

OBRAS COMPLETAS



CLODOMIRO
PICADO TWIGHT



EDITORIAL TECNOLÓGICA DE COSTA RICA

C. Picado T.

OBRAS COMPLETAS

C. Picado T.

OBRAS COMPLETAS

VOLUMEN V



**EDITORIAL TECNOLÓGICA
DE COSTA RICA**

Primera edición, 1988

Editorial Tecnológica de Costa Rica

**Comisión Nacional de Celebración del Centenario del Nacimiento del
Dr. C. Picado T.**

574.192 Picado Twight, Clodomiro, 1887 - 1944
P585-0 Obras completas / Clodomiro Picado
Twight. --1ª ed. -- Cartago : Editorial
Tecnológica de Costa Rica, 1988
7 v. ; il. -- cm

1. Biólogos - Costa Rica. 2. Picado
Twight, Clodomiro. I. Título

La edición de las Obras Completas del
Dr. Clodomiro Picado T. fue posible gracias
al aporte económico aprobado por la
Asamblea Legislativa de Costa Rica. 1986.

© EDITORIAL TECNOLÓGICA DE COSTA RICA, 1988

Instituto Tecnológico de Costa Rica

Apdo. 159-7050, Cartago

ISBN 9977-66-020-7 (Obra completa)

ISBN 9977-66-021-9 (vol. 1)

ISBN 9977-66-022-0 (vol. 2)

ISBN 9977-66-023-2 (vol. 3)

ISBN 9977-66-024-4 (vol. 4)

ISBN 9977-66-025-6 (vol. 5)

ISBN 9977-66-026-8 (vol. 6)

ISBN 9977-66-027-0 (vol. 7)

Hecho el depósito de ley

Impreso en Costa Rica



CLODOMIRO PICADO TWIGHT

DATOS BIOGRAFICOS

- 1887 *Nace el 17 de abril en el Departamento de San Marcos de Nicaragua, donde su padre se encontraba cumpliendo un contrato de profesor.*
- 1890 *Regreso de la familia Picado a Cartago, Costa Rica.*
- 1906 *Obtiene su diploma de bachiller en el Liceo de Costa Rica.*
- 1907 *Es nombrado Profesor de Ciencias Naturales en el Colegio San Luis Gonzaga, Cartago, Costa Rica.*
- 1908 *Parte hacia París, Francia.*
- 1909 *Obtiene el Diploma de Estudios Superiores de Zoología en la Sorbona, París.*
- 1912 *Obtiene el Diploma de Estudios Superiores de Botánica en la Sorbona, París.*
- 1913 *Obtiene el grado de Doctor de la Universidad de París. Es admitido en el Instituto Pasteur de París y en el Instituto de Medicina Colonial de París.*
- 1914 *Director del Laboratorio de Análisis Clínicos en el Hospital San Juan de Dios (Costa Rica).*
- 1915 *Profesor de Ciencias Naturales en el Colegio Superior de Señoritas. Funda la revista "Anales del Hospital de San José" (Costa Rica).*
- 1916 *Profesor fundador de la cátedra de Zoología Médica en la Facultad de Farmacia de la Universidad (Costa Rica).*

- 1920 *Profesor de Ciencias Naturales en el Liceo de Costa Rica.*
- 1921 *Recibe el título de "Profesor de Estado".*
- 1922 *Es designado delegado al centenario de Pasteur y subvencionado para ampliación de estudios. Es nombrado miembro correspondiente de la Sociedad Mexicana de Biología.*
- 1923 *Es nombrado miembro correspondiente de la Sociedad de Patología Exótica de París. Es admitido en la Estación de Patología Vegetal de París.*
- 1932 *Miembro de la Junta Americana de Estudios Biológicos, por nominación del Congreso Internacional de Biología del Uruguay.*
- 1933 *Miembro correspondiente de la Sociedad de Biología de París.*
- 1937 *Jefe de la sección de Laboratorios del Hospital San Juan de Dios (Costa Rica).*
- 1940 *Nombrado Director del Instituto Nacional de Higiene, (Costa Rica).*
- 1942 *Recibe el título "Doctor Honoris Causa" de la Universidad de Costa Rica. Miembro de la Sociedad de Biología de Bolivia.*
- 1943 *Es declarado "Benemérito de la Patria".*
- 1944 *Después de una penosa dolencia, fallece en su hogar, el 16 de mayo.*

CLODOMIRO PICADO TWIGHT

OBRAS COMPLETAS

CONTENIDO

- VOLUMEN I.** Las bromeliáceas epífitas como medio biológico
Pasteur y Metchnikoff
El Museo Pasteur de Estrasburgo
- VOLUMEN II.** Vacunación contra la senectud precoz
- VOLUMEN III.** Serpientes venenosas de Costa Rica
- VOLUMEN IV.** Biología hematológica elemental comparada
Investigaciones sobre fisiopatología tiroidea
- VOLUMEN V.** Trabajos experimentales publicados en revistas
- VOLUMEN VI.** Intervenciones del Dr. C. Picado T. en la prensa
- VOLUMEN VII.** Información biográfica, homenajes y publicaciones sobre el Dr. C. Picado T.



**TRABAJOS EXPERIMENTALES
PUBLICADOS EN REVISTAS**

Primera edición,
Editorial Tecnológica de Costa Rica, 1988

Colaboraron en la traducción:

- Sonia Barahona Chaves
- Róger Bolaños Herrera
- Adrián Chaverri Rodríguez
- Emilia Fernández Pérez
- Alfonso Mata Jiménez
- Paulina Retana Acevedo
- Sonia Vargas Calderón

PRESENTACION

En este volumen de las Obras Completas del Dr. Clodomiro Picado Twilight se han recopilado los trabajos experimentales que le fueron publicados en revistas así como algunas obras cortas preparadas por Clorito dentro de su función como educador (por ejemplo **Nuestra microbiología doméstica**) y otros informes preparados en respuesta a solicitudes específicas que le plantearon autoridades de gobierno (tal como los informes de calidad de aguas de Tres Ríos).

Los documentos se encuentran en orden cronológico. Al final del volumen se incluye un índice alfabético de títulos.

Al inicio de cada artículo, en el extremo superior derecho, se ha insertado la cita bibliográfica del trabajo original.

El editor

EL LEON

Cuando se oye aquí este nombre no infunde terror, pues en vez de representar al rey de los animales, tan sólo representa un ser inofensivo al hombre mismo.

El león de América, o puma, es el felino cuyo nombre científico es *Felis concolor* Linn.

Tiene el tamaño de un perro de Terra-Nova, aunque más grueso; su cuerpo es esbelto, la cabeza pequeña, un poco más gruesa en el macho.

El pelo de color amarillo rojizo, menos en ambos lados del abdomen y en el interior de las orejas, donde toma un color blanquecino. Carece de la melena y de la borla con que termina la cola del león verdadero.

E puma vive desde el Sur de Canadá hasta Patagonia.

Se encuentra tanto en los charrales como en la espesura de los bosques.

Su alimentación consiste en pequeños mamíferos y particularmente en aves, a las que es muy aficionado, y hasta el ñandú del Sur le paga su tributo.

Es más aficionado a beber la sangre que a comer la víctima y cuando tiene oportunidad mata todo lo que puede para utilizar la sangre únicamente.

Cuando ya está satisfecho, guarda bajo tierra el resto de su presa; se retira luego a dormir para volver después a buscarla, pero si encuentra otro animal no lo desprecia.

Es muy tímido y cuesta mucho verlo, aunque abunda en todas partes, y sólo de noche hay ocasión de observarlo en las orillas de nuestros caminos o en los callejones de las haciendas, aunque esto último sucede raras veces.

Sus gritos comunes son parecidos a los de un gato que pide alimento, y cuando está contento produce, como los gatos, un ronquido de satisfacción.

El macho y la hembra viven separados y cada uno caza para sí.

Los monos son muy perseguidos por el puma, que sabe seguirlos en los árboles, merced a su gran agilidad, que también aprovecha para perder a los perros cuando lo persiguen.

Los gauchos lo cazaban con las bolas o con el lazo; Campvell se expresa de esta caza en los términos siguientes:

«Los gauchos, estos soberbios caballeros de las estepas, muestran extremada afición a la caza del puma: lo persiguen en veloces corceles y le echan con singular destreza el lazo al cuello y poniendo sus caballos al galope, arrastran así al puma, estrangulándole».

Teme mucho al hombre: una vez bastaron unos cuantos palos y piedras para arrojar uno de un callejón.

No conocemos ningún caso en que haya atacado a nadie: solamente tenemos noticia que en 1895, uno de los leones cautivos de nuestro museo dio una manotada a un niño que había acercado su cabeza a los barrotes de la jaula: pero este es un caso raro y el señor Anastasio Alfaro dice que los leones cautivos siempre se dejaron acariciar.

Sigue de cerca a los caminantes, maullando siempre y sin mostrarse por ninguna parte.

Una vez que andábamos cazando sitió un león el rancho en que dormíamos, durante varias noches: siempre maullaba pero nunca se acercó a una distancia menor de 25 varas.

La hembra pare dos hijos, raramente tres: no sabe defenderlos y no tiene ningún escrúpulo en abandonarlos al menor peligro.

Algunos de nuestros campesinos comen la carne de león, pero nunca lo cuentan, sino entre ellos mismos, pues creen que el que come de su carne queda excomulgado.

Crean también nuestros campesinos que el puma va precedido por un ave que llaman "pu del león", a decir verdad, esto no

tendría nada de extraño, pues bien pudiera esta ave ser un comensal: pero ninguno de los que han observado las costumbres del puma cita este caso y como en nuestro museo se nos ha dicho que el ave conocida por pu del león, no es sino una lechuza, no debemos aceptar esta aseveración.

Nuestros indígenas usaban collares hechos con las uñas y colmillos de este animal.

Llega a domesticarse, gusta de las caricias y reconoce a su amo, pero tiene el grave defecto de jugar con él, echándose de improviso sobre su dueño, que tiene que sufrir las *inocentes caricias* que le prodiga el felino.

Teme mucho al agua, pero sabe nadar perfectamente cuando se ve forzado a ello.

Nuestro territorio encierra dos especies afines a ésta, son:

Felis jaguarondi Desm: esta especie es más pequeña, de color rojizo ahumado y con las extremidades posteriores altas. Se conoce, entre nosotros, por el "león miquero". Prefiere los bosques. Ha sido colectado en Dota, Miravalles, Candelaria y Jiménez.

La otra especie es *Felis eyra* Desm. Esta es de mucho menor tamaño y tiene mucho de la apariencia de los mustélidos. Probablemente es el animal que nuestro pueblo llama "caucel colorado".

EL CARIBLANCO

Se da en Costa Rica este nombre al mayor de los suideos que encierra nuestro territorio.

Pertenece al género *Dicotyles*, al cual Cuvier dio este nombre por tomar la glándula dorsal de estos animales como un segundo ombligo.

A estos porcinos cupo la honra de haber sido descubiertos por Colón en Costa Rica. En carta particular da cuenta Colón, a los reyes, de los animales que vio en Cariay (Limón). Dice entre otras cosas: «*Dos puercos hube yo en presente, y un perro de Irlanda no osaba esperarlos*».

El *Dicotyles labiatus* Cuv. mide cerca de un metro de longitud. Su color general es gris, casi negro; en este fondo se destaca perfectamente la mancha blanca de su mandíbula inferior, que es la que ha dado origen a su nombre vulgar.

Es ya bastante raro encontrar las manadas de cariblanco. La glándula dorsal está muy desarrollada y trasuda una sustancia viscosa cuyo olor es muy desagradable. Este hedor se acentúa en la época de celo.

Este animal es verdaderamente terrible y cualquier obstáculo que encuentre es poco para detenerlo.

El hombre y el jaguar no los atacan cara a cara. La mejor manera de librarse de sus caninos es subir a un árbol. Nuestras gentes han exagerado tanto la fiereza de este animal, que dicen que muchas veces echan por tierra el árbol, mordiendo su tronco furiosamente y reemplazándose en el trabajo.

Cuentan que el jaguar nunca ataca a los primeros de la manada, sino que subido en un tronco espera que pasen los últimos para caer sobre ellos.

Como varios de los que han escrito sobre el *D. labiatus* dicen que los indios les han contado lo mismo, es de suponer que sea cierto.

Schomburgk refiere un encuentro con los *cariblanco*s, en los términos siguientes:

«Al atravesar uno de los oasis poblados del bosque, oía a lo lejos un ruido especial, del todo comparable al que produce el trote de los caballos y que parecía acercársenos cada vez más.

Los alborotadores pronto se dieron a conocer por una innumerable manada de pécarí bezudos.

La manada pasaba precipitadamente cerca de nosotros batiendo los dientes y rechinándolos de un modo horrísono.

El indio más próximo a mí me quitó el fusil de las manos, sin embargo pronto se había de explicar el enigma. Los indios me contaron que es muy peligroso tirar en medio de una de semejantes manadas, pues los animales se desparraman y destruyen cuanto ser viviente encuentran a su paso».

La hembra da a luz un solo hijuelo generalmente y a los pocos días está apto para seguir a su madre.

El lugar conocido en Costa Rica por *Cariblanco* debe su nombre a un incidente poco agradable, que tuvieron sus primitivos colonos, con los *cariblanco*s, la primera noche que se establecían en el lugar.

El Presidente Roosevelt, refiriéndose a este animal, dice:

«Los perros no educados, aunque sean de gran talla serán matados rápidamente por un solo pécarí, y si ellos se aventuran a atacar una manada serán literalmente hechos fragmentos. Esto no impide, sin embargo, que un perro, fornido y bien educado, pueda él solo matar un pécarí. Yo he presenciado el hecho repetidas veces».

LOS MURCIELAGOS

Cuando los pájaros se guarecen en las ramas para pasar la noche, parece que la vida se interrumpe para reanudarse al siguiente día; sin embargo, a esta hora comienza a moverse en el aire una falange de interesantes quirópteros, que han abandonado, al caer la tarde, los antros oscuros de las minas y cavernas, o los huecos de los troncos que les dieron asilo durante el día.

Se agitan en el aire con vuelo desigual y parece que van a caer de un momento a otro, más esto nunca pasa, por ser su vuelo sostenido; muchas veces pasan una noche entera merodeando en las cercanías de las lámparas eléctricas, donde encuentran alimento en abundancia, pues los insectos pululan en esos lugares atraídos por la luz.

Además de insectos comen frutas, algunas veces van a devorarlas a las habitaciones del hombre, dejando sus restos en ellas. Entre estas frutas podemos citar las de higuierón (*Ficus* sp) y las de güitite (*Acristus arborescens*).

Unos murciélagos que vivían junto conmigo en una casa de campo traían en la noche, una a una, las uvas de güitite, había veces que me arrojaban parte de ellas a la cara. Es muy común verlos en los trapiches, allí encuentran su manjar favorito, el dulce. De la misma manera que los colibríes liban las flores, así los murciélagos comen sin posarse los pedacitos de dulce que quedan adheridos a las canoas. Si su alimentación consistiera únicamente en dulce, frutas e insectos no serían perjudiciales, pero algunas especies son sanguinarias y durante la noche, aprovechando el sueño del ganado, (principalmente caballar), horadan la piel de la víctima elegida, se posan tranquilamente, aplican sus labios como si fuera una ventosa, hacen la succión, mediante la

cual se atrae la sangre, a la vez que el animal pierde la sensibilidad de esa parte, luego con los dientes rompe la piel sin tocar los músculos. Después que el vampiro se ha retirado, la herida sigue manando sangre y la pérdida es a veces considerable, a la mañana siguiente los animales aparecen con grandes cuajarones de sangre, pero lo peor del caso es que las moscas no desperdician la ocasión y depositan sus larvas en estos cuajarones, de allí pasan a la herida y forman una peligrosa gusanera: lavando la herida con agua primero y después con un desinfectante puede evitarse el daño. Otras veces la víctima no es el caballo, sino el hombre mismo; muchas personas han quedado extenuadas debido a las pérdidas de sangre.

Creen algunas de nuestras gentes que si los vampiros hieren a los animales es con el fin de llevarse un pedacito de carne para utilizarlo como cebo para atraer insectos. Creen también que los murciélagos son ratones que de puro viejos han echado alas.

Entre nuestros quirópteros hay algunos de gran tamaño, una vez me contó un campesino que en Navarro habían matado un murciélago cuyas alas extendidas eran más largas que los brazos abiertos de un hombre; algún tiempo después cazaba yo en Navarro y otro campesino me contó lo mismo; esto me hizo creer que fuera cierto el relato, aunque las dimensiones se hayan exagerado. El cráneo de estos animales encierra un cerebro bien constituido. Son bastante inteligentes: se ha observado un murciélago que no tocaba una mariposa hembra, sino a los machos que se acercaban, por esto se ve que observan y sacan consecuencias.

En Costa Rica se encuentran 33 especies, aunque dos de ellas no están incluidas de una manera formal en nuestra fauna.

Una de las especies más comunes es *Artibeus carpolegus* Crasse. A ella nos hemos referido al hablar de su alimentación frugívora. Es del tamaño de un ratón, el pelaje es pardo, los ojos vivos e inteligentes, las orejas medianas, tiene un pequeño apéndice nasal. Producen un chillido muy agudo, a veces el número de vibraciones de ellos es tan elevado, que apenas se oyen. Los muchachos les introducen en el hocico un cigarro encendido, el animalito respira el humo y ellos creen que siente placer fumando.

La especie más importante y bonita es el *Diclidurus albus* Wied.

"Esta especie, —dice D.A. Alfaro— se diferencia de los demás murciélagos costarriqueños, por ser enteramente blanco, color por demás raro en un mamífero tropical y de costumbres nocturnas. La apariencia exterior del pelo es blanco; mas el fondo es de color moreno; las membranas de las alas son de color blanco encarnado y los ojos negros. Se alimenta de insectos".

El excremento de murciélagos empleado como abono da buenos resultados. De algunos cañones de minas se han extraído varias carretadas de este abono; allí se encuentran los murciélagos por millares. Hay veces que forman verdaderos racimos, pues se cuelgan unos de otros. Así también los hemos encontrado en los platanares.

LA GUATUSA

El género *Dasyprocta* tiene dos especies en nuestro suelo: la *D. punctata* que ha sido raramente colectada y que se encontró en las cercanías del Río Naranjo y la especie común que es la *D. istmica* Alston. Este roedor es poco más grande que un conejo. Sus extremidades posteriores son más largas que las anteriores pero como camina con ellas replegadas no se aumenta su estatura. Esta desproporción es ventajosa para la guatusa, pues le permite subir rápidamente las pendientes sin mucha fatiga, por eso siempe que los perros la persiguen corre instintivamente hacia arriba. Estos animales constituyen uno de los obstáculos que encuentran los cazadores de venados, pues los perros pierden el tiempo y las fuerzas persiguiendo a las guatusas, y como éstas abundan tanto, cada rato emprenden una nueva persecución.

La guatusa está cubierta por pelo rígido y brillante de color amarillo rojizo.

Cada pelo tiene anillos claros que alternan con otros oscuros. La cola es tan pequeña que queda cubierta por los pelos.

Abunda mucho en los platanares que están cerca de los bosques o charrales, por ser los plátanos su alimento favorito. Vive en cuevas que no siempre cava, pues aprovecha algunas veces las que encuentra abandonadas. Abre entre las hierbas caminitos que van desde los platanares hasta su albergue.

A la hora del crepúsculo sale a buscar su alimento; esta es la hora que los cazadores aprovechan para ponerse al acecho. Colocan un racimo de plátanos, comenzando a madurar, cerca de los charrales en que habita. El cazador observa todos los días el racimo y cuando ha sido encontrado por la guatusa y comenzado

a devorar por ella, viene al anochecer, trepa a un árbol cercano y espera al roedor, el cual, con seguridad vuelve al mismo racimo.

El momento de llegar es el apropiado para hacer fuego, pues si el cazador espera, la guatusa desprende un plátano del racimo y se oculta de nuevo entre los charrales para devorarlo a sus anchas.

Su carne es bastante mala y pocos son quienes la aprovechan. Cuando se asusta lanza una especie de relincho que no puede confundirse con la voz de ninguno de nuestros animales.

Puede domesticarse y cuando muere algún compañero de esclavitud tiene cuidado de alejar el cadáver. En algunas de nuestras casas conservan este roedor, más dañino que útil.

EL TEPESCUINTLE

Goza el tepescuintle de muy buena reputación en las ciudades, donde solo es conocido por su sabrosa carne; no así en los campos, donde los agricultores ven en él al enemigo de sus plantíos; los yucales son particularmente perjudicados por el roedor que sabe extraer perfectamente las yucas (*Manihot tipi*) de lo profundo de la tierra; no menos pernicioso es en los maizales, pues sabe cortar las cañas para apoderarse de las mazorcas.

Durante el día se retira a su habitación subterránea; ésta tiene varias aberturas tapadas con hojas secas; estas puertas de retirada son llamadas "*usúes*" por nuestros campesinos. Cuando es atacado en su guarida, sabe defenderse con valor; muchas veces los perros que penetran, con la intención de desalojarlo, no vuelven a salir; otros conservan señales indelebles de las heridas que les ocasionara en otro tiempo y los que ya son maestros en esta caza han comprado su experiencia a costa de su propio pellejo, como se dice vulgarmente; a unos les quedan las orejas rasgadas, a otros las mandíbulas fracturadas. Estos combates los libra tan sólo cuando no ha podido fugarse por el *usú*. Si en su huida encuentra un arroyo o río se arroja a él, seguro de no ahogarse, pues nada perfectamente, de este modo logra muchas veces, despistar a los perros que lo persiguen.

Al caer la tarde abandona su madriguera y sale en busca de alimento; éste consiste en yucas, plátanos y otras frutas, hojas, raíces y flores.

El tepescuintle se caza en Costa Rica de varias maneras: unas veces se ahúma la cueva, obligando a salir a su dueño que

es recibido con un tiro o un machetazo; en otras ocasiones es un perro quien debe expulsarlo.

También acostumbran nuestros campesinos cazarlo con una trampa que se ha usado en casi todos los pueblos; amarran unos plátanos al gatillo de una escopeta que dejan colocada de tal modo que el animal se suicida al querer comer.

Si se caza joven puede domesticarse, conoce a su dueño y lo sigue.

Una hembra adulta que tuvimos cautiva dormía durante el día, pero en la noche roía todo lo que encontraba, y por dura que fuera la madera de la jaula no perdía la esperanza de recuperar la libertad. Era muy aficionada a los plátanos maduros y muy cuidadosa de su aseo y todo el tiempo que le dejaba libre su tenaz empeño en roer lo ocupaba en hacerse su tocado. Nunca dio muestras de cariño al que la cuidaba, sino que, por el contrario, siempre que podía trataba de morder la mano del que le daba de comer y como una vez mordiera terriblemente el pie de un visitante tuvimos que matarla.

Este dasipróctido es conocido científicamente bajo el nombre de *Caelogenys paca* (Sinn). Tiene cuando adulto 70 centímetros de largo por 30 de altura. Su cuerpo es grueso, la cabeza es grande, el hocico ancho, las orejas redondeadas y los ojos abultados. Su piel está cubierta de pelos cortos, lisos y poco abundantes; en los bordes del hocico y sobre los ojos hay cerdas táctiles.

El dorso es de color castaño rojizo y el abdomen blanco ceniciento. Cada costado está surcado por cuatro o cinco fajas longitudinales, del color del abdomen; las más cercanas al vientre son continuas, estando las otras formadas por una serie de manchitas redondeadas. Las extremidades son medianas y están terminadas por fuertes uñas. La cola está representada por un pequeño muñón. Los huesos craneanos son esponjosos y los de las mandíbulas dejan una oquedad que sirve para guardar alimentos, aunque en poca cantidad.

El órgano copulador del macho es notable por estar armado de una doble fila de dientes óseos dirigidos hacia atrás y que el macho puede voluntariamente levantar; le sirven para retener a la hembra durante la cópula.

La hembra tiene dos mamas pectorales y dos inguinales, da a luz un solo hijuelo, por regla general. En los primeros días, el recién nacido no tiene bien definidos los colores de la piel, sus ojos y bigotes son grandes en demasía.

Cada día va siendo más raro encontrar tepescuintles, debido a la activa persecución de que son objeto han tenido que retirarse muy lejos de la morada del hombre; pero aun en las soledades en que habita encuentra gran número de enemigos y las fieras hacen presa en él con mucha frecuencia.

EL PUMA EYRA

El nombre de puma ha servido para designar indistintamente a los gatos de pelaje unicolor del suelo americano; en Costa Rica se encuentran tres de ellos, siendo el *Eyra* el más pequeño de todos. Conocemos un ejemplar que se conserva en una casa de esta capital; éste es, según las noticias que tenemos, el único representante de la especie que haya estado cautivo en nuestras ciudades; esto se debe más a la dificultad de capturarlo que a su escasez, pues a pesar de haber sido colectado solamente dos ó tres veces sabemos por el relato de algunos campesinos que vive en lugares bastante cercanos a los caseríos cuyos corrales visita de vez en cuando para proveerse de carne; nunca hemos oído, sin embargo, hablar de él sino en los valles bajos y cálidos. Con respecto a la vida libre de este interesante felino es poco lo que se sabe; algunos naturalistas que han visitado la América del Sur han tenido ocasión de observar algo de sus costumbres, entre ellos a Rengger y a Humboldt se deben las primeras noticias sobre este gato montés; según ellos, habita en pequeñas familias en los macizos de bromelias de los bosques tropicales; desde allí dirigen sus expediciones de caza, saliendo durante los crepúsculos solamente. Su alimento predilecto consiste en aves, especialmente gallináceas. La hembra da a luz dos o tres hijuelos.

A la actividad de un ilustre alemán, Dr. von Frantzius debemos la inclusión del *Felis eyra* en nuestra fauna.

El individuo cautivo que hemos mencionado fue cazado en Talamanca en compañía de otros dos cachorros que no sufrieron la esclavitud y pronto murieron. El otro conservó la vida, pero fue siempre un animal feroz, nunca olvidó su condición de rapaz y cuando algún observador se acercaba demasiado a su jaula aban-

donaba el rincón en que se refugiaba para dejar pasar las horas, —presa de esa nostalgia salvaje propia de las nobles fieras—, sus ojos se encendían y despedían destellos verdes semejando en esos momentos un magnífico par de esmeraldas, daba un salto, escupía como los gatos irritados y en la esperanza de alcanzar a su importuno visitante daba un vigoroso zarpazo contra las barras de la jaula; luego se retraía, volvía a su rincón, se dejaba caer descuidadamente y allí permanecía lanzando sordos gruñidos hasta que el hombre se alejara.

Esta naturaleza salvaje, apegada a la vida libre de los bosques, no podía adaptarse a la vida del esclavo, por eso sucumbió bien pronto en su prisión donde nunca se le vio entregarse a esos juegos alegres característicos de sus congéneres.

Algunos otros individuos de esta misma especie han sido domesticados, y según parece, no han sido más refractarios a la domesticidad que sus congéneres afines.

El *Felis eyra* es un gato de cuerpo alargado, extremidades cortas y potentes y cola bastante larga. Su altura excede en muy poco a la de un gato doméstico, pero es mucho más largo que este último. El color de su piel es rojizo ahumado, bastante oscuro. La extremidad de los pelos es más oscura que su base. Su cuerpo alargado que es, entre los carnívoros, propio de los mustélidos hace que se reconozca fácilmente. Tiene el eyra de los mustélidos no tan sólo la forma, sino también ese valor temerario, que hace que estos animales ataquen a otros que pesan hasta cien veces más que ellos; si a esto unimos la fuerza prodigiosa y rara habilidad del género, puede suponerse cual será el destrozo que cause entre las aves y pequeños mamíferos de las selvas en que habita, donde le hacen la competencia en la lucha por la vida cuatro felinos más poderosos que él.

OBSERVACIONES SOBRE MIMETISMO RECOGIDAS EN COSTA RICA

Nada más difícil que dar una explicación satisfactoria de un conjunto de fenómenos, como los de imitación, que presentan una gran variedad de animales, ya que es muy arriesgado querer interpretar, según nuestras impresiones personales, las relaciones que tienen los animales entre sí.

El hecho de la imitación, del mimetismo, no parece discutible, si lo tomamos como un sinónimo de semejanza pura y simple; su carácter utilitario, en la mayoría de los casos, es el que se presta a la discusión; por eso es mejor no dejarse llevar por la idea utilitarista preconcebida cuando se trata de interpretar un conjunto semejante de hechos, sin duda heterogéneo. Igualmente, negar de manera absoluta y obstinada la utilidad, puede ser también lamentable.

Relato, a continuación, algunas observaciones relativas a casos de mimetismo de la fauna costarricense, manteniendo siempre una cierta distancia de toda idea preconcebida y tomando los hechos tal cual los he observado. He hecho un esfuerzo para colocarme fuera de la realidad objetiva y dudar de que mis observaciones tengan la precisión necesaria para permitir formular una opinión relativa a la utilidad en los casos mencionados: los hechos miméticos serán simplemente considerados como hechos de semejanza aparente, sin ninguna otra significación.

Costa Rica, último promontorio de América del Sur y principio de América del Norte, cuenta con una fauna extremadamente rica, gracias a:

- La diversidad del clima: el calor ecuatorial de las costas contrasta con el frío excesivo de las cimas;

- La ubicación geográfica: sus costas, separadas apenas por unos ciento cincuenta kilómetros, son bañadas una por el Pacífico y la otra por el Atlántico;
- Su territorio es justamente el punto de convergencia de las especies migratorias de las dos Américas;
- La gran cantidad de montañas ubicadas al interior del país, aisladas unas de las otras por regiones que presentan faunas totalmente autóctonas en una muy pequeña localidad.

Esta fauna tan rica ofrece una buena cantidad de hechos de mimetismo. Presento a continuación una revisión resumida de estos hechos, examinando solamente, de manera un poco más detallada, los casos que lo ameriten, sea por su novedad o por las condiciones en las que se presentan.

La exposición será dividida naturalmente en tres partes: homocromía, homotipia y mimetismo específico.

I- HOMOCROMIA

Desde hace mucho tiempo, se conoce la homocromía de los felinos, de la cual se habla en las primeras memorias de Bates, Darwin y Wallace; se le atribuye un papel protector a la coloración de todos los felinos y se dice que las especies de un solo color son homócromas en relación con las ramas de los árboles sobre los cuales esperan la llegada de sus presas.

En Costa Rica habitan tres especies de estos felinos: *Felis concolor* Linn, *F. jaguarondi* Desm y *F. eyra* Desm cuya coloración uniforme es muy semejante a la de las ramas.

Siendo la primera de estas especies más terrestre que arborícola, no puede sacar mucho provecho de su homocromía. El *F. jaguarondi* es el más arborícola; en Costa Rica, se le conoce con el nombre de león miquero, nombre que hace referencia a que este puma caza monos, pero no espera que sus víctimas se acerquen, al contrario, los cazan en campo abierto.

F. eyra, del tamaño de un gato, caza indiferentemente en el suelo o sobre los árboles; es la especie que aprovecha tal vez más su homocromía, ya que el animal se acuesta en las ramas y espera, inmóvil, la llegada de los pequeños animales.

Se citó también, como caso de homocromía útil, la que presentan los cérvidos. La fauna costarricense tiene dos especies de cérvidos: *Dorcelaphus clavatus* True y *Mazama temama* Kerr, que son homócromos de las praderas secas de nuestras regiones. En los mismos lugares habitan también los coyotes (*Canis latrans* Sm.), que pueden encontrarse todavía en el norte del país. Esos cánidos son homócromos como los cérvidos ya mencionados.

La utilidad de la homocromía en estos dos últimos casos es totalmente problemática: los cérvidos no se quedan casi nunca inmóviles y son visibles a muy larga distancia. Los coyotes marchan unidos en manadas a veces numerosas; aúllan de manera poco musical, de tal suerte que la ventaja derivada de la homocromía se anula.

Se pretendió igualmente que la piel manchada del jaguar y de otros felinos semejantes constituía un caso perfecto de mimetismo, ya que las manchas de color oscuro de su piel imitarían la sombra de las hojas del bosque proyectada en el suelo. Hay que tener cierta imaginación para encontrar aquí un caso de mimetismo, y concebir la más pequeña semejanza entre una piel blanca o amarilla manchada de negro y el suelo sobre el cual se dibuja la sombra de las hojas.

Entre los pájaros, se encuentran casos mucho más verosímiles. Cito en particular las gallináceas del género *Notocercus*. Hasta los huevos de estos criptúridos son homócromos, de un color verde muy vivo. Estos huevos son puestos sobre la hierba verde del bosque y no se distinguen fácilmente. El animal adulto es homócromo de las hojas secas y de los terrenos de color oscuro donde vive.

Los pájaros nos ofrecen, además, tres casos muy curiosos de homocromía.

La familia americana de los ictéridos encierra especies arborícolas, con excepción del género *Sturnella*. La *Sturnella magna* Laur, vive sobre el suelo, en medio de pequeñas gramí-

neas de las praderas. Este pájaro, del tamaño de una urraca, tiene el dorso gris oscuro con pequeñas manchas longitudinales aún más oscuras, lo que le permite confundirse con los pastos en los que habita. Cuando un hombre o un animal se acerca, el pájaro se esconde, se desliza entre las hierbas, camina con extrema rapidez, vuelve a salir a algunos metros y se queda inmóvil. Este curioso proceder hace bastante difícil la captura de esta ave.

Un caprimúlgido, *Nyctidromus albicollis* Gm. pasa todo el día literalmente acostado sobre las hojas secas de nuestros bosques, cuyos colores posee. Esto no tiene nada de curioso; lo interesante es que la hembra deposita simplemente sus huevos sobre el suelo; cuando uno se aproxima no distingue la hembra pero cuando se está más cerca, ésta se hace como una bola, rueda sobre sí misma durante algunos metros, luego se levanta, alza el vuelo y vuelve a caer más lejos entre las hojas secas donde desaparece; todo esto pasa como si queriendo salvarse y salvar su descendencia, llama primero sobre sí la atención del enemigo para luego desaparecer.

Otro caso más interesante nos lo da un fringílideo que vive en nuestra meseta central durante la época de la recolección del maíz: *Hedymeles ludovicianus* Linn., pájaro apenas un poco más grande que un gorrión, con el plumaje oscuro comparable a las espigas y a las hojas secas del maíz. El macho de esta especie presenta en la parte anterior del cuello y en la cara inferior de las alas una coloración rosa muy rica, pero cuando las alas están cerradas, este ornamento desaparece por completo, lo mismo que las plumas de la garganta ya que otras plumas vienen a recubrirlas. Durante la época de apareamiento, que según nuestras observaciones tiene lugar en enero y febrero, el macho bate sus alas y eriza las plumas de su cuello acercándose a la hembra. Esta última no presenta ningún ornamento vistoso, pero sí un plumaje absolutamente homócrono con el color de las plantas resacas del maíz.

Es interesante resaltar la coexistencia de una homocromía bien pronunciada y de ricas coloraciones, carácter sexual secundario, disimuladas.

En los batracios, mencionaremos la *Hyla gabi* Cope, de lomo verde y vientre rojo, que habita en las hojas del banano en donde es muy difícil de distinguir. Sus huevos, transparentes, son puestos en las hojas; las larvas también son verdes y pasan dentro del huevo todo el período de respiración branquial.

En los reptiles citaremos solamente el *Sceloporus malachiticus* Cope, pequeña lagartija que presenta un fenómeno de cambio de coloración (homocromía móvil); pero la interpretación de este fenómeno es tan discutible como lo es la del caso presentado por el camaleón.

El *Sceloporus* habita sobre las piedras recubiertas de líquenes o sobre los troncos de los árboles. Sus enemigos no son muy numerosos, a juzgar por la gran cantidad de individuos que uno encuentra en todo lado. Su color no coincide siempre con el lugar donde se halla: por ejemplo, se pueden encontrar lagartijas verdes sobre piedras grisáceas, lo mismo que reptiles cafés o grises sobre troncos recubiertos de musgos verdes.

Un fenómeno parecido se presenta en el *Basiliscus americanus* Laur y en los *Anolis*, pero en menor proporción.

El *Basiliscus americanus* y una especie vecina habitan las riberas de los ríos. Los *Anolis* viven en las ramas de los arbustos. Su coloración cambia en general bajo la influencia del miedo o de la cólera más que por aquella del medio.

Entre los numerosos casos de homocromía en los insectos mencionaremos solamente:

La *Thysania agrippina* Cran, la mariposa más grande conocida (sus alas tienen hasta 35 centímetros de un extremo al otro) pasa desapercibida, a pesar de sus dimensiones, una vez posada sobre los troncos de árboles recubiertos de líquenes. Su enemigo más temido es el *Falco sparverius* Linn., pequeño halcón parecido al *Falco tinnunculus* de Europa. Estas aves tienen por costumbre cazar las *Thysania* que vuelan aún al comienzo del día. Pero nunca las hemos visto atrapar la mariposa de un primer golpe, ya que ésta huye y se posa en general cerca del suelo, sobre un árbol, escapando así a menudo del ave.

Se ha indicado un parecido fantástico entre las alas de las *Caligo* y la cabeza de un búho con los ojos bien abiertos. Digamos simplemente que esta mariposa se posa cerca del suelo, sobre los bananos o troncos de árboles que jamás serían el habitat de los búhos. Además, como la mariposa se coloca con las alas elevadas, como las mariposas de día, no se le ve más que la mitad izquierda o derecha de la cara inferior de sus alas; esta actitud eli-

mina todo parecido de la mariposa con un búho. Semejanza que, por otro lado, sería más bien peligrosa para la mariposa; ya que los búhos llaman la atención de los pájaros durante el día, y así la mariposa estaría rodeada por numerosas aves, entre las cuales se encontrarían sin duda insectívoras, que sacarían el mejor provecho del pseudo-búho.

Entre los coleópteros se encuentra un longicornio, un *Oncideres*, notable por la homocromía que presenta con las ramas de los *Inga*, leguminosas que se emplean a menudo en Costa Rica para dar sombra en las plantaciones de café. *Oncideres* se alimenta de la corteza de los árboles. Presenta la curiosa particularidad de roer la corteza en forma de anillos; así, la rama no tarda en resecarse y morir, lo que ocasiona a veces graves pérdidas. Si un movimiento se produce en la rama, el coleóptero corre rápidamente y se refugia a algunos decímetros del lugar donde estaba trabajando y se queda inmóvil. Siendo tan parecida su coloración a las ramas del *Inga*, es imposible distinguirlo. Los campesinos de Costa Rica ni siquiera lo conocen y atribuyen estos estragos a una oruga.

II- HOMOTIPIA

En los mamíferos, el único caso que podría ser asimilado a la homotipia es, probablemente, el de los desdentados de la familia *Bradipodidae*.

Estos animales, nocturnos como se sabe, pasan todo el día suspendidos en las ramas de los árboles y están casi siempre enrollados como una bola. Sus pelos tienen una dirección contraria a la de los otros mamíferos: en lugar de dirigirse de la espalda hacia el vientre, se dirigen en sentido inverso; son muy largos y en los individuos viejos toman un tinte verdusco. En casi todos los árboles del bosque tropical, se encuentran cantidades de bromeliáceas epífitas del género *Tillandsia*: los bradipodídeos se asemejan perfectamente a esas plantas, de manera que no se les puede descubrir más que a duras penas.

La especie costarricense más notable desde este punto de vista es el *Choloepus hoffmanni* Peters, especie propia de América Central, cuyo pelaje es a veces completamente verde, color ex-

traordinario en los mamíferos. Es el único medio de defensa que los perezosos pueden oponer a sus enemigos (ya que sus movimientos son pesados y no poseen ningún arma) pero este medio no bastará para proteger a estos animales cuya próxima desaparición es absolutamente segura; sus enemigos son numerosos, el territorio costarricense encierra seis especies de felinos que continuamente lo cazan.

En los insectos, los casos de homotipia son bastante notables, pero a veces la interpretación de utilitarismo que se les presta es absolutamente arbitraria.

Los *Pterochroza* son ortópteros con grandes alas que presentan el caso más notable que conocemos. Sus alas ovaladas tienen un color verde o café como las hojas muertas, y en el centro poseen una nervadura principal de la cual se desprenden nervaduras laterales que forman una red no menos perfecta que la de una verdadera hoja. El parecido de sus alas con una hoja es mucho más perfecto que el que presentan otros insectos, ya que las nervaduras no son un simple dibujo, sino que se destacan netamente en relieve sobre el ala. Sin un examen muy minucioso, un ala desprendida sería casi imposible de distinguir de una hoja. He encontrado estos animales sobre los cafetos, cuyas hojas imitan muy bien. Sin duda conviene anotar que los cafetos son plantas introducidas en Costa Rica hace apenas unos años; no nos queda más que concluir que el parecido extremo de los *Pterochroza* con cualquier hoja lanceolada es indiscutible.

Otro caso de imitación casi perfecta es el que presentan los *Umbonia orozimbo* Fairm, (Lámina IV, Figura N° 1). La fotografía que adjuntamos lo representa sobre la *Rosa indica*. El animal imita con perfección las espinas del rosal, la forma, el color verde con líneas y las manchas rojo ladrillo. Lo único es que —y esto no calza con la teoría del mimetismo—, los individuos de esta especie se posan muy raramente sobre la *Rosa indica* (única especie de rosal con grandes espinas que se encuentran en estado silvestre en el territorio de Costa Rica); por el contrario, se encuentran cantidades enormes de estos membrácidos sobre varias leguminosas que no tienen ni una sola espina.

Se encuentra también el *Triqueta grossa* Fairm que presenta un grupo de tres espinas dirigidas hacia adelante; el *Enchenopa*

binotata Walk que presenta una sola espina muy aguda dirigida hacia adelante, y también otras especies, sobre los *Cestrum*, *Acnistus* y en otras plantas que no tienen espinas. Erróneamente, en la **Biología Central Americana**, se citan plantas espinosas como habitat de los *Umbonia* y sus géneros vecinos.

El caparazón de los membrácidos presenta variaciones individuales bastante importantes para hacerlas notar, ya que esas variantes pueden anular toda importancia utilitarista que se preste a esas formas.

Nuestro esquema (Figura N° 1) muestra algunas de las variaciones del caparazón en los *Umbonia orozimbo* (a la izquierda las hembras, a la derecha los machos) y se nota que la última figura no puede jamás representar una espina. El mismo fenómeno se produce en otros géneros.

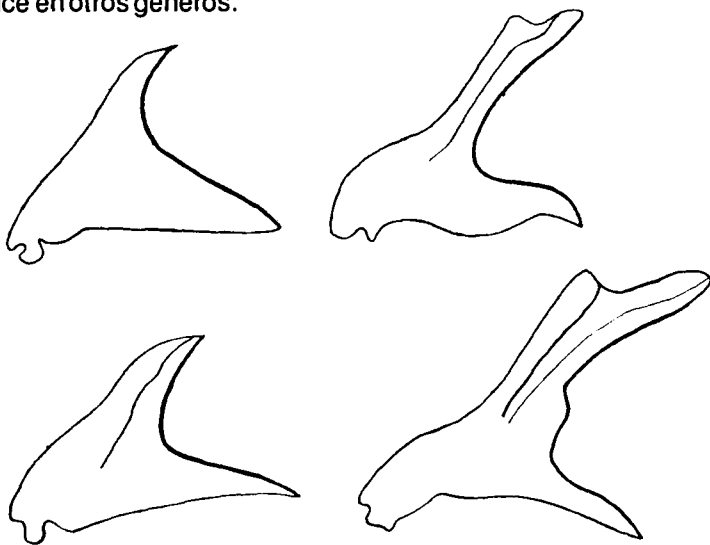


FIGURA N° 1.—Variaciones de forma en el caparazón de los *Umbonia orozimbo* Fairm. Las figuras de la izquierda representan los pertenecientes a las hembras y los de la derecha a los machos (aumentados 3 veces).

Aparte de estos casos de imitación fortuita, existen otros que están tal vez, más de acuerdo con la teoría: el grupo de los membrácidos nos provee de algunos ejemplos.

Fowlers, en su monografía sobre los membrácidos de América Central, hace notar que la forma tan extravagante de los *Sphongophorus* es protectora y que imitan pequeñas ramas quebradas.

Encontré una especie de ese género (probablemente *S. ballista*) en una convolvulácea del género *Ipomoea*. Las hojas de algunas de estas plantas son caducas y su pecíolo persistente se engruesa luego de la caída de la hoja. Colocado en el tallo voluble, el *Sphongophorus* imita por su forma y su color el pecíolo de las hojas caducas de *Ipomoea*.

La Figura N° 2 da una idea de la forma de su extraño prolongamiento torácico, lo mismo que la lámina IV, Figura N° 13. Hay que anotar que la muestra estaba deteriorada cuando quisimos fotografiarla en su ambiente, pero nuestro dibujo da una idea bastante precisa (Figura N° 2).

En los alrededores de Cartago, donde lo encontramos, son bastante escasos, a pesar de que su área de dispersión se extiende desde México hasta Brasil. Solamente lo hallé una vez a pesar de que lo busqué con gran cuidado.

En los *Cestrum*, solanáceas en las que algunas ramas con hojas están bastante mal desarrolladas, viven los *Antianthe expansa* Stal, que presentan el color, y un poco la forma, de las pequeñas hojas del *Cestrum*, entre las cuales estos hemípteros se agrupan imitando el follaje. Cuando se toma una de las ramas sobre la que ellos se encuentran, se quedan inmóviles, pero desde el momento en que se les toca, saltan con fuerza y se cuelgan de una de las ramas vecinas donde ya no se les ve más. Las Figuras N° 5 y 6 de la lámina IV muestran un individuo solo y la Figura N° 12 (Lámina IV) representa esos hemípteros sobre las ramas con hojas. Los *Cereza* (Lámina IV, Figuras N° 3 y 4) tienen el mismo habitat pero son mucho más escasos.

Los *Polyglypta* presentan casos de homotipia muy notables. El *Polyglypta costata* Burm (Lámina IV, Figura N° 10) que se encuentra a menudo sobre las ramas, presenta un caparazón surcado, negro, manchado de un amarillo blancuzco (los tonos de esos colores son bastante variables). Cuando el animal permanece inmóvil sobre la rama, es bastante difícil distinguirlo, ya que parece una pequeña rama quebrada.



Figura N° 2.—El *Sphongophorus* en el tallo voluble de una *Ipomoea*, presentando el aspecto de los peciolas de las hojas caducas (Tamaño natural).

Otra especie de *Polyglypta* la encontramos en las espigas de las gramíneas (*Choetium bromoides*) cuyas espigas son bastante bien imitadas por el insecto. Otras especies del mismo

género y de formas no menos raras, pasan desapercibidas entre los líquenes.

Una oruga (*Geometridae*) que vive en una especie de rosa, roe las flores de la planta. Esta oruga, del mismo tamaño que los sépalos, presenta una coloración roja cafesusca como éstos; la larva lleva, además, un cierto número de expansiones semejantes a las de los pétalos. Cuando se produce un movimiento en la rama, la oruga se endereza, como un gusano medidor, pero en lugar de sostenerse derecha sobre sí misma, se contornea en S, simulando a la perfección, gracias a esta actitud, uno de los sépalos de la flor sobre la que habita.

El caso más interesante nos es proporcionado por cierto número de mariposas del género *Oxydia* (Lámina IV, Figura N° 2) que imitan con extrema nitidez las hojas muertas. Encontramos una de estas mariposas cerca de una lámpara eléctrica. El gran parecido que presentaba con una hoja me asombró y busqué el medio habitual de esta especie nocturna; no la encontré entre las hojas secas que caen de los árboles, ni en la corteza de éstos, sino en las ramas secas que cubren el suelo, no sólo la especie primitiva, sino también otras tres que presentan el mismo interesante parecido con las hojas.

Estas mariposas se posan, como la gran mayoría de las mariposas nocturnas, con sus alas extendidas. La forma general que presenta entonces es más o menos lanceolada, como la mayoría de las hojas. Las *Oxydia* de las colecciones tienen siempre una forma diferente, pues las alas están abiertas y muy separadas las unas de las otras, cosa que no pasa jamás en la naturaleza. Los puntos de contacto entre las alas inferiores y superiores, lo mismo que los de las cuatro alas con el cuerpo, están tan bien dispuestos que el conjunto del cuerpo y de las cuatro alas tienen cierta continuidad, sin ninguna interrupción. Esta posición es muy difícil que la tome el animal una vez muerto, y nosotros jamás lo hemos logrado.

De un extremo al otro de las alas, corre una línea blancuzca u oscura, que imita la nervadura media de la hoja. Líneas laterales, muy mal trazadas por cierto, simularían las nervaduras. Además, sobre las alas de algunas de ellas se ven manchas plateadas, transparentes y oscuras, tan comunes en las hojas muertas. En una de estas especies, *Oxydia recurvaria* Herr-Sche (Lámina IV, Figura N° 7), el extremo de las alas superiores está deshilachado y

curvo como un pecíolo. Muy a menudo, una de las alas superiores está más o menos desgarrada, como es el caso en una de nuestras muestras fotografiadas; esta pérdida contribuye a hacer la imitación de las hojas más perfecta.

Si agregamos que la mariposa en reposo mete las antenas bajo sus alas y que el color de éstas corresponde a diversos tintes de las hojas muertas con sus manchas polícromas, tendremos una idea de esta imitación tan curiosa, en un medio constituido por una cantidad de pequeñas ramas que caen al suelo provistas, aún de algunas hojas.

El insecto se posa sobre las ramas; escogiendo en general una de las más delgadas. Ahí puede aprovechar de maravilla su porte extraño, pues para encontrarlo, hay que ir especialmente a buscarlo.

A pesar de que nuestras fotografías muestran el aspecto de las mariposas, y nos indican su parecido con las hojas, carecen de exactitud, pues en las ramazones, las ramas son más abundantes y las hojas bastante frecuentes. Otro defecto de la fotografía es la ausencia de manchas lineares laterales de las alas, pues su color violáceo no se imprime en la placa.

Lo que es interesante de recalcar aquí es que el parecido no es obtenido por el mismo procedimiento en los *Kallima* y en las otras mariposas-hoja conocidas. En efecto los *Kallima*, *Caerois*, *Coenophlebia* etc. toman el aspecto de las hojas cuando se posan en una rama con las alas elevadas, tocándose por la parte superior, es decir colocadas perpendicularmente al soporte. Nuestras *Oxydia*, por el contrario, logran un aspecto parecido extendiendo sus alas horizontalmente. En esas condiciones, la nervadura media de la pseudo-hoja pertenece a la cara superior de las cuatro alas, en lugar de pertenecer a la cara inferior de las dos alas de un mismo costado (*Kallima*, etc.).

Entre los hechos del mismo orden, mencionados por los autores, hemos encontrado solamente casos de parecido muy burdos, que se acercan más a la homocromía simple que a la verdadera homotipia. Tales son los casos señalados para los géneros *Gastropacha*, *Ilygaera*, *Gonoptera*, *Lasiocampa*, etc.

El esquema que hemos trazado da una idea de la forma de las alas, de la disposición de las líneas y de las manchas en las alas de las más notables "mariposas-hoja" (Figura N° 3 y 4).

Otra imitación, no menos notable, pero de un orden completamente diferente, es la que presentan ciertas mariposas, que, aunque pertenecen a diferentes familias, convergen en el mismo aspecto: una pertenece a la familia de las Pterophoridae (sub-fa-



FIGURA N° 3.—Disposición de las líneas y manchas en las alas de *Kallima* (a la izquierda) y de *Caerolis* (reducida un 50%).

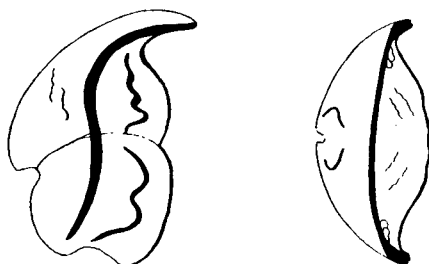


FIGURA N° 4.—Disposición de las líneas en las alas de *Coenophlebia* (a la izquierda) y de *Oxydia* (Reducida un 50%).

milia Agdistinae), la otra es una *Thyrididae*. Estas mariposas parecen pequeñas ramas transversales en forma de T insertadas en un tallo o en una rama cualquiera.

Las especies europeas de *Pterophorus* y otras similares ofrecen el mismo caso de semejanza. Un *Pterophorus* posado

sobre una ramita o sobre un tallo de hierba nos da la idea de una rama transversal, ya que sus alas (o más bien sus pedazos de alas, pues están cortadas en tiras) están superpuestas en forma tal que dan la apariencia de una larga y estrecha laminilla.

El caso de los *Agdistinae* es totalmente diferente, pues esas especies no tienen sus alas cortadas en tiras, son enteras, pero el animal las pliega en sentido longitudinal, de tal forma que cada par de alas situadas del mismo lado toma el aspecto de un largo y delgado cilindro, ligeramente curvo hacia sus extremidades en nuestra *Agdistinae* (Lámina IV, Figura N° 12).

La *Thyrididae* presenta el mismo hecho, pero sus alas no están curvadas.

El vuelo está bastante bien desarrollado en estas mariposas a pesar de que sus alas parecieran muy reducidas, ya que están plegadas, pero son en realidad bastante anchas.

Una de nuestras fotografías (Lámina IV, Figura N° 11) muestra el *Meskea dyspteraria* Grot, con un par de alas recogido y el otro extendido de manera que se pueda comparar el ancho verdadero y aparente de las alas. Esta especie presenta en el extremo de su abdomen un mechón de pelos; cuando la mariposa se posa sobre una rama, su abdomen se eleva y se mantiene perpendicular a la rama, hecho que, por otro lado, es muy común para un gran número de mariposas y para algunos dípteros como las típulas por ejemplo.

El color de estas mariposas es pardo grisáceo y semeja el de las ramas en que ellas pasan el día, durante el cual vuelan muy raramente.

III. MIMETISMO ESPECIFICO

Entre los pájaros costarricenses, conocemos un único caso de mimetismo específico, pero dudamos que tenga alguna utilidad para el animal.

Sin embargo, por sus dimensiones, su coloración y su manera de volar se puede constatar una similitud entre un penelópido, *Ortalida cinereiceps* Gray y un córvido, *Psilorhinus mexicanus* Rupp, ambos habitan las mismas localidades, siendo el córvido el más abundante.

Estos pájaros, sin ningún parentesco, tienen en común los siguientes rasgos: sus dimensiones son comparables a las de un

faisán; su torso está coloreado en sepia; el vientre cenizo, la cola bastante larga con el extremo de las plumas blanco.

Esta coloración de la extremidad de las plumas es evidente cuando el pájaro alza el vuelo, desplegando entonces su cola como abanico. El vuelo de estas dos especies es muy pesado y, en general, vuelan solamente de un árbol a otro. El pico y las patas de ambas especies son negruzcos e igualmente largos. Los individuos de las dos especies, se reúnen en bandadas poco numerosas.

El córvido es mucho más luchador que el *Ortalida* y, a veces, tres o cuatro individuos se unen contra los gavilanes que se encuentran en los alrededores.

Es preciso indicar, además, que el *Psilorhinus mexicanus*, exhala un olor bastante desagradable, al menos para el hombre.

El parecido entre pájaros pertenecientes a las familias Penelopidae y Corvidae, no ha sido señalado; pero es necesario más bien, repetimos, considerarlo como una semejanza fortuita y no como una imitación propiamente dicha.

Entre los reptiles, los casos más notables son probablemente aquellos proporcionados por las serpientes coral (Elapidae) y las otras serpientes inofensivas que poseen la coloración particular y exclusiva de las primeras. Esta coloración está constituida por anillos rojos y negros, a veces acompañados de amarillos.

En Costa Rica se encuentra una especie, *Elaps fulvius* Dum, que es una de las más características de nuestra fauna herpetológica. Esta serpiente, de una longitud media de cincuenta a setenta y cinco centímetros, presenta anillos rojos, negros y amarillos dispuestos de la siguiente manera: un largo anillo rojo, de cuatro centímetros más o menos, un anillo amarillo, uno negro y otro amarillo, esos tres con una longitud de un centímetro y medio, luego un anillo rojo y así continúa.

Otra especie inofensiva y del mismo largo, presenta una coloración idéntica, con la única diferencia de que la disposición de los anillos negros y amarillos está invertida, es decir, que un anillo amarillo está bordeado por dos negros. Esta especie, que es bastante frecuente en los lugares habitados por las *Elaps*, es *Erythrolamprus aesculapii* Linn.

La gran semejanza de estas últimas serpientes con las *Elaps* ha sido fatal para algunas personas, quienes teniendo por costum-

bre cogerlas han creído que todas las serpientes coral son inofensivas, hasta el momento que han topado con una *Elaps*. En este aspecto, creo interesante indicar una disposición que permite, hasta a las personas menos experimentadas en herpetología, distinguir en un abrir y cerrar de ojos las especies venenosas de las que no lo son: en las venenosas cada anillo negro está rodeado por dos amarillos; en las inofensivas cada anillo amarillo está rodeado de dos negros. Leonhard Stejneger (**The Poisonous Snakes of North America**) constató la exactitud de este hecho en 7 especies de América del Norte pertenecientes a los géneros *Lampropeltis*, *Cemophora*, *Osceola* y *Rhinocheilus*, las que presentan las mismas coloraciones que las de las especies de *Elaps* que viven en los Estados Unidos de América.

El gran grupo de los helicónidos, mariposas que escapan a los pájaros, como es sabido, gracias al líquido amarillento amargo y de pésimo olor del cual están provistas, presentan algunos casos de mimetismo dentro del mismo grupo. Géneros diferentes o especies diferentes del mismo género están coloreadas de tal manera que presentan el mismo aspecto general. Pero no nos detendremos en aquellos casos que son más bien una simple convergencia, un parecido fortuito, en vez de un caso de mimetismo.

Otras especies sobre todo los leptálidos, bastante alejadas de los helicónidos, presentan un gran parecido con estos últimos.

Nos detendremos en un único caso; se trata de un helicónido que es el más característico de la parte baja del Valle del Reventazón (uno de los ríos más grandes del país). Este *Heliconius* es completamente negro, llegando a medir a veces hasta un decímetro de envergadura. Esta mariposa tiene una franja transversal de un blanco puro en las alas superiores. En el mismo lugar encontramos, a veces, en una proporción de un dos por ciento más o menos, un *Leptalis* que presenta el mismo tamaño, el mismo color, y que tiene el vuelo muy lento y característico de los helicónidos. Las dos especies son muy visibles y a pesar de que atraen mucho la atención, jamás vimos a un pájaro atrapar una de ellas aunque viven justamente en un sitio

muy frecuentado por los Tyrannidae, que son, tal vez, los pájaros que causan los desastres más grandes entre los insectos de nuestras regiones.

Belt, en "**The Naturalist in Nicaragua**", cita el caso de un leptálido que perdió su coloración blanca, común en la familia, para tomar el aspecto de un helicónido.

La curiosa particularidad que presentaba este animal era que el macho tenía sólo la mitad superior de las alas inferiores coloreada en blanco y que él escondía esta coloración con la ayuda de las alas superiores. Sin embargo, durante la época del celo el macho, al aproximarse a la hembra, pone esta mancha en evidencia "*para satisfacer la preferencia que la hembra debe sentir por el color normal del grupo al que ella pertenece*".

En Costa Rica encontramos el *Leptalis nemesis* Lart, que presenta (únicamente durante el vuelo) el aspecto de un *Heliconius charitonia* L. Sus colores son negro y amarillo verdusco como los del *Heliconius*, pero la disposición de estas manchas es bastante variable y bien diferente de la de la especie que imita durante el vuelo; pero hay que hacer notar que el *Leptalis nemesis* tiene la cara inferior de sus alas únicamente visible en reposo, coloreada de un tinte que llama muy poco la atención.

Esta mariposa tiene, como el leptálido de Belt, (y como otras especies pertenecientes a otros géneros) la mitad superior de las alas inferiores coloreadas de blanco y esas manchas quedan siempre escondidas por las alas superiores; sin embargo, nunca hemos comprobado la puesta en evidencia de estas manchas blancas como ornamentos sexuales. No hay razón para insistir sobre la interpretación de Belt que tiende a suponer, en la hembra, el conocimiento de su genealogía.

Entre las mariposas nocturnas, se encuentran especies que presentan un líquido protector parecido al de los helicónidos.

La *Eucyane excellens* Walk es una de las más bellas mariposas nocturnas de América Central. Sus alas superiores son negras (salvo dos puntos rojos) atravesadas por una banda blanca. Cuando la mariposa se posa sobre una piedra, árbol o muro, no se ven más que esas partes que no tienen nada de particularmente admirable; por el contrario, toda la cara inferior

de las alas, lo mismo que la cara superior de las alas inferiores, está coloreada de una manera verdaderamente excelente en rojo, blanco y azul sobre fondo negro.

Cuando se captura una de estas mariposas y se le aprieta un poco, se escapa de su interior un líquido amarillo, amargo, de un olor repulsivo, que mancha los dedos; este líquido presenta, exageradas, las propiedades de los helicónidos.

En los mismos parajes, encontré una mariposa del género *Simena*, desprovista del líquido protector y que no posee tampoco la rica coloración de las alas inferiores como la *Eucyane*, pero esta mariposa presenta las alas superiores negras con la banda blanca, similar a la *Eucyane* y, como esta última, sus alas inferiores están exactamente recubiertas por las alas superiores. El parecido es, entonces, logrado de una manera tan perfecta que cuando se encuentra una mariposa de esas, no se sabe, antes de un atento examen, si se trata de uno u otro género.

Entre los coleópteros, los lícidos están también protegidos por un líquido interno. Este grupo es imitado por coleópteros longicornios, por himenópteros, hemípteros y también por mariposas; así, por ejemplo, el género *Calopteron* del grupo de los lícidos es imitado por mariposas que pertenecen a los géneros *Correbia* y *Dycladia*. Los lepidópteros que imitan a los himenópteros son casos muy frecuentes, mencionaremos solamente uno nuevo.

En una colección o sobre una lámina, la *Amycles anthracina* W.K. parece ser una mariposa de alas delgadas extendidas, coloreadas en negro, con la extremidad de las alas superiores blanca. El aspecto general de esta mariposa, así dispuesta, no deja sospechar que es un caso de imitación de otro insecto. Sin embargo, esta mariposa es uno de los casos de mimetismo específico más perfectos de nuestra fauna. En efecto, el tamaño y la coloración de la mariposa son los mismos que los de una de nuestras avispas, la *Parachartergus apicalis* Fabr, especie muy venenosa. Cuando la mariposa camina, lo hace lentamente, las alas entreabiertas y levantadas ligeramente como la avispa imitada. La encontramos una sola vez, nos la apropiamos con mucha precaución con ayuda de un pañuelo, pues la habíamos tomado por la avispa a la cual imita tan perfectamente. Una coloración semejante se encuentra en otros himenópteros.

Para terminar con las mariposas, diremos que muchas especies de *Macroglossa*, que revolotean sobre las flores sin posarse, presentan un gran parecido (citado como mimético) con los colibríes de nuestro territorio, pero esto es un simple hecho de convergencia, ya que las *Macroglossa* de Europa toman el néctar de la misma forma y en un continente donde no hay "pájaros-mosca".

Los dípteros que imitan a los himenópteros son muy numerosos. Un caso particular merece ser citado.

Sobre las enormes hojas de las aroideas del género *Colocasia*, que crecen en los charcos en Costa Rica, se encuentra una mosca, *Calobata* sp., que presenta la curiosa particularidad de colocar sus patas anteriores sobre su cabeza y las mueve de manera regular, muy rápida, como lo hacen ciertos himenópteros. Para este efecto, el primer par de patas tiene su primera articulación mucho más larga que la de las otras patas. Esta particularidad es bastante visible en la fotografía que incluimos (Lámina IV, Figura N° 9).

Cuando encontré este díptero, pensé que en el mismo lugar debía encontrar también un himenóptero parecido. Me puse entonces en su búsqueda, capturando todas las moscas de esta especie que pude encontrar; finalmente, entre una cantidad enorme de moscas, encontré un *Ichneumon* de aspecto comparable (Lámina IV, Figura N° 8).

Los trazos comunes de los dos insectos son los siguientes: cuerpo anaranjado, rojizo, alas transparentes, con estrías transversales en número de tres. Estas estrías están colocadas de la siguiente manera: una en el extremo del ala, otra cerca de la base y la tercera en el medio.

Las antenas del himenóptero presentan anillos anaranjados, amarillos y negros. Esta coloración es idéntica a la de las patas anteriores de la *Calobata* que coloca su cabeza y que agita como verdaderas antenas. En ciertas arañas se cita un caso parecido: la *Synagetus picata* que coloca sobre su cabeza su primer par de patas, como para imitar las hormigas.

En un bosque y en otro lugar completamente diferente encontramos más tarde otra especie de mosca que movía sus patas como la especie precedente. Pero aquí no encontramos

himenópteros con los que se les pudiese conectar. Hay que notar, por otro lado, que el número de individuos de *Calobata* es mucho más considerable que el de los individuos de la especie de himenóptero. No se ve fácilmente la ventaja que puede sacar el himenóptero de su parecido con un díptero; por otra parte, la rareza del *Ichneumon* no permite comprender la utilidad de la imitación por la *Calobata*.

En lo que concierne a las arañas, encontramos sobre los troncos de *Bursera gummifera* una especie de *Salticus* que imita a las pequeñas hormigas que corren sobre los mismos troncos.

Las hormigas suben y bajan, generalmente en largas filas, por el tronco de los árboles. Las arañas se juntan con éstas, sin que las hormigas se sientan incomodadas.

Los mosquitos se colocan sobre el tronco de los mismos árboles, sin desconfiar de las hormigas no carnívoras y sin sospechar la presencia del *Salticus*, éste se precipita de un golpe sobre los mosquitos y los devora.

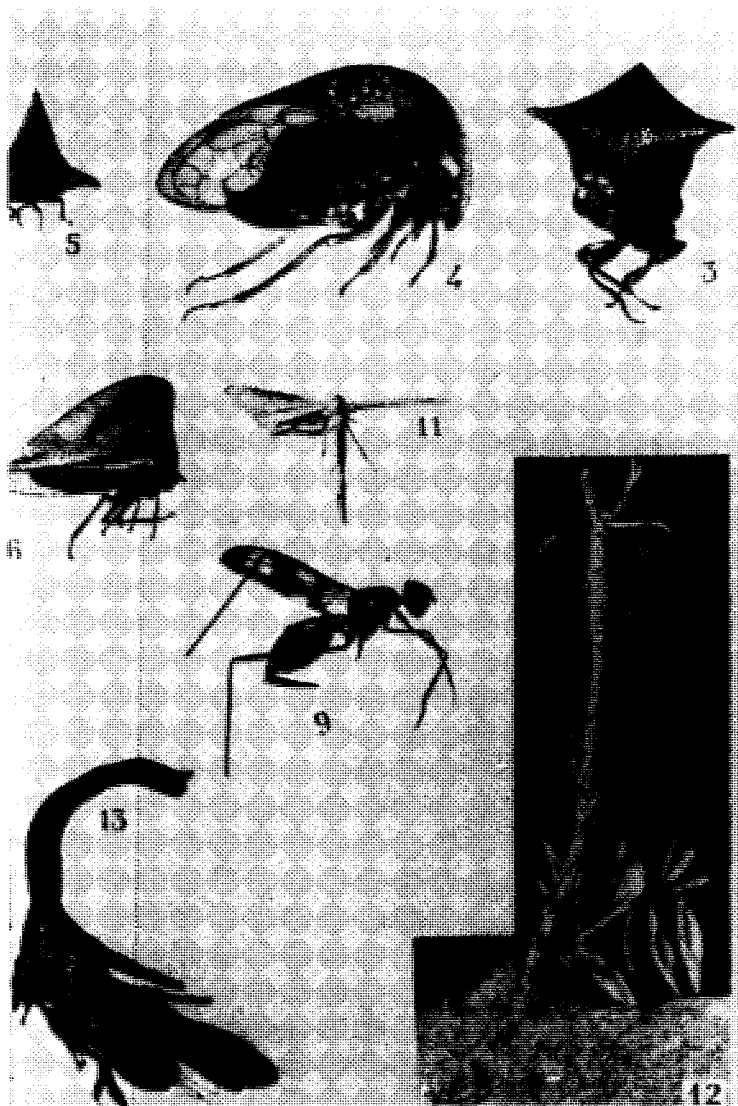
Antes de saltar sobre el díptero, la araña fija su tela al tronco del árbol. Así, cuando se encuentra en el aire con su presa, (por la violencia del salto), vuelve a caer un poco más abajo, pero siempre sobre el mismo tronco, condición que no se lograría si la araña no estuviese atada por el hilo.

Para terminar quiero manifestar mi gratitud al personal del Laboratorio de Evolución de los Seres Organizados, quienes con extrema bondad, me ayudaron en el estudio de mi colección.

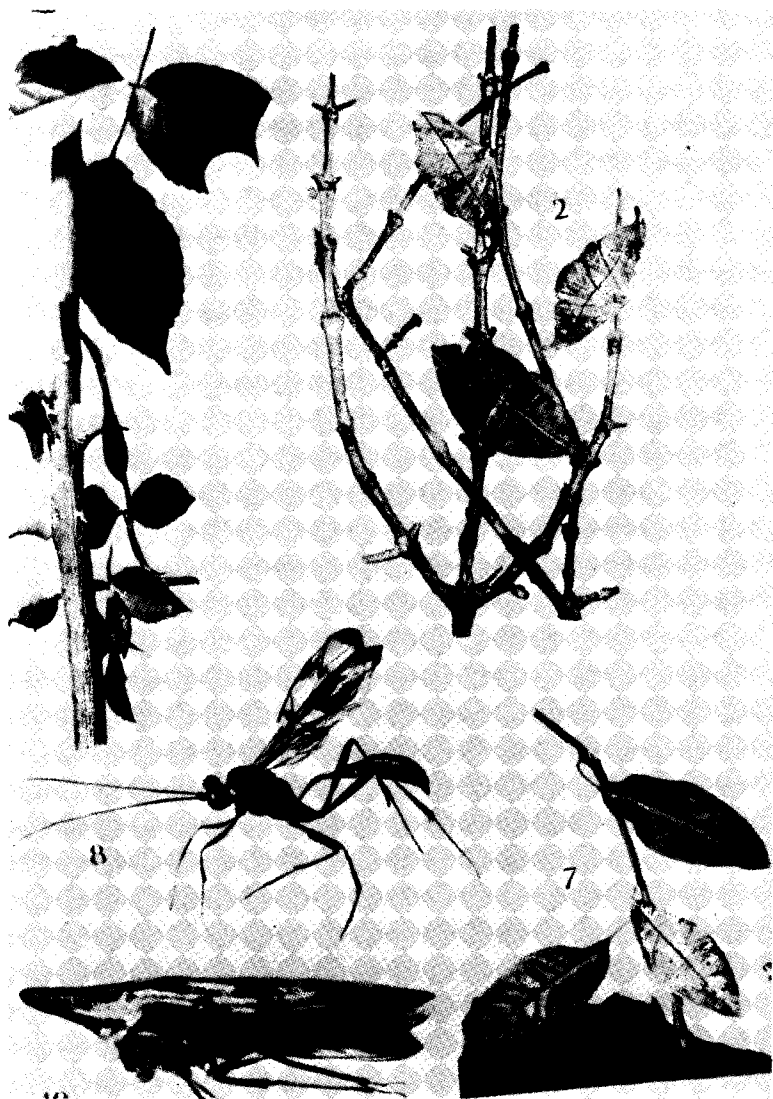
París, Marzo de 1910

Explicación de la lámina IV

- Figura Nº 1.— *Umbonia orozimbo* Fairm sobre la rama de *Rosa indica* . (Tamaño natural).
- Figura Nº 2.— Dos *Oxydia recurvaria* Herr-Sche y otra *Oxydia* sobre las ramas muertas. (50% reducción).
- Figura Nº 3 y 4.— *Ceresa* vista de frente y de lado. (Aumento lineal=6).
- Figura Nº 5 y 6.— *Antianthe expansa* Stal de frente y de lado. (Aumento lineal=4).
- Figura Nº 7.— *Oxydia recurvaria* con la extremidad inferior de su ala superior perdida. (Reducción al 50%).
- Figura Nº 8.— *Ichneumon* de las hojas de *Colocasia*. (Aumento lineal=3).
- Figura Nº 9.— *Calobata* que presenta el aspecto del *Ichneumon* precedente; las patas anteriores simulan las antenas. (Aumento lineal=3).
- Figura Nº 10.— *Polyglypta costata* Burm. (Aumento lineal=6).
- Figura Nº 11.— *Meskea dyspteraria* Grot con un par de alas plegadas, como en el estado de reposo, y el otro par desplegado. (Tamaño natural).
- Figura Nº 12.— *Agdistinae* representando una rama en T y *Antianthe expansa* Stal, (dos individuos) sobre una misma rama con hojas.
- Figura Nº 13.— *Sphongophorus* de *Ipomoea*. (Aumento lineal=6).



LAMINA IV. A.—Animales miméticos de Costa Rica
Fotógrafo C. Picado



LAMINA IV. B.—Animales miméticos de Costa Rica
Fotógrafo C. Picado

SOBRE UN NUEVO HABITAT DE LOS *PERIPATUS*

Se sabe que los Onicóforos son animales nocturnos y extremadamente lucífugos. Durante el día, se ocultan bajo viejos troncos de árboles podridos o bajo hojas muertas. Durante la noche, se dedican a la caza de insectos de los cuales se alimentan.

En el transcurso de nuestras investigaciones sobre la fauna de las bromeliáceas epífitas, encontramos el *Peripatus Biolley*. Bouv¹ en una bromeliácea del género *Vriesea*. El animal se encontraba en la parte periférica de la planta, entre las hojas, en los intervalos que anteriormente contenían agua, y que actualmente tenían detritus vegetales húmedos retenidos por las hojas. La parte periférica de las bromeliáceas está, por su lado, cargada de hojas muertas. Así, el *Peripatus* encuentra en el interior de la planta la humedad, la oscuridad y las sustancias orgánicas en vía de descomposición necesarias.

La fauna entomológica, bastