguinolento. No se encuentran parásitos.

80. E. D. — Cirugía B. Dr. Echevarría. Hace 18 meses tuvo el primer ataque apendicular. Constipación acentuada con crisis de diarrea. Hace quince días tuvo otro ataque apendicular. Apéndice de aspecto normal, contenido materias fecales. En el Giemsa aparecen formas de Petramitos y amibas nana. Flora abundante Gram negativo en predominio. Enterococcus en cantidad.

81. M. T. — Desde hace un mes dolores en la fosa ilíaca derecha. Hace un año los mismos síntomas. Vómitos desde hace 2 días. Apéndice engrosado y congestionado. Examen directo y al Giemsa no se encuentran parásitos. Flora muy pobre, exclusivamente a enterococcus. En los cortes aparece el apéndice engrosado, infiltrado y esclerosado en sub-mucosa.

82. J. M. — Dr. Nin y Silva. Antiguo colítico, crisis apendicular hace 7 días. Apéndice congestionado con contenido muco sanguinolento. No hay parásitos y al Giemsa predominio de linfocitos y pocos elementos microbianos. No hay espiroquetes. Apéndice infiltrado, folículo dilatado y subserosa espesada con tejido conjuntivo.

83. A. P. — Dres. Etchevarría y Leunda. Hace 2 años dolores generalizados en el vientre. Ahora dolores en la fosa ilíaca derecha. Apéndice con contenido fecaloideo sanguinolento; mucosa muy congestiva. Examen directo no hay parásitos. Al Giemsa y Fontana no hay parásitos ni espiroquetes. Gram negativo; enterococcus en cantidad.

84. J. R. — Dres. Lamas y Mondino. Hace 3 años dolores en la región apendicular con vómitos y temperatura. Algunos meses después se repite la crisis. Hace 5 días otra crisis con vómitos. Apéndice de apariencia normal, en su extremidad distal hay hematoma y al abrir se encuentra casi impermeable. En el examen directo no se encuentran parásitos. Gran predominio de la flora Gram positiva, enterococcus. No hay espiroquetes. En el corte se nota una reacción esclerosa en la submucosa.

85. F. T. — Dr. del Campo. Colitis subaguda. Apéndice doloroso. Tratado por tricomona y después de su desaparición se opera. Apéndice acodado por bridas. No hay parásitos ni espiroquetes. Al corte aparece engrosado con esclerosis de la submucosa, y folículos pocos engrosados.

86. M. P. — Dr. Etchevarría. Operado por apendicitis aguda supurada; 38° y 114 p. Dolores generalizados en todo el vientre; hace 3 años tuvo su primer ataque; hace 4 meses otro ataque con vómitos y fiebre. Al operarlo se encuentran falsas membranas y serosidad purulenta en el peritoneo. Apéndice edematoso y friable, muy engrosado, dentro de un saco de pus. No hay parásitos. Flora microbiana formada por bacilus Coli, enterococcus y un anaerobio no identificado. Al corte infiltración de todas las capas, esclerosis de la submucosa.

87. P. — Sala M. Vidal. Dr. Iraola. Apéndice normal. No hay lesiones macroscópica ni microscópicas. No hay parásitos. Flora microbiana formada por bacilus Coli y enterococcus.

88. F. A. — Sala Mateo Vidal. Dr. Iraola. Apendicitis aguda. Colitis antigua, varios ataques apendiculares, el último hace varios días. Apéndice muy engrosado y gangrenoso, contenido fecal sanguinolento con olor pútrido. No se encuentran parásitos ni espiroquetes. Flora microbiana pobre formada por bacilus Coli y enterococcus. En el interior restos celulares, glóbulos rojos, linfocitos. Infiltración difusa y pronunciada de todas las capas; 2 microabceso en la pared.

89. E. — Hospital Maciel. Dr. Etchevarría. Hace 1 año dolores difusos en el vientre; hace 2 días dolores localizados en la fosa ilíaca derecha con irradiación al vientre; vómitos y cólicos intestinales. Apéndice de color de esfacelo. No hay parásitos ni espiroquetes. Necrosis de todas las capas, con infiltración intensa. Flora microbiana formada por el bacilus Coli, enterococcus y un bacilus tipo Welchi.

90. A. G. — Sala San Luis. Apendicitis aguda de hace dos días; engrosado, cianótico, gran cantidad de pus en su interior. Microscópicamente folículos dilatados y linfáticos periféricos llenos. Flora microbiana pobre. No hay parásitos.

91. J. R. — Hospital Maciel. Dr. Valdéz. Apendicitis crónica con dolores

difusos. Apéndice fino de aspecto normal. Flora microbiana formada por bacilus Coli y enterococcus. No hay parásitos ni espiroquetes.

92. S. D. — Dr. Lamas. Dolores en el flanco derecho. Apéndice de aspecto normal Vesícula calculosa. Flora microbiana formada por bacilus Coli y enterococcus. No hay parásitos ni espiroquetes.

93. M. A. — Hospital Maciel. Sala Mateo Vidal. Apendicitis crónica con colitis a repetición. Apéndice lleno de materia fecal, algunas zonas equimóticas. Hay quiste de Lamblia, no hay espiroquetes.

94. E. S. — Sala Mateo Vidal. Apendicitis aguda de hace pocos días; anteriormente ataques a repetición con colitis. Apéndice cianótico y engrosado en su extremidad proximal. Folículos engrosados, submucosa edematosas y vasos periféricos dilatados. Flora microbiana muy pobre. No se encuentran parásitos ni espiroquetes.

95. F. P. — Sala Mateo Vidal. Apendicitis aguda. Apéndice grueso, muy congestionado, acartonado, contenido sanguinolento; apéndice necrótico. No se ven microbios. No se encuentran parásitos ni espiroquetes.

96. Dr. Vázquez. Apendicitis crónica con varios ataques agudos. Lleno de materia fecal donde se encuentra un ejemplar de oxyurus vermiculares. Flora microbiana, por cultivo se aislaron bacilus Coli y enterococcus.

97. Apendicitis crónica con varios ataques anteriores y fenómenos de colitis. Apéndice de aspecto normal sin materias fecales y exudado; esclerosis de la capa submucosa, folículos dilatados. Flora microbiana pobre formada por bacilus Coli y enterococcus. No hay parásitos.

98. E. S. H. — Sala Mateo Vidal. Hace dos días ataques agudos de apendicitis con dolor y vómitos, sin fiebre. Apéndice con grandes lesiones a punto de perforarse, grueso, gangrenoso, en su interior contenido hemorrágico. Capa glandular desaparecida, necrosis avanzada. Flora microbiana muy pobre, por cultivo se aislan el bacilus Coli y el enterococcus. No se encuentran parásitos ni espiroquetes.

99. J. G. — Sala Cirugía B. Dr. Etchevarría. Apendicitis aguda; constipada, mareo frecuente, crisis de diarreas; hace un año diarreas sanguinolentas. Apéndice acodado por una brida; aparentemente sano; en su interior un cálculo fecal y 4 hembras de oxyuro vermiculares.

100. P. P. — Hospital Maciel. Dr. Lamas. Anixitis doble. Apéndice de aspecto normal, sin contenido fecal; microscópicamente también normal. Flora microbiana muy pobre, formada por bacilus Coli y enterococcus. No hay parásitos.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
1	Crónica	Esclerosis s.m.	Negativo	Predominio de flora G. N. Coli catarralis. Entero.
2	Aguda	Congestión. Absceso en la punta.	Negativo	Predominio de flora G. N. Coli catarralis. Entero abundante.
3	Aguda	Congestión y piqueteo hemorrágico.	Negativo	Predominio de flora G. N.
4	Aguda	Congestión y Hemorragia.	Negativo	Predominio de flora G. N. Coli catarralis. Flora G. P. abundante. Entero.
5	Aguda	Perforado y gangrenado.	Negativo	Flora escasa. Coli y Entero.
6	Aguda	Perforado y gangrenado.	Negativo	Flora pobre. Coli y Entero.
7	Crónica	Espesamiento sub. ser. Folículos dilatados.	Negativo	Flora G. P. casi igual a G. N. Coli catarralis y Entero abundante.
8	Aguda	Tres cálculos en su interior. Punta perforada. Gangrena.	Negativo	Flora muy escasa. Coli y Entero.
9	Aguda	Congestión y contenido hemorrágico.	Negativo	Predominio flora: G. P. Entero. Coli. Seudo diftérico.
10	Aguda	Contenido hemorrágico. Un cálculo.	Negativo	Flora abundante. G. N. predominan. Coli cat. G. P. Entero abundante.
11	Aguda	Grueso. Congestionado. Mucosa necrosada. Hem.	Negativo	Flora abundante. Predominio de G. N. Coli. G. P. abte. Entero.
12	Crónica	Congestión. Focos hemorrágicos. Esclerosis sub-mucosa.	Negativo	Flora abundante. Predominio G. N. Coli y Bacilo filamentoso. G. P. Entero reg. cantidad.
13	Aguda	Focos de necrosis y hemorragias.	Negativo	Flora abundante. Predominio G. N. Coli y Bacilo filamentoso, catarralis. G. P. Entero y B. tipo Welchi.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
14	Aguda	Focos hemorrágicos. Congestión generalizada.	Numerosos Spiroquetes	Flora abundante. Predominio de G. N. Coli, Catarralis. G. P. abundantes. Entero.
15	Normal		Negativo	Predominio flora G. N. Coli, Catarralis. G. P. Entero.
16	Crónica	Esclerosis de la sub-mucosa con espesamiento.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Entero y seudo diftérico.
17	Crónica	Esclerosis de la sub-mucosa.	Negativo	Predominio de G. N. Coli. G. P. Entero reg. cant.
18	Aguda	Engrosado. Congestión periférica. Piqueteo hemorrágico.	Lamblias, formas vegetativas y quistes	Predominio flora G. N. Coli. G. P. Entero.
19	Apendicectomía ocasional	Engrosado, congestionado, turgescente.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
20	Crónica	Congestión en la mitad. Líquido sanguinolento.	Tricomonas y Tetramitos	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. Abundantes. G. P. Entero.
21	Crónica	Mucosa congest. Esclerosis en la sub-mucosa.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
22	Crónica	Engrosado. Congestionado. Contenido sanguinolento.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Entero.
23	Crónica	Engrosado. Congestionado. Contenido fecal.	Anguilulas intestinales	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Entero.
25	Crónica	Congestionado exteriormente. Piqueteo hemorrágico.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
27	Aguda	Grueso, adherente al ciego. Congestionado en la punta.	Negativo	Flora pobre. Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
28	Aguda	Grueso, turgescente. Piqueteo hemorrágico. Conten. sanguinol.	Negativo	Flora pobre. Predominio de G. P. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
29	Aguda	1½ cent. diámetro. Pus cremoso en su interior.	Amibas	Flora poco abundante. Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
30	Apendicectomía ocasional	Mucosa con pequeñas zonas rojizas.	Tricomonas y Amibas	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
31	Crónica	Congestión exterior. Contenido, materia fecal sanguinol.	Anguilulas intestinales formas adultas	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
32	Crónica	Coprolitos en su interior. Mucosa congestionada.	Negativo	Flora muy abundante. Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Entero. Spiroquetes.
33	Crónica	Congestión de la mucosa. Coprolito interior.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
34	Aguda	Congestionado. Coprolito. Contenido hemorrágico.	Negativo	Flora pobre. Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
35	Crónica	Poco congestionado. Contenido ligeramente sanguinolento.	Negativo	Flora muy pobre. Predominio de G. P. Enterococos. G. N. Coli.
36	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Negativo	Flora abundante. Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. abundantes. Enteros. Algunos espirilos.
37	Crónica	Puntillado hemorrágico en la mucosa. Hemorragia en la sub-mucosa.	Amibas	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
38	Crónica	Grueso. Congestión exterior. Contenido hemorrágico.	Quistes de Amibas	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
39	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
40	Aguda	Pared espesa. Folículos atrofiados. Esclerosis.	Negativo	Predominio de G. P. Enterococos. Pseudo diftéricos G. N. Algunos Coli.
41	Apendicectomía ocasional	Folículos dilatados. Infiltración leucocitaria.	Tetramitus	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
43	Crónica	Grueso, congestionado exteriormente. Contiene mat. fecales.	Blastocystes Amibas nana Form. vegetativas	Flora abundante. Proporción igual. Abundancia de Enterococos. Spiroquetes.
44	Aguda	Varias perforaciones. Necrosis de la pared. Coprolitos.	Blastocystes	Flora pobre. Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
45	Crónica	Grueso rodeado de epiplón muy espesado.	Negativo	Flora pobre. Raras bacterias.
46	Apendicectomía ocasional	Algo engrosado. Contiene materias fecales.	Tricomonas Tetramitus	Predominio de G. P. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos. Gran cantidad de Spirilos.
47	Crónica	Congestionado. Piqueteo hemorrágico. Contenido de materias fecales.	Tetramitus Endolimax nana	Igual cantidad de G.P. y N.G.P. Enterococos. G. N. Diplococos y Coli.
48	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Blastocystes	Predominio de flora G. N. G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
49	Aguda	Perforado dando salida a chumbos. Zona distal necrótica.	Negativo	Muy pocos microbios. Algunos Coli. Mucho enterococos.
51	Crónica	Contenido sanguinolento. Mucosa muy congestionada.	Negativo	Numerosos espiroquetes.
50	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Negativo	Predominio de G. P. Enterococos. G. N. Coli.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
52	Aguda	Engrosado. Turgescente. Piqueteo hemorrágico. Líquido sanguíneo.	Negativo	Raros microbios. G. N. Coli. G. P. Enterococos.
53	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Negativo	Predominio de G. P. Enterococos. G. N. Coli.
54	Crónica	Contenido hemorrágico Esclerosado.	Tetramitus	Predominio de G. P. Enterococos. G. N. Coli y Catarralis. Algunos espirilos.
55	Apendicectomía ocasional	Contenido sanguinolento. Apariencia normal.	Negativo	Flora muy abundante G. P. Enterococos, predominan bacilos G.P.
56	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
57	Crónica	Ligeramente congestionado. Coprolitos.	Negativo	Flora escasa G. N., Coli y tipo Enterococos.
58	Aguda	Aspecto normal. Contenido mucoso escaso.	Negativo	Predominio de G. P. Entero. G. N. Coli y Catarralis.
59	Crónica	Rodeado de una masa fibrosa.	Negativo	Rarísimos.
60	Crónica	Espesado con tejido conjuntivo. En la sub-mucosa.	Negativo	Flora muy pobre. G. N. Coli.
61	Crónica	Esclerosado. Desaparición de la luz.	Negativo	Flora abundante. G. P. Enterococo. Welchi. G. N. Coli.
62	Aguda	Engrosado. Contenido sanguinolento.	Negativo	Predominio de G. P. Abundantes enterococos.
63	Crónica	Congestivo, engrosado. Dilatación periférica.	Negativo	Escasas bacterias. Predominio de G. P. Enterococos.
64	Crónica	Engrosado. Congestionado.	Amibas	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
65	Aguda	Inflamado. Hemorrágico.	Negativo	Flora pobre. G. N. Coli. G. P. Enterococos.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
66	Apendicectomía ocasional	Distendido en su parte distal. Aspecto normal.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
67	Crónica	Dilatado. Congestión de la pared.	Amibas	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
68	Crónica	Adherencias y estrangulamiento en el tercio medio. Escleroso.	Negativo	Predominio de G. N. Coli.
69	Crónica	Normal. Contenido sanguinolento.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis.
70	Apendicectomía ocasional	No hay alteraciones.	Negativo	Predominio de G. N. Coli. Pocos G. P. Enterococos.
71	Apendicectomía ocasional	Engrosado. Congestivo. Folículos dilatados.	Negativo	Predominio de G. N. Coli. Pocos G. P. Enterococos.
72	Crónica	Poco alterado. Esclerosis de la sub-mucosa.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. Pocos G. P. Enterococos. Abundantes espirilos.
73	Crónica	Grueso. Congestionado. Paredes fibrosas.	Negativo	No se ven microbios.
74	Crónica	Reacción esclerosa en la sub-serosa.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
75	Crónica	Congestionado. Infiltración celular en todas las capas.	Tricomonas Blastocystes	Numerosos espirilos.
76	Crónica	Aspecto normal. Esclerosis.	Amibas	Flora muy pobre. G. P. Enterococos.
77	Aguda	Congestión. Contenido muco-sanguinolento.	Badomonas	Flora pobre. Algunos diplococos. Espirilos.
78	Aguda	Contenido sanguinolento. Folículos dilatados.	Amibas	Flora escasa. Raros enterococos.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
79	Aguda	Engrosado con esfacelo.	Negativo	Predominio de G. N. Coli. G. P. abundantes Enterococos.
80	Crónica	Aspecto normal.	Tetramitus Endolimax nana	Flora abundante. Predominio de G. N. Coli. G. P. Enterococos en cantidad.
81	Crónica	Esclerosis.	Negativo	Flora muy pobre. Exclusivamente enterococos.
82	Crónica	Folículos dilatados. Congestión generalizada.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
83	Crónica	Contenido mucosanguinolento.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.
84	Crónica	Reacción esclerosa.	Negativo	Predominio de G. P. Enterococos y Bacilos. G. N. Coli.
85	Crónica	Reacción esclerosa.	Tricomonas	Flora pobre. G. N. Coli. G. P. Enterococos.
86	Crónica	Engrosado. Reacción esclerosa sub-mucosa. Folículos dilat.	Negativo	Predominio de G. N. Coli. G. P. Enterococos.
87	Crónica	Aspecto casi normal.	Negativo	Pocos microbios. Enterococos y Coli.
88	Aguda	Gangrena. Contenido materia fecal sanguinolenta.	Negativo	Muy pocos microbios. G. N. Coli. G. P. Enterococos.
89	Aguda	Necrosis avanzada.	Negativo	Flora pobre. Predominio de G. N. Coli. G. P. Enterococos.
90	Aguda	Engrosado. Cianótico. Pus interior.	Negativo	Muy pocos microbios. Predominio de G. P. Enterococos.
91	Crónica	Folículos dilatados. Ligera congestión.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Diplococos. G. P. Enterococos.

N.º	Sintomatología	LESIONES	PARASITOS	MICROBIOLOGIA
92	Apendicectomía ocasional	Folículos dilatados. Ligera congestión.	Negativo	Predominio de G. N. Coli y Catarralis. G. P. Enterococos.
93	Crónica	Zonas equimóticas. Contiene mat. fecales.	Quistes de Lamblias	Predominio de G. N. Coli. G. P. Enterococos.
94	Crónica	Engrosado. Escleroso.	Quistes de Lamblias	No se ven microbios.
95	Aguda	Congestión. Contenido sanguinolento.	Quistes de Lamblias	No se ven microbios.
96	Crónica	Poco alterado.	Oxiuros vermicularis	Predominio de G. N. Coli. G. P. Enterococos.
97	Crónica	Poco alterado. Esclerosis de la sub-mucosa.	Negativo	Pocos microbios. G. N. Coli. G. P. Enterococos.
98	Aguda	Muy engrosado. Gangrenoso. Contenido sanguinolento.	Negativo	Muy pocos microbios.
99	Aguda	Coprolito. Aspecto sano.	Oxiuros vermicularis	Predominio de G. N. Coli. G. P. Enterococos.
100	Apendicectomía ocasional	Aspecto normal.	Negativo	Flora pobre. Enterococos G. N. Coli.

BIBLIOGRAFIA

1. *Rubino, P. y Varela Fuentes, B.:* "Parasitosis Intestinal en el Uruguay". — Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo. Junio de 1926.
2. *González, Justo F.:* "Parásitos intestinales". — Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo. Junio de 1926.
3. *Dessy y Marotta:* "Contribución al tratamiento de la enteritis disentérica por el método de Rogers". — Semana Médica, Buenos Aires, 1913. N.º 14.
4. *Ricaldoni y Berta:* "La disentería amibiana en el Uruguay". — Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo. Febrero de 1916.
5. *Gaminara, A.:* "Las disenterías en el Uruguay". — Anales de la Fafacultad de Medicina de Montevideo. Tomo 3, N.º 12, Nov. 1918.
6. *Escomel:* "La tricomonosis intestinal". — Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo. Tomo 3, fasc. 8, Set. 1918.
7. *Castex y Galán:* Archivos argentinos de las enfermedades del aparato digestivo y de la nutrición. — Oct. de 1921, t. 1, N.º 1.
8. *Deschiens:* Bulletin de la Société de Pathol. exotique. — Dic. 1923.
9. *Carr and Chandler:* Journal of the Amer. Med. Association. — 1920, N.º 21.
10. *Labbé, Nepveux et Gavrila:* "La Lambliase biliaire". — Annales de Medecine, t. 18, N.º 5, Nov. 1925.
11. *Carrére:* "Investigaciones sobre el rol patógeno y el tratamiento de las lamblias intestinales". — Anales de la Fac. de Med. de Montevideo, t. 10, N.º 12. Dic. 1925.
12. *Wenyob:* Journal of Tropical Med, and Hygiene. Mayo 1920.
13. *Jakimoff et Wasilewski:* Bulletin de la Soc. de Pathol. exotique. 1925, N.º 2.
14. *Beaurepaire Aragao:* "Sobre Blastocystis". — Memorias do Instituto Osvaldo Cruz, tomo 15, fasc. 1, 1922.
15. *Mazza:* "Diarreas crónicas por el Blastocystis hominis". — Revista de la Asoc. Med. Argentina. Dic. 1922, N.º 35.
16. *M. Castex:* Prensa Médica Argentina, 1925.
17. *Castex y Greenway:* "La Entozoosis en su relación con la toxemia intestinal". — Prensa Médica Argentina, 1925, N.º 24.
18. *Boeck and Stiles:* "Studies on various intestinal parasites of man". — U. S. Public Health Service, Hyg. Lab. Bull. N.º 133. Oct. 1923.
19. *A. Ricaldoni: "Las Febrículas".* — Anales Facultad Medicina de Montevideo, 1920.
20. *Tissier:* Annales de l'Institut Pasteur, 1920.
21. *Rubino y Varela:* Zeitschrift fur Exper: Path: und Pharm. 1923.
22. *Umber y Rosemberg.*
23. *Bouchard:* "Les autointoxications intestinales". — París.
24. *Lane:* Citado por Mañé. Anales de la F. de M. de Montevideo. 1922.
25. *Naegeli:* Blutkrankheiten und Blutdiaknostik.
26. *Lasnier:* Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo. 1925.
27. *Vidivich y García Otero:* Com: a la Soc. de Med. de Montevideo. Octubre 1926.

28. *Varela Fuentes y Apolo:* Anales de la Fac. de Medicina de Montevideo. Agosto 1926.
29. *Pappenheim.*
30. *Hirschheld:* Blutkrankheiten 1920. Hirschwuld. Berlín.
31. *Schilling:* Blutkrankheiten 1923.
32. *Navarro:* "La Apendicitis crónica". — Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo. Dic. 1922.
33. *Muhlens:* Revista Médica de Hamburgo. 1926.
34. *Ravaut:* La Presse Medicale. 1926.
35. *Baurepaire Aragao E.:* "Estudos sobre os Blastocystes". — Memorias Inst. Oswaldo Cruz. XV., pág. 240, 1922.
36. *Hartmann:* "Die pathogenen Protozoen des Menschen". 1917.
37. *Dobell:* Citado por Lwof. Bull. de la Soc. de Path. Ex. 1925, N.º 1.
38. *Simon:* Bulletin de la Soc. de Path. Exot. 1925, N.º 1.
39. *Perard:* "Coccidies et coccidioses". Bull. de la S. de P. Ex. 1925, N.º 6.

NOTAS SOBRE EL TRATAMIENTO DE LA PARASITOSIS INTESTINAL

Este capítulo está todavía en sus comienzos. En lo que se refiere a la técnica del tratamiento de las helmintiasis, ésta ha sido ya bien precisada en todos sus detalles en los tratados de parasitología. No insistiremos sobre este punto porque nuestra experiencia se refiere sobre todo al tratamiento de las protozoosis. Solo recordamos aquí, la dificultad que encontramos en nuestro caso de anguilulosis intestinal, citado en detalle, en el capítulo V, para eliminar a este parásito. Se usaron sucesivamente todos los antihelmínticos clásicos: el timol, el extracto de helecho macho, el tetracloruro de carbono, y el aceite de quenopodio sin resultados decisivos. Utilizamos el stovarsol y el sulfato de cobre por boca, sin obtener mejores efectos; este último fué usado teniendo en cuenta su eficacia notable en la strongilosis gastrointestinal de la oveja. A pesar de todo la enferma conserva, aunque muy atenuada, su anguilulosis, lo que nos hace temer la posibilidad de una recidiva de sus hemorragias rectales y de su anemia, que actualmente está curada. Nos sorprendió esta resistencia de la anguilula, porque en los tratados de parasitología, se supone que el tratamiento debe obtener el mismo éxito que es habitual en la anquilostomiasis. Ya expusimos los motivos que pueden explicar este fracaso de los antihelmínticos en el caso especial de la anguilula estercoralis.

La técnica del tratamiento de las protozoosis es todavía muy imprecisa. Basta hacer notar que la mayoría de los medicamentos utilizados actualmente, para este objeto son de data muy reciente, de manera que la experiencia que se posee sobre su modo de acción es aún muy incompleta. Nos referimos al Yatrén 105, de Behring,

al Stovarsol y al Narsenol de *Poulenc* que son los que hemos usado de preferencia.

El uso del Yatrén (ácido yodoxiquinolinsulfoico) ha sido preconizado por *Mühlens* (33, de Hamburgo, para el tratamiento de la disenteria amibiana en los países cálidos. Las dosis que este autor aconseja (hasta 6 grs. por día) se refieren a los casos agudos de los países tropicales. Nosotros empezamos por 1 a 2 grs. por día solamente, para nuestros enfermos habituales de amibiasis crónica, especialmente con la Entameba histolítica. Las dosis superiores tienen en algunos enfermos, efectos muy desagradables: distensión exagerada del vientre, gases intestinales muy abundantes. Estos efectos aparecen, a veces, mismo con las dosis de 0.50 grs. diaria.

Hemos llegado a la convicción de que el Yatrén tiene una acción casi exclusiva sobre las amibas; los flagelados no parecen ser afectados por él. El tratamiento de estos últimos se hace con el Stovarsol de Poulenc (ácido acetiloxiaminofenilarsénico) que tiene una acción rápida sobre el Chilomastix mesnilii y sobre las Tricomonas hominis. Las dosis que usamos son de 0.50 grs. por día, en dos veces. Pero comenzamos con dosis mucho más pequeñas tanteando la suceptibilidad del enfermo desde que hemos visto accidentes desagradables, después de la ingestión del medicamento a dosis fuertes iniciales, de 0.25 grs. por vez. No es raro que se produzca en los primeros días del tratamiento una exacerbación de todos los síntomas preexistentes, quizá, por la reabsorción de productos tóxicos derivados de la destrucción masiva de los protozoarios por los medicamentos, o porque exista un estado de irritación exagerada de la mucosa intestinal, propia de estos estados prolongados de colitis. Estamos estudiando la acción combinada de los absorbentes (mucilagos de lino y de membrillo, carbón vegetal y animal), que nos parecen tener un efecto benéfico para impedir o atenuar estas reacciones exageradas, aumentando la tolerancia con el medicamento el Narsenol de Poulenc, (novoarsenobenzol 606) en comprimidos, lo usamos también para el tratamiento de la amibiasis; su uso ha sido recomendado por *Ravaut* (34).

El efecto inmediato de estos diversos medicamentos es rápido. En pocos días disminuye notablemente los protozoarios en las heces hasta su desaparición completa. Pero este resultado no puede ser interpretado como definitivo. La experiencia realizada en un caso, enseñó que a pesar de no encontrarse más lamblias en las heces, persistían todavía estas en el jugo duodenal. Además, si se sigue más largo tiempo al enfermo se verán reaparecer más tarde los protozoarios en las heces algún tiempo después de la supresión del medicamento. Con respecto a los distintos parásitos nuestra experiencia es la siguiente: la *Tricomona* y el *Chilomastix* se suprimen fácil-

mente con el Stovarsol y esta supresión puede ser completa después de una cura suficientemente prolongada.

Por esta razón hemos creído inútil recurrir al tratamiento preconizado por *Escomel* (6), para las Tricomonas, que esta lejos de tener la simplicidad del tratamiento con el Stovarsol. La supresión de la *Lamblia intestinalis* es, en cambio mucho más difícil. En muy pocos casos pudimos obtener la eliminación radical del parásito, debiendo conformarnos con hacerlas desaparecer temporariamente de las heces, con tratamientos repetidos de tiempo en tiempo.

En cuanto a las *Amibas*, tenemos una impresión muy semejante. La residiva es muy frecuente algunos meses después de terminado el tratamiento, de ahí la necesidad de repetir de tiempo en tiempo, la cura con el Yatrén o con el Narsenol. Se explica que sea difícil extirparla totalmente, tratándose de amibiasis crónicas, en las que como demostró el Prof. *Lasnier* existe la tendencia a formar verdaderas masas tumorales en cuya profundidad están alojadas las amibas que son, así, difícilmente accesibles al medicamento. De la resistencia de algunos casos, al tratamiento, da una idea el siguiente caso visto, en consulta, con el Dr. *A. Volpe*. Disentería desde hace 5 años, por Entameba histolítica. Tratamiento intensivo inicial con inyecciones de Emetima, que domina los síntomas. Desde entonces tiene residivas cada vez más cercana que resisten a todos los tratamientos empleados. Hizo cura de Yatrén (hasta 8 grs. diarios, Stovarsol (1 gr. por día, etc.). A pesar de esto, persisten las diarreas con tenemo y dolor rectal intenso, mucosidades sanguinolentas donde pululan las amibas. La rectoscopía permite constatar que la ampolla rectal está muy estrechada; la mucosa congestionada y de aspecto aterciopelado que sangra al menor contacto; hay múltiples ulceraciones de la mucosa recubiertas de mucopus. Pudimos obtener una mejoría rápida, dando Narsenol por boca, en pequeñas dosis combinado con enemas diarios de Yatrén al 1 por mil alternando con enemas de bismuto. Por los datos expuestos, aunque son el fruto de una experiencia todavía corta, se deduce fácilmente que el tratamiento de la protozoosis intestinal está lejos de poder ser reducido a esquemas sencillos, habiendo aun muchos puntos obscuros para dilucidar.

CAPITULO IX

METODOS DE EXAMEN

NUEVO METODO DE COLORACION

Hemos creído conveniente exponer el método, técnica y elementos de juicio que hemos utilizado con el fin de que cada cual pueda justipreciar el valor de nuestras observaciones.

Si este modo de proceder da mérito a toda comunicación de

orden científico, en el presente caso creemos que se hace imprescindible; vistos los resultados variables a que se puede llegar por exámenes hechos en distintas condiciones, modificando el valor estadístico o la determinación específica de los parásitos.

A nuestra técnica anterior hemos agregado un nuevo método de coloración en cierto modo original, y que nos ha permitido precisar mejor los caracteres morfológicos de los protozoarios, a la vez, que comprobar la presencia de otras especies.

Frecuencia de los exámenes. — A cada enfermo se le hizo varias veces el examen de materias fecales, y hemos podido comprobar la conveniencia de los exámenes seriados; frecuentemente un primer examen resulta negativo, a pesar de la observación de varias preparaciones, y un segundo o tercer examen da resultado positivo. Sistemáticamente se ha administrado a los enfermos, una vez, un purgante salino, consiguiéndose así ver parásitos, donde no se habían observado antes.

Igualmente se le ha dado primera importancia al examen de las materias recién emitidas; todos los enfermos cuyo estado lo ha permitido han defecado en el laboratorio, y el examen se practicó enseguida. Esta circunstancia adquiere gran valor para la investigación de formas vegetativas de amibas, habiéndose comprobado la rápida desaparición de las formas vivas, o por lo menos la pérdida de los caracteres más importantes para su identificación.

Para la investigación de huevos de helmintos y quistes, se ha mostrado muy conveniente al método de concentración de *Carlës y Barthelemy*, hasta el punto de lo que creemos imprescindible; actualmente lo practicamos sistemáticamente: un caso de coccidia que se refiere en este trabajo, solo fué comprobado gracias a este método.

En resumen la sistemática seguida comprende los siguientes puntos.

1. Administración de un purgante salino y examen de fecas recientemente emitidas.
2. Exámenes seriados para cada enfermo, en días sucesivos (tres a seis).

Después para cada materia fecal:

a) Examen directo fresco.
b) Coloración de frotis.
c) Concentración para la investigación de huevos de helmintos y quistes.

Creemos fundadamente que no es posible afirmar la ausencia de parásitos intestinales sin haber cumplido por lo menos esos tres preceptos primordiales, y aun así no es difícil que pueda pasar desapercibida la existencia de algunos vermes sobre todo el ascaris y oxiurus cuando se encuentran en número muy reducido.

Desde el principio de nuestras investigaciones, sentimos la necesidad de utilizar un método de coloración apropiado para identificar con mayor precisión las especies parasitarias y como medio de estudio de las mismas. A parte de los procedimientos de la hematoxilina férrica de los cuales hicimos algún uso, nos dedicamos a estudiar la aplicación del método *Romanowsky* que tan buenos resultados ha dado para el estudio de los hematozoarios; contábamos desde ya con los mediocres resultados de ese método aplicado directamente a los frotis de líquidos o suspensiones sin albúmina o con reacciones químicas acentuadas; por otra parte teníamos alguna experiencia sobre los buenos resultados que podía dar cuando se albuminizaban las suspensiones antes de extender los frotis.

La aparición del trabajo de *Lestoquard* (Comptes Rendus de la Societé de Biologie Núm. 19-1926), sobre la mejora de los colorantes *Romanowsky* por el agregado de suero sanguíneo, nos hizo pensar en su aplicación para el estudio de los parásitos en las materias fecales; así como de la importancia de la albúmina para obtener buenos resultados por ese método. Pensamos pues, que el agregado de albúmina al mismo material para extender los frotis, mejoraría aun más las condiciones en un doble sentido: primero, obtener la fijación fácil sobre el porta-objeto; segundo, que la albúmina amortiguaría las reacciones del medio y haría más gradual y regular la coloración. Después de algunos ensayos preliminares concretamos una buena técnica, bastante simple, lo que nos ha permitido aplicarla sistemáticamente a los análisis de todas las materias fecales con resultados excelentes y uniformes.

Técnica: 1. Preparar el colorante a partir de la solución de *Giemsa* según la consejó *Lestoquard;* 10c.^{3} *de solución,* 1c.^{3} de suero sanguíneo.

2. Las materias fecales en examen son diluídas en la siguiente forma: si son líquidas, partes iguales de materias y suero sanguíneo; si son sólidas se diluye una pequeña porción en una mezcla de partes iguales de suero sanguíneo y suero fisiológico. Se puede operar con gotas sobre el mismo porta-objeto.

Estas mezclas deben hacerse con cuidado para obtener una suspensión bien uniforme.

3. Se coloca una o dos gotas de la suspensión sobre el extremo de un porta-objeto previamente moderadamente calentado, luego se extiende con otro porta-objeto o cubre con las mismas precauciones que para los frotis de sangre. El grado de calentamiento del porta-objeto tiene mucha importancia, debe ser lo suficiente para secar rápidamente el frotis fijando así los parásitos en sus formas naturales; pero no demasiado intenso que pueda alterar la albúmina.

4. Después se fijan las preparaciones siguiendo la técnica de *Lestoquard:* 10, en alcohol iodado al 0,2 %, se lavan ligeramente con alcohol.

5. Se coloran 1 a 3 horas con la solución albuminosa del *Giemsa,* diluído a razón de una gota por centímetro cúbico de agua destilada; con algunas preparaciones el colorante se altera, probablemente por la reacción intensa del material en examen, se nota un tinte totalmente azul o totalmente rojo, conviene entonces renovar el colorante una o dos veces.

Operando en estas condiciones hemos obtenido resultados muy buenos con coloración bien diferenciada de las distintas partes de los protozoarios como muestran las figuras de las planchas: II - III y IV.

Donde resalta muy bien la superioridad de nuestro método es en la coloración de los Blastocystis; en efecto, como lo dice *Beaurepaire de Aragao* (35), es muy difícil y generalmente imposible obtener la coloración del alón mucilaginoso que rodea a estos parásitos, en cambio con nuestro método y sobre todo aumentando la proporción de suero sanguíneo, nos ha sido fácil poner de relieve ese alón que toma un tinte rosado y muestra una estructura finamente granulosa. — Plancha IV. Figs. 1, 2 y 5.

ELEMENTOS DE JUICIO PARA LA IDENTIFICACION DE LAS ESPECIES DE AMIBAS

Este es un punto difícil; en efecto, no hay todavía un criterio uniforme, ni aproximado, de los distintos protozoólogos; mientras para algunos las amibas histolíticas, tetrágena y minuta serían especies distintas, para otros, entre ellos *Hartman, Doflein* y *Chatón* se trataría de distintas formas de una misma especie: La Entameba Histolítica de *Schaudinn.*

Nosotros nos hemos atenido, para la clasificación, al criterio morfológico establecido por *Hartman,* actualmente la más grande autoridad en la materia; habiendo sido elementos principales de juicio: la distribución del endo y ectoplasma, en el reposo y en el movimiento; la estructura del núcleo y las formas quísticas, cuando coexistían. Algunas veces nos hemos encontrado con formas que no hemos podido catalogar. Una de ellas, (Plancha V. Fig. 3) es una amiba, forma vegetativa, aparentemente con dos núcleos, conteniendo un gran número de pequeñas esferas refringentes, de aspecto de una mórula. Esta forma, que primitivamente nos hizo pensar en una amiba diploidea, debimos interpretarla después como una amiba parasitada, por una Chytridinea, análoga a las formas descriptas por *Dobell* en la Entameba coli, nana y disentérica. Se trata de un pará-

sito vegetal, un hongo del género Sphaerita, cuya presencia en el interior de las amibas habría sido motivo de muchos errores de apreciación, según el mismo autor. Este hecho fué comprobado últimamente en dos enfermos más, observándose formas que por la riqueza del ectoplasma se aproximan a la E. disentérica, los seudópodos son en forma de lengüeta o dedo de guante, lentos en producirse y cambiar de forma. Plancha V. Fig. 4.

Descartando estas formas, no bien clasificadas, hemos comprobado tres especies de Entamebas: E. coli, E. histolítica y Endolimax nana.

DE LOS FLAGELADOS. — FORMAS COCCIDIODES DE QUISTES DE LAMBLIAS. — FLAGELADOS NO IDENTIFICADOS

La identificación de las especies de flagelados, ofrece de un modo general menos dificultades que las de amibas, debido a la posesión de caracteres morfológicos más diferenciados y constantes. Hemos comprobado la presencia de Lamblias, Tricomonas y Chilomastix. — En lo que respecta a los quistes de Lamblias debemos destacar un hecho importante.

En dos o tres enfermos muy parasitados por Lamblias, hemos encontrado, al lado de los quistes característicos de este protozoario (Plancha VII. Fig. 1), algunas formas quísticas, aproximadamente en las mismas dimensiones, con una masa protoplasmática central, separada de las paredes, dando la impresión de un quiste de coccidia en su primer estado de evolución; otras formas con protoplasma finamente granulado, llenando todo el quiste y como dividido por una línea en S, como muestran las Figs. 2 y 4. Plancha V. Los cultivos sobre carbón vegetal humedecido, hicieron ver un principio de división nuclear y plasmática. *W. Heynes* habría observado formas análogas, que las atribuye a quistes de Lamblias. *Simón* (38) describe formas análogas a las segundas, algo más grandes que los quistes de Lamblias que no llegó a clasificar.

Este parásito ha sido encontrado con bastante frecuencia y es muy abundante en muchos estados diarréicos.

Es interesante hacer notar la diferencia de estos parásitos de unos enfermos a otros, en tamaño y aspecto morfológico; en algunas heces se presentan formas gigantes, en otras, formas pequeñas solamente, otros con la mayoría de los elementos en división dando la sensación de parásitos o especies distintas.

Nuestro método de coloración se presta muy bien para la identificación y estudio de ese organismo, siendo el único capaz de poner de relieve las tres partes características: cuerpo central, camada protoplasmática con sus núcleos y alón periférico. (Plancha IV. Figuras 1 y 2).

MEMORIA DESCRIPTIVA DE LAS FIGURAS Y OBSERVACIONES ESPECIALES DE TECNICA

a) Examen en fresco. — Plancha I.

El examen en fresco tiene un alto valor diagnóstico cuando se ha hecho el estudio comparativo minucioso. Por una buena observación, es fácil diferenciar las diferentes especies de amibas que se encuentran habitualmente en el intestino humano; sobre todo cuando se han tomado las precauciones para que conserven la movilidad. La presencia de quistes es un gran auxiliar; la plancha I que corresponde a la observación microscópica de las deyecciones de J. M. A., muestra además de los característicos quistes de Lamblias (3), quistes de amiba coli (1), que contrastan con los de amiba disentérica (2); los primeros con su doble membrana encerrando un protoplasma uniformemente granuloso y dentro de este son visibles ocho núcleos; los segundos más pequeños, membrana más fina con protoplasma menos uniforme, encerrando de dos a cuatro núcleos y uno o más bastones cromidiales.

Los flagelados presentan una serie de caracteres muy interesantes, los *Tetramitus* se observan con un protoplasma muy vacuolado, a grandes vacuolas, su citostoma y un gran núcleo refringente, dando la sensación de una estructura muy irregular, además una progresión en sacudidas.

Una forma no identificada aun y que aparece frecuentemente con los Tetramitus, se presenta con una estructura muy semejante a la anterior, algo más alargados, un apéndice caudal muy largo y ancho y progresión en espiral.

Las Lamblias con un protoplasma bastante más uniforme, el gran citostoma que corta oblicuamente el gran eje del cuerpo, a su través se ven los dos núcleos característicos; el parásito tiene movimientos en balanceo.

Las Tricomonas aparecen como una masa protoplasmática de estructura bastante uniforme con pocas vacuolas, cambiando continuamente de forma por las movimientos de la membrana ondulante, dando la sensación de una masa flúida que se deforma.

Los Blastocystis se presentan con una masa central muy refringente, a veces casi vítrea, rodeada de un anillo lleno de granulaciones refringentes, rodeando a este un alón, de aspecto mucilaginoso que solo es visible, sobre todo en algunos preparados graduando muy bien la luz.

b) Examen de las preparaciones coloreadas.

Destacamos en esta parte los principales caracteres que aparecen por el método que hemos descripto.

Lamblias. — Las formas vegetativas aparecen con su estruc-

tura característica de protozoario doble; con sus dos núcleos con cariosoma único grande. — Plancha II. Figs. 1 y 3; las líneas que delimitan el gran citostoma los dos flagelos centrales y los flagelos laterales (estos no aparecen en totalidad).

Los quistes Fig. 2 se muestran habitualmente deformados, probablemente, por un defecto de fijación, en el interior se ven dos o más núcleos, ubicados simétricamente y las líneas de involución de los flagelos (?)

Tetramitus. — Plancha II. Muy frecuentemente se presentan con forma globulosa Figs. 4 y 6, otras con las formas características (Fig. 5); se observa muy bien la estructura a grandes vacuolas a veces conteniendo bacterias, el núcleo cariosómico simple; el citostoma y los flagelos anteriores, casi siempre visibles.

Tricomonas. — Plancha II. Fig. 8.

Siempre se notan muy globulosas, es raro encontrar las formas típicas, predominan las formas redondeadas; sabido es que las tricomonas a medida que pierden su actividad tienden a adoptar esa forma; se distingue muy bien un núcleo cariosómico grande, proporcionalmente más grande que en los otros flagelados, es difícil distinguir los flagelos; el protoplasma es muy poco vacuolado.

Flagelados no determinados. — Figs. 7 y 9. Se coloran muy bien. Cuerpo muy largo continuando posteriormente en un apéndice caudal más largo que el resto del cuerpo, este apéndice es completamente plano, y su plano gira sobre el eje mayor, que parece que estuviera bordado por dos filamentos que se encuentran en la parte terminal. El protoplasma es muy vacuolado, a grandes vacuolas conteniendo bacterias. En la parte anterior aparece un núcleo cariosómico simple, próximo a él un cuerpo basal alargado de donde nacen tres flagelados dirigidos hacia adelante.

Entamebas. — Plancha III. Son los protozoarios que se han prestado menos para las coloraciones, el protoplasma toma en general un azul muy intenso que tiende a cubrir todos los detalles. — Sin embargo la Endolimax nana se presenta muy característica y sus formas grandes se pueden así diferenciar muy bien de la forma minuta de la Amiba disentérica. En efecto la Endolimax nana se presenta con un protoplasma intensamente azul violáceo dentro del cual se ve un núcleo formado por una sola masa de cromatina y además otros pequeños fragmentos de cromatina, distribuídos sin regularidad en el protoplasma (Figs. 9 y 10). En cambio la disentérica (Fig. 2), se presenta, con su núcleo diferenciado, con un centriolo y la cromatina dispuesta en corona, en pequeños fragmentos.

Blastocytos. — Plancha IV. La coloración de estos parásitos por nuestro procedimiento es muy electiva y característica, en efecto aparecen perfectamente coloreadas las tres partes constitutivas (Figs. 1 y 2): el cuerpo central de un azul claro uniforme, el pro-

toplasma intermediario de estructura vacuolar, azul intenso comprendiendo uno o más núcleos o puntos cromáticos y un alón periférico de color rosado; este alón no es visible en todos los parásitos; el cuerpo central suele presentarse a veces de un azul más intenso que las otras partes, sobre todo lo hemos observado en un enfermo en que la mayoría de los parásitos se encontraban en división, probablemente se trata de la basiofilia muy general en las células nuevas (Fig. 8). Las Figs. 2, 4 y 3, muestran varios estados de división del parásito la que se hace por plasmotomia; la división nuclear parece que es muy precoz precediendo de mucho la división del protoplasma, porque se ven en muchas materias fecales gran cantidad de parásitos con dos núcleos en distintas posiciones, unas que parecen corresponder a una división reciente (núcleos proximales) y otros en posiciones ya opuestas, sin que se note ningún principio de división plasmática.

CAPITULO X

CONSTATACION DE UNA COCCIDIA

Muchas veces se ha señalado en el hombre la presencia de coccidias.

Milian describió en el año 1899 dos formas clínicas: una latente y otra pseudo-hidática, atribuyendo el parásito al género Eimeria, el Coccidium Perforans. Pero últimamente la mayoría de los casos de coccidiosis humana se atribuyen al género Isospora hominis.

En el mes de Mayo del corriente año en un examen de materias fecales humanas, tuvimos la oportunidad de observar cocystes ovoides, color marrón muy claro, doble pared, sin micrópilo aparente, dimensiones: 15 micros en el eje mayor, por 10 micros de ancho. Los primeros exámenes demostraron solo una masa granulosa, separada de la pared, por cultivos sobre arena y carbón vegetal húmedos, se pudo seguir la evolución hasta la fase de esporocystos, observándose: Aparición de 4 esporoblastos alargados dejando una masa residual muy visible (como muestran las Figs. 5 y 6 de la Plancha VII).

Dimensiones de los esporoblastos: 10 micros de largo por 3 de ancho, no fué observada la aparición de esporozoitos, pero por los caracteres expuestos parece pertenecer al género Eimeria y muy semejante a la Eimeria Perforans.

Sin embargo *Perard,* en sus últimos trabajos sobre coccidiosis del conejo, después de establecer la autonomía de las dos especies del conejo. — *Stidae* y *Eimeria Perforans,* les atribuye que son específico del conejo.

En cuanto al valor etiológico en el caso que exponemos no pudo llegarse a ninguna conclusión, se trataba de un caso diagnosticado enfermedad de During, con número muy reducido de quistes, que solo se podía obtener por los métodos de concentración, lo que hace suponer que no existía en ese momento un proceso activo atribuible a la coccidia.

LEVADURAS SUPERIORES

Hemos observado en algunas materias fecales, y en gran abundancia, en una, una levadura, que al examen en fresco se presenta muy refringente de forma elíptica o esférica, bastante más chicas que los Blastocytos, la mayoría de las veces en grupos, unidos los elementos por una ganga mucilaginosa.

Por nuestro método de coloración, aparecen de estructura vacuolar, protoplasma teñido en azul lila intenso, con uno o dos núcleos bien teñidos (Fig. 7).

¿NUEVA ESPECIE DE FLAGELADO?

Además de las especies ya nombradas, hemos comprobado en varios enfermos, la presencia de un flagelado con las siguientes características: cuerpo muy alargado, protoplasma muy vacuolado, núcleo cariosómico simple muy visible, tres flagelados anteriores que nacen en un cuerpo basal alargado transversalmente, ubicado muy próximo al núcleo; el cuerpo termina por un apéndice caudal largo, aplanado y girado sobre su eje longitudinal; se desplazan con movimiento en "tonel" muy característico; tanto por sus caracteres morfológicos, observados en las preparaciones en fresco y coloreadas, así como por sus movimientos, se aparta completamente de las tres especies nombradas. (Plancha II. Figs. 7 y 9).

MODIFICACIONES DE LA CITOLOGIA SANGUINEA EN LAS PARASITOSIS INTESTINALES

1) MODIFICACIONES DE LOS LEUCOCITOS. NOTABLE FRECUENCIA DE LA LINFOCITOSIS

La cantidad de leucocitos por mmt.^{3} (1) muestra en las parasitosis intestinales, una ligera tendencia hacia la hiperleucocitosis, sobre todo marcada para las infecciones a Entameba histolítica y coli. La primera da 9 casos con más de 9.000 leucocitos por mmt.^{3} de

(1) Para la numeración de leucocitos se utilizó la cámara doble de Bürker, que permite obtener el promedio del recuento sobre una superficie de 18 mmt.^{2}.

las 22 observaciones de la Tabla II. En las infecciones por las Tricomonas hominis, se nota, en cambio, una tendencia hacia la leucopenia (Tabla IV).

Es el estudio de la proporción relativa de las distintas formas de los leucocitos, que nos ha suministrado los datos más interesantes. Para apreciar mejor el significado de estas modificaciones, hemos completado los datos habituales del porcentaje relativo de las distintas células blancas, con el cálculo de la cantidad absoluta por mmt.^{3} de cada una de ellas. Creemos necesario este último modo de evaluación de los leucocitos, cuando se trata como en este caso, de dilucidar las acciones a distancia de un determinado agente patógeno, sobre el aparato hemo-poiético. Teniendo en cuenta la procedencia tan distinta de las diversas clases de glóbulos y la diversidad de sus funciones, interesa especialmente saber si una determinada categoría de estas células está aumentada o disminuída, lo que puede traducir un estado de excitación o de inhibición, respectivamente, del aparato productor de tales células en particular.

Las fórmulas habituales expresadas en porcentajes, no traducen sino aproximadamente estas variaciones, razón por la cual creímos útil completarlas con los datos numéricos exactos de las cantidades por mmt.^{3} de cada una de las células de la serie blanca.

Las cifras tipo adoptadas como normales para la comparación de nuestros resultados, son las dadas por *Naegeli* (25).

Las cifras medias de este autor, son:

Leuc. (mmt.^{3}): 7.000; Neut. 67 %; Eos. 2 %; Bas. 0.5 %; Linf. 23.5 %; M. 75 o sea por mmt. cúbico Neut. 4.690; Eos. 140; Bas. 35; Linf. 1.645; M. 490.

El dato saliente, encontrado en el curso de nuestras observaciones, es que *en la mayoría de los parasitados intestinales existe un franco aumento de los linfocitos en la sangre.*

Un porcentaje de 30 % o más, fué encontrado en 53 casos sobre el total de 82. La cantidad de linfocitos por mmt.^{3} es inferior a la normal (1.645), solamente en 7 casos. En los 74 restantes, está aumentada de tal manera, que el promedio total para cada uno de los parásitos es superior a 2.300 linfocitos por mmt.^{3}. Los casos de infección por la *Entameba histolítica* son los que arrojan un promedio más elevado: 3.250 por mmt.^{3} o sea un aumento aproximado de 100 % sobre las cifras normales.

La cantidad de neutrófilos por mmt.^{3} es habitualmente normal. Hay una ligera disminución para los casos de Tricomonas hominis y una elevación moderada para la Entameba histolítica y el Blastocystis hominis.

Es interesante hacer notar aquí la ventaja del cálculo de los glóbulos por mmt.^{3}, que da cifras casi normales para los neutrófilos

mientras que la evaluación habitual en porcentajes, da la impresión franca de una neutropenia que no existe en la realidad.

También los eosinófilos muestran, como los linfocitos, una tendencia a acumularse en el medio sanguíneo, aunque no con la constancia de los primeros ni con la frecuencia que podría esperarse, dadas las nociones corrientes sobre las eosinofilias de algunas parasitosis bien conocidas. Una *eosinofilia* de 4 % o más, fué encontrada en 22 casos. Es sobre todo *frecuente* en los casos de *Lamblia intestinalis* y de Entameba coli, y muy rara, al contrario en los de Entameba histolítica.

En cuanto a los Basófilos y Monocitos, no parecen demostrar ninguna modificación apreciable en el curso de las parasitosis intestinales.

Debemos hacer notar aquí, que no hemos podido encontrar en la bibliografía respectiva, ningún estudio referente al comportamiento de los leucocitos en los parasitados por protozoarios intestinales. Solo se menciona la eosinofilia ya bien conocida, de los parasitados por vermes, que como se demuestra en nuestras series es rara en cambio en el curso de la protozoosis, excepción hecha de los casos de Lambliasis intestinal (1).

La linfocitosis constituye por consiguiente *un hecho nuevo* de sumo interés, por su presencia casi constante en el curso de las protozoosis intestinales.

Desde el punto de vista práctico, creemos que esta nueva noción podrá ser de utilidad en ciertos casos de diagnósticos diferenciales difíciles del abdómen. A manera de ejemplo recordamos aquí un caso especial: Es sabido que las protozoosis intestinales pueden llegar a crear cuadros muy semejantes a los de la tuberculosis intestinal y en especial del Ciego, llegando hasta producir tumoraciones de este órgano, que son interpretadas habitualmente como tumores de origen tuberculoso. Los importantes estudios del Profesor *Lasnier* (26) han demostrado de una manera definitiva que estos tumores del Colon son con frecuencia en nuestro país de origen amibiano. Conocemos también un caso clínico reciente de error de diagnóstico, en el que una llamada tuberculosis del Ciego, desapareció rápidamente con el tratamiento apropiado de la amibiasis, que se constató después de un estudio más prolijo del caso. El hallazgo en la sangre, de una moderada leucocitosis con linfocitosis relativa, podrá hacerse valer en estos casos, como un argumento en pro del

(1) El Prof. Gustavo Pittaluga, nos manifestó que él había notado también esta relativa frecuencia de la eosinofilia en los casos de lambliasis intestinal y la atribuía al hecho de que este protozoario se aplica íntimamente sobre las células del epitelio intestinal destruyendo algunas de ellas por lisis. Serían los productos de esta lisis de las células epiteliales, los que reabsorbidos, provocarían secundariamente la eosinofilia, de acuerdo con el mecanismo habitual de producción de las eosinofilias sanguíneas. (Comunicación personal).

diagnóstico de tuberculosis a evolución lenta, si se desconoce el hecho destacado por nosotros de que este cuadro sanguíneo es justamente de suma frecuencia en la protozoosis intestinal y en especial en la amibiasis.

La anemia simple se encuentra con alguna frecuencia en las parasitosis intestinales. El número de glóbulos rojos por mmt.^{3} se mantiene en general, dentro de los límites normales, pero la riqueza hemoglobínica está en muchos casos disminuída, de manera que un porcentaje de hemoglobina de 70 % o menos, fué registrado en 17 casos sobre un total de 86 (1). No se nota ninguna predominancia para un determinado parásito.

Al lado de estos 17 casos de anemia simple encontramos *4 casos de anemia grave, hipercrónica,* que serán estudiados en detalle en en el capítulo siguiente.

En las tablas que siguen se detallan las observaciones que sirven de base para este estudio.

---

(1) El hemoglobinímetro usado para estas determinaciones, es el de Sahli modificado por Hirschfeld (Casa Leitz, Berlín), con doble columna de vidrio coloreada para la comparación, que está ajustado en Berlín, para dar 100 % en las personas normales. Nosotros encontramos aquí, con este aparato, una cifra algo inferior para los normales: de 90 a 95 %.

TABLA N.º I

Resumen de los resultados generales

Parásito (1)	N.º de casos	Anemia (Hgb. 70 % o menos)	Leucocitos por mmt.³ (promedio)	Neutrófilos por mt.³ (promedio)	Linfocitos por mmt.³ (promedio)	Eosinofilias (de 4 % o más)	Linfocitos (30 % o más)
Entameba histolítica	22	2 casos	9.130	5.230	3.250	2 casos	18 casos
Lamblia intestinalis	16	4 »	7.500	4.340	2.530	5 »	10 »
Tricomonas hominis	6	1 »	5.990	3.125	2.350	2 »	5 »
Chilomastix Mesnilii	7	2 »	7.777	3.767	2.418	1 »	6 »
Blastocystis hominis	12	1 »	8.140	5.137	2.488	4 »	9 »
Entameba coli	14	4 »	8.920	4.900	2.320	7 »	7 »
Helmintos	6	1 »	—	—	—	—	—

(1) Se han seleccionado para este cómputo los casos de parasitosis puras.

TABLA N.º II

Entameba histolítica

Observación N.º	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³				
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.
800 ..... 41 años	3.70	70	0.94	9.300	59	1	0	30	10	5487	93	0	2790	930
317 ..... 36 »	4.70	74	0.78	7.200	59	0	0	35	6	4248	0	0	2520	432
404 ..... 63 »	4.60	75	0.81	8.400	61	0	1	33	5	5124	0	84	2772	420
850 ..... 38 »	3.40	70	1.02	7.700	80	1	0	30	9	4620	77	0	2310	693
83 ..... 45 »	4.82	85	0.88	11.600	68	2	0	27	3	7888	232	0	3132	348
916 ..... 53 »	4.42	80	0.90	10.100	54	0	0	39	7	5454	0	0	3939	707
88 ..... 39 »	5.35	79	0.73	8.200	67	0	0	27	6	5494	0	0	2214	492
896 ..... 38 »	5.30	81	0.76	8.930	62	1.5	0.5	32	4	5536	133	44	2857	357
86 ..... 52 »	4.54	84	1.03	12.260	60	3	1	28	8	7356	367	122	3432	980
835 ..... 56 »	4.40	85	1.06	7.000	57	1	1	31	10	3990	70	70	2170	700
	4.80	90	0.88	9.800	65	0	0	33	2	6370	0	0	3234	196
925 ..... 33 »	4.59	87	0.94	6.200	67	0	1	25	7	4154	0	62	1550	434
924 ..... 50 »	4.50	92	0.91	4.500	60	1	0	32	7	2700	45	0	1440	315
931 ..... 45 »	3.54	68	0.77	8.100	40	2	0	47	11	3240	162	0	3807	891
918 ..... 38 »	4.89	95	0.96	13.600	44	4	1	49	2	5984	544	136	6664	272
681 ..... 25 »	3.65	75	1.02	9.700	61	0	0	32	7	5917	0	0	3104	679
944 ..... 40 »	4.39	83	0.94	15.500	62	3	2	30	3	9610	465	310	4650	465
948 ..... 57 »	6.01	83	0.69	7.100	38	5	0	53	4	2698	355	0	3763	284
857 ..... 49 »	4.25	79	0.92	6.900	59	0	0	31	10	4071	0	0	3113	690
967 ..... 54 »	4.00	100	0.80	8.800	47	0	1	48	4	4136	0	88	4224	352
978 ..... 48 »	4.22	90	1.06	8.000	46	3	1	48	2	3880	240	80	3840	170
985 ..... 61 »	4.40	82	0.92	6.500	40	0	2	55	3	2600	0	130	3575	195
298 ..... 40 »	4.27	85	1.00	12.700	67	1	0	28	4	8509	127	0	3556	508

TABLA N.º III

Lamblia intestinalis

Observación N.º	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³				
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.
178 ..... 5 años	—	—	—	11.000	55	2	0	38	5	6105	222	0	4218	555
783 ..... 5 »	4.07	—	—	—	24	1	0.5	73	1.5	—	—	—	—	—
275 ..... 55 »	4.82	75	0.78	11.700	25	5	0	68	2	2928	585	0	7956	234
275 ..... 53 »	3.60	72	1.00	7.600	51	4	0	44	1	3876	304	0	3344	76
807 ..... 50 »	4.30	75	0.87	5.850	67	10	0	20	3	3919	585	0	1170	175
588 ..... 39 »	5.00	80	0.80	8.900	61	0	0	34	5	5429	0	0	3026	445
832 ..... 63 »	4.40	70	0.79	9.600	70	5	0	18	9	6720	288	0	1728	864
691 ..... 38 »	4.69	90	0.95	6.900	53	0	2	36	4	3657	345	138	2484	276
149 ..... 25 »	4.50	70	0.77	7.000	74	3	0	20	5	5180	70	0	1400	350
841 ..... 30 »	4.04	82	1.01	10.400	41	3	0	45	8	4576	312	0	4680	832
853 ..... 23 »	3.90	85	1.08	6.730	49	3	1	42	5	3297	201	67	2826	336
883 ..... 10 »	4.34	65	0.74	9.500	45	3	2	48	2	4275	285	190	4560	190
346 ..... 53 »	4.16	60	0.72	5.600	63	2	0	32	3	3528	112	0	1792	168
	4.08	73	0.91	4.900	54	4	1	39	2	2646	196	49	1911	98
934 ..... 55 »	4.84	105	1.08	6.700	54	4	1	35	6	3618	268	67	2345	402
886 ..... 34 »	4.20	95	1.10	7.000	55	1	0	41	3	3850	70	0	2870	210
988 ..... 40 »	4.72	85	0.90	10.500	59	0	1	32	8	6195	0	105	3360	840

TABLA N.º IV

Tricomonas hominis

Observación N.º	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³				
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.
816 ..... 30 años	4.90	73	0.74	2.900	60	5	0	30	5	1740	145	0	870	145
	—	—	—	3.860	69	2	1	24	4	2663	77	38	926	154
552 ..... 36 »	3.30	85	1.28	—	66	1	0	26	7	—	—	—	—	—
	—	—	—	8.100	60	7	0	29	4	4860	567	0	2349	324
830 ..... 35 »	3.20	85	1.32	6.200	65	1	0	32	2	4030	62	0	1984	124
733 ..... 47 »	4.16	68	0.77	7.100	37	3	0	57	3	2627	213	0	4047	213
796 ..... 47 »	5.15	80	0.77	5.400	38	0	0	47	15	2052	0	0	2538	810
879 ..... 36 »	4.85	70	0.73	6.260	55	2	0	37	6	3443	125	0	2316	375

TABLA N.° V

Chilomastix Mesnilii

Observación N.°	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³				
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.
573 ..... 69 años	4.68	80	0.85	7.730	66	1	1	30	2	4702	71	71	2130	142
495 ..... 40 »	3.34	70	1.04	8.200	43	0	0	53	4	3526	0	0	4346	328
920 ..... 36 »	—	75	—	7.600	54	1	3	39	3	4104	76	228	2964	228
127 ..... 54 »	3.98	60	0.75	4.800	59	2	0	31	8	2832	96	0	1488	384
902 ..... 50 »	4.27	94	1.10	7.700	43	4	2	47	4	3301	308	154	3619	308
670 ..... 45 »	4.10	81	0.98	8.500	54	2	0	36	8	4590	170	0	3060	680
289 ..... 52 »	3.79	85	1.12	10.500	63	3	3	28	3	6615	315	315	2940	315

TABLA N.º VI

Blastocystis hominis

Observación N.º	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³				
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.
806 ..... 45 años	3.50	—	—	5.700	61	0	0	33	6	3477	0	0	1881	342
324 ..... 31 »	4.50	—	—	6.300	60	1	1	34	4	3780	63	63	2142	253
573 ..... 65 »	4.68	80	0.85	7.130	66	1	1	30	2	4005	71	71	2130	142
816 ..... 45 »	4.94	87	0.87	5.830	53	4	1	37	5	3089	233	58	2156	291
961 ..... 42 »	3.80	77	1.01	7.100	66	3	0	27	4	4686	213	0	1917	284
846 ..... 32 »	5.49	67	0.61	10.300	58	2	2	31	7	5974	203	206	3193	721
959 ..... 48 »	4.20	88	0.96	13.600	70	9	0	14	7	9520	1224	0	1900	952
972 ..... 28 »	4.39	82	0.93	7.400	50	6	0	36	8	3700	444	0	2664	592
474 ..... 42 »	5.68	95	0.83	7.800	45	1	1	41	12	3510	78	78	3198	936
589 ..... 50 »	4.40	90	1.02	7.500	52	4	2	35	7	3900	300	150	2625	525
902 ..... 14 »	4.63	85	0.91	13.500	58	3	0	37	2	7830	405	0	4995	270
909 ..... 46 »	5.02	95	0.94	5.600	80	0	0	19	1	4480	0	0	1064	56

TABLA N.º VII

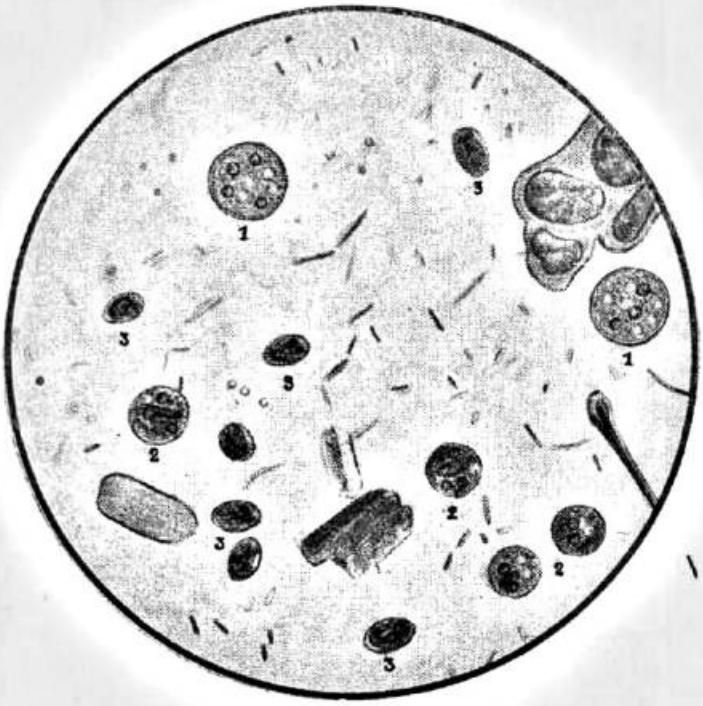
Entameba coli

Observación N.º	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³				
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.
292 ..... 11 años	3.00	70	0.87	7.700	41	4.5	0	47	7.5	3057	346	0	3619	577
23 ..... 38 »	2.80	70	1.25	5.500	42	2	0	43	13	2310	110	0	2365	715
910 ..... 46 »	5.16	95	0.93	9.800	79	2	0	18	1	7742	196	0	1774	98
917 ..... 24 »	4.06	67	0.82	10.400	58	10	0	26	6	5032	1040	0	2604	624
445 ..... 39 »	4.91	78	0.79	6.400	43	4	0	49	4	2753	256	0	3136	256
146 ..... 7 »	4.25	70	0.82	7.800	43	1	0	55	1	3354	78	0	4290	78
786 ..... 35 »	3.90	—	—	8.300	54	0	1	41	4	4482	0	83	3403	332
823 ..... 51 »	4.20	75	0.89	10.400	70	1	0	22	7	7280	104	0	2288	728
837 ..... 24 »	4.20	75	0.89	9.000	71	2	3	19	6	6390	180	180	1710	540
881 ..... 40 »	4.02	85	1.07	13.800	74	4	4	15	3	1010	552	552	2070	414
881 ..... 40 »	—	—	—	10.233	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
789 ..... 42 »	4.40	80	0.90	5.000	70	0	0	21	9	3500	0	0	1050	450
884 ..... 46 »	5.12	85	0.83	5.860	56	12	1	23	8	3281	703	58	1347	468
884 ..... 46 »	4.77	82	0.86	5.000	60	14	0	21	5	3000	700	0	1050	250
968 ..... 21 »	4.16	82	0.98	8.300	58	5	0	33	4	4814	416	0	2739	332
971 ..... 45 »	4.13	85	1.02	6.500	54	3	1	37	5	3510	195	65	1998	325
990 ..... 18 »	4.26	95	1.11	7.900	54	14	0	31	1	4266	1106	0	2449	79

TABLA N.º VIII

Helmintos

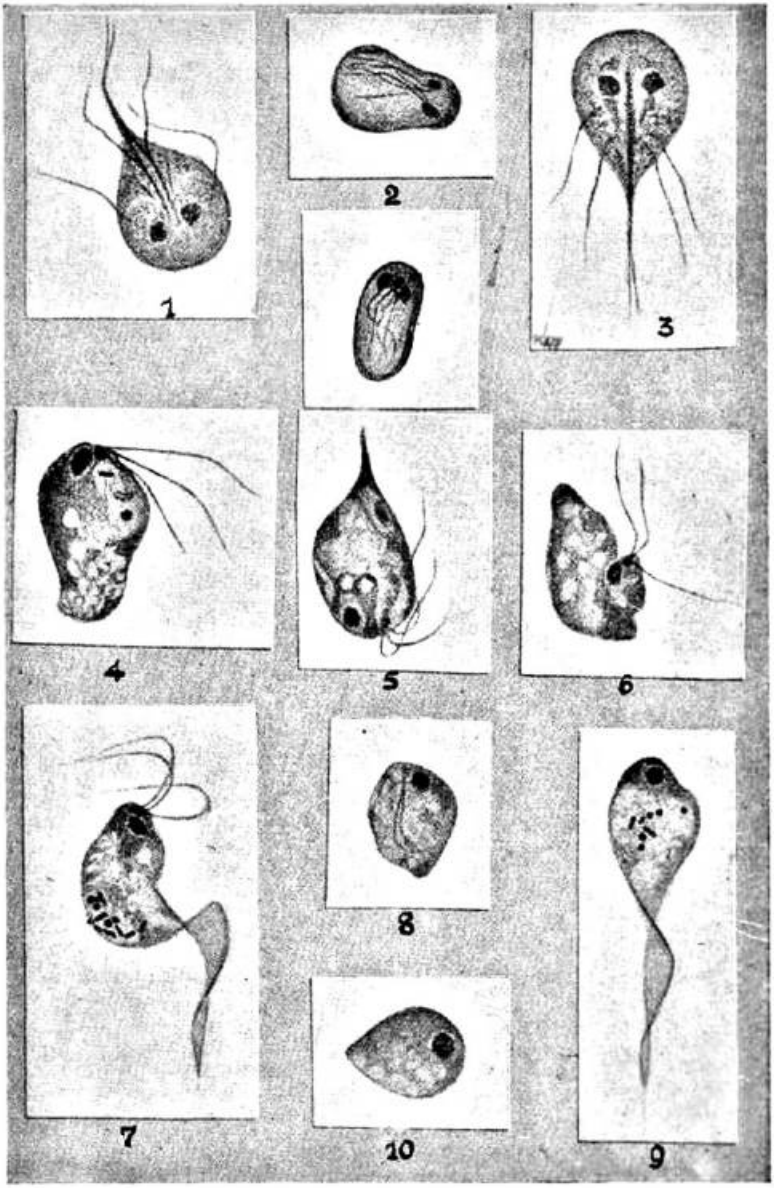
Observación N.º	Glóbulos rojos (millones por mmtr.³)	Hgb. %	V. gl.	Leucocitos por mmtr.³	Cantidades por ciento					Cantidades por mmtr.³					
					Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	Neut.	Eos.	Bas.	Linf.	Mon.	
586 28 años	4.20	—	—	4.800	68	6	0	18	8	3.244	288	0	864	384	Ascaris
586 28 »	4.61	80	0.97	4.230	67	5	0	20	8	2.834	210	0	840	336	
279 6 »	—	—	—	10.500	65	1	0	30	4	6.825	105	0	3.150	420	Tenia nana
	—	—	—	—	34	6	1	54	5	—	—	—	—	—	Ascaris
814 4 »	—	—	—		55	2	0	38	5	61.05	222		4.218	555	Tricocéfalo
178 6 »				11.100											trichiurus
	4.62	75	0.81	6.700	57	0	1	40	2	3.819	0	67	2.680	134	»
950 26 »	0.85	25	1.47	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Anquilostoma
187 57 »															duodenalis
187 57 »	0.72	27	1.87	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
187 57 »	0.23	—	—	—	—	—	—	—	—						
187 57 »	2.35	47	1.00	—	—	—	—	—	—						
187 57 »	1.68	36	1.25	—	35	0	3	55	1	Megaloblastos: 2 %					



PLANCHA I — Dibujos originales

Preparación microscópica de una concentración de materia Fecal. Presencia simultánea de: 1. — Quistes de Entameba Coli. 2. — Quistes de Entameba Histolítica Schaudinn. 3. — Quistes de Lamblias.

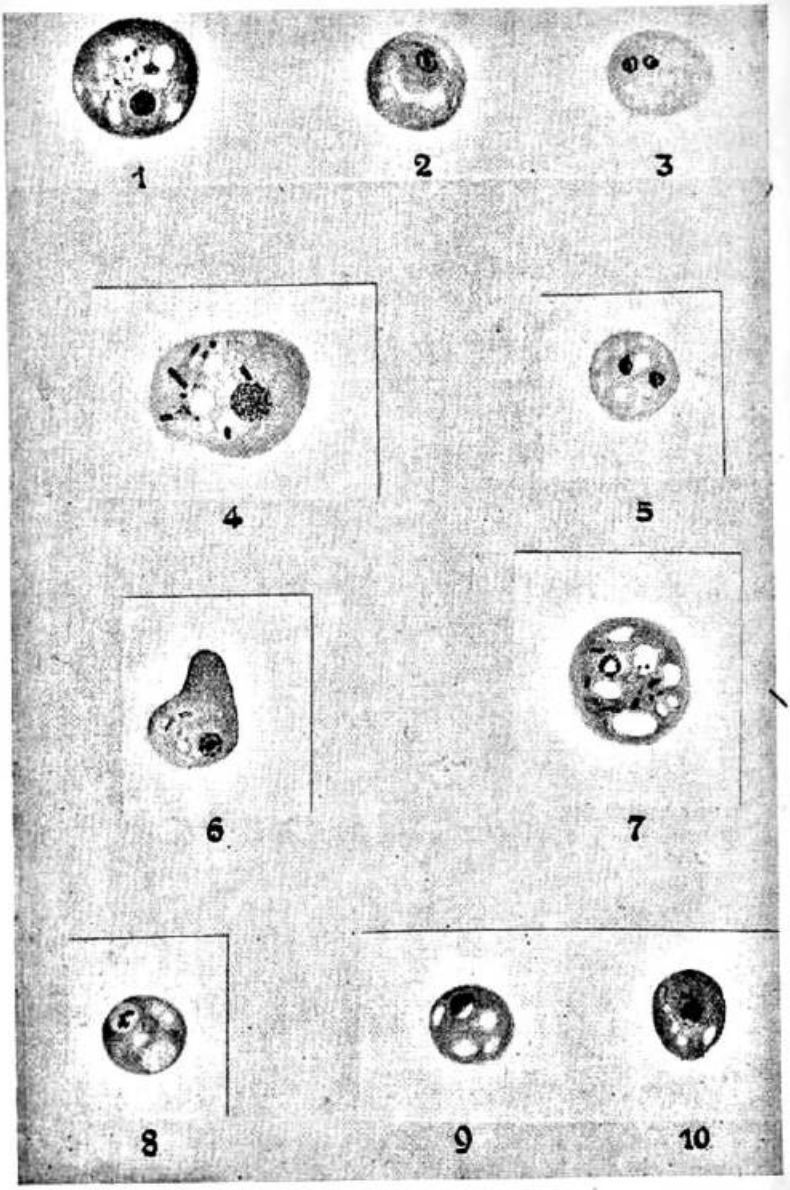
Koristka. — Obj.: inm.: 1/15 — Oc.: 2. Dibujos ampliados al doble.



PLANCHA II — Dibujos originales

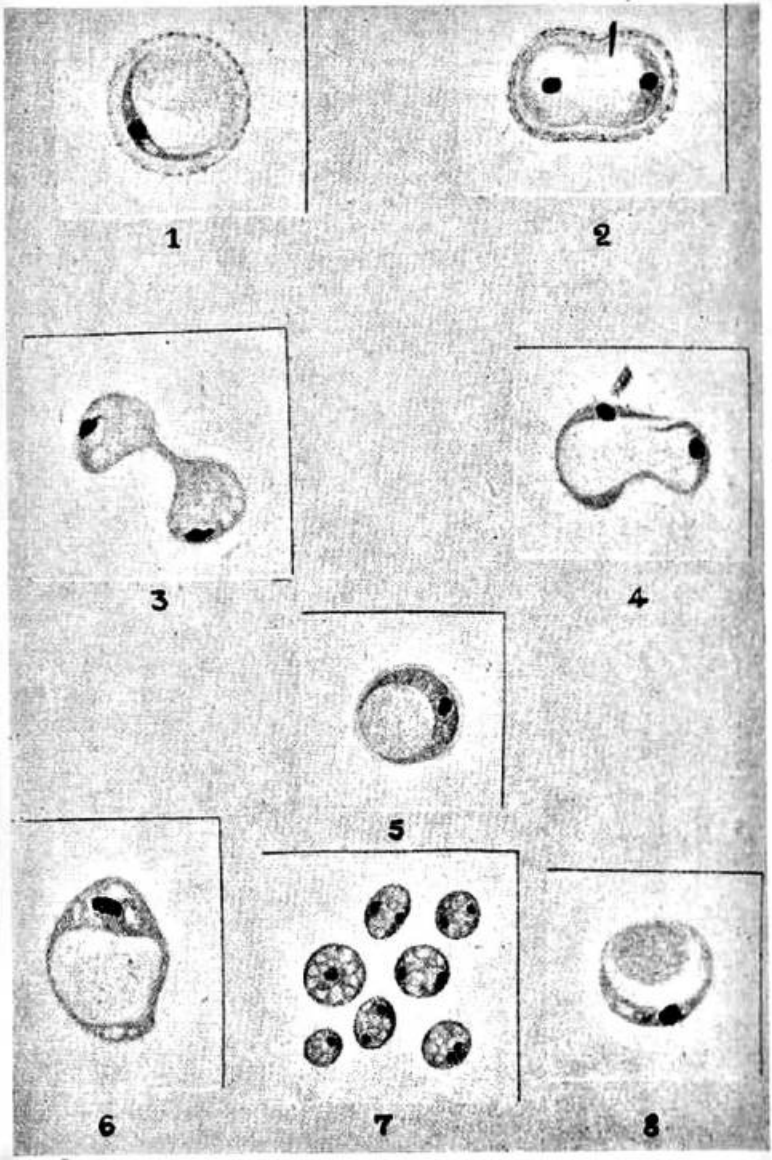
1 y 3. — Lamblias. 2. — Quistes de Lamblias. 4, 5 y 6. — Chilomastix Mesnilli. 7 y 9. — Flagelados no determinados. 8 y 10. — Tricomonas.

Koristka. — Obj. imm. 1/15. — Oc. 3. Dibujos ampliados al doble



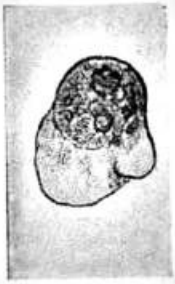
PLANCHA III — Dibujos originales — Entamebas

Koristka. — Obj.: inm.: 1/15 — Oc.: 2. Figuras 3, 5, 6, 8, 9 y 10, ampliadas al doble.

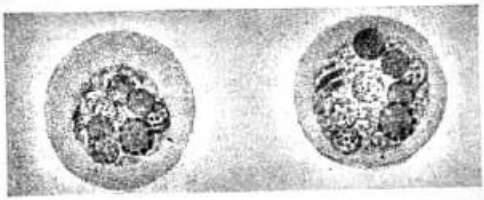


PLANCHA IV — Dibujos originales

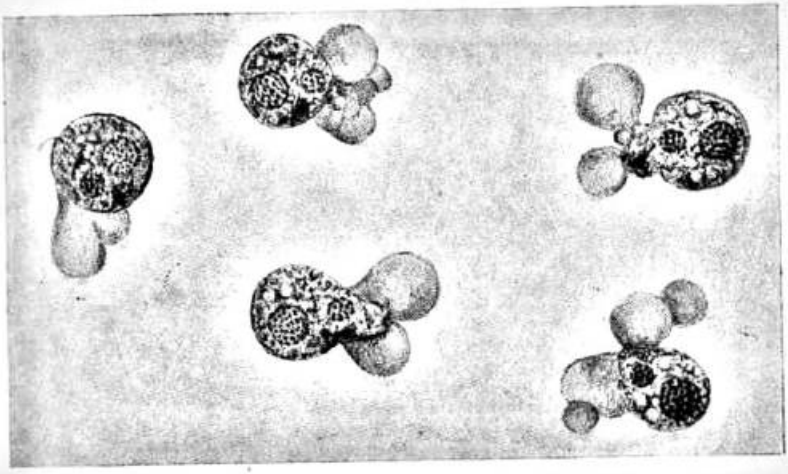
1 a 5, 6 y 8. — Blastocystis Hominis. 7. — Levaduras.
Koristka. — Obj.: inm.: 1/15 — Oc.: 2. Figuras ampliadas al doble.



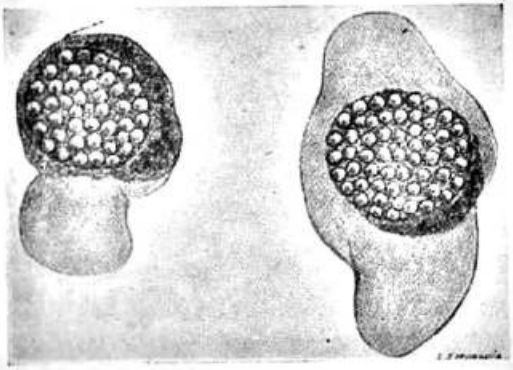
1



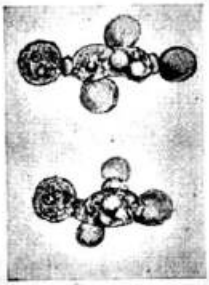
2



3



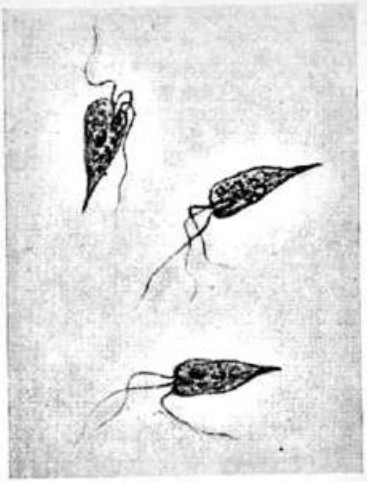
4



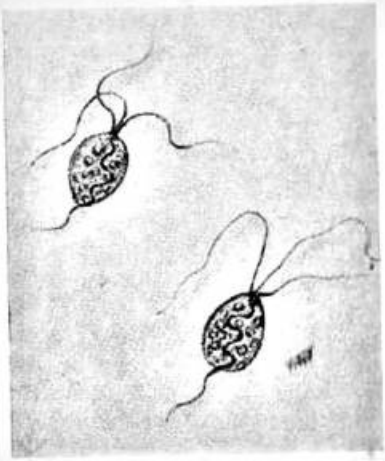
5

PLANCHA V — Dibujos originales

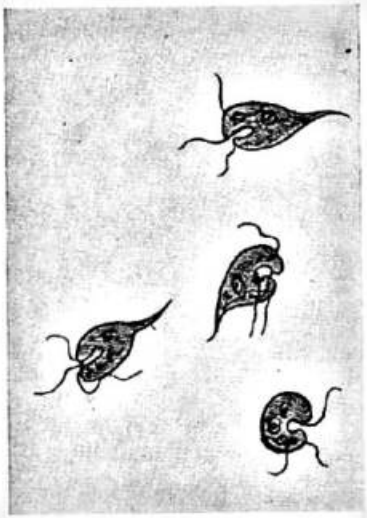
Entamebas. 1 y 2. — Entameba Histolitica Schaudinn. 3 y 5. — Entamebas no determinadas.



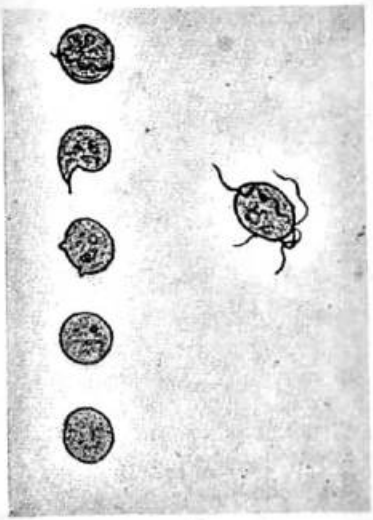
1



2



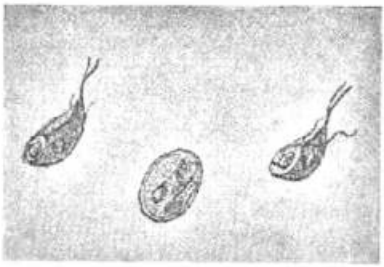
3



4

PLANCHA VI — Dibujos originales

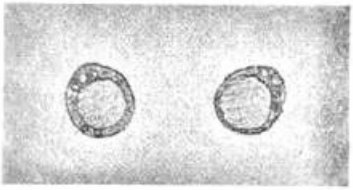
1 y 3. — Chilomastix Mesnilii. 2. — Tricomonas. 4. — Tricomonas y diversos estados de la misma hasta quedar en reposo.
Leitz. — Obj.: inm.: 1/12 — Oc.: 3.



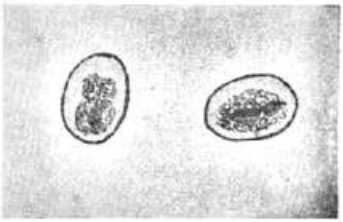
1



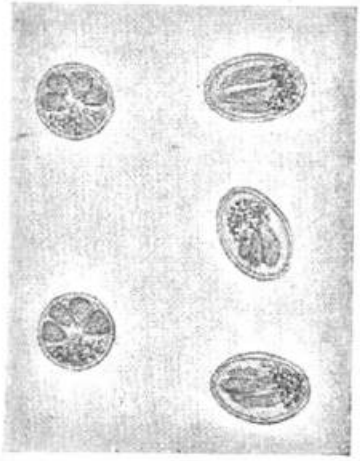
2



3



4



5



6

PLANCHA VII — Dibujos originales

1. —Lamblias y quiste. 2 y 4. — Quistes de Lamblias atipicos. 3. — Blastocystes. 5 y 6. — Eimeria perforans.

Leitz. — Obj.: inm.: 1/12 — Oc.: 3.

ESTA OBRA SE TERMINÓ DE IMPRIMIR, PARA EL MINISTERIO DE GANADERÍA Y AGRICULTURA DEL URUGUAY, EL DÍA 30 DE SETIEMBRE DE 1946, EN LOS TALLERES GRÁFICOS DE "IMPRESORA URUGUAYA" S. A. DE LA CALLE CERRITO 699, DE MONTEVIDEO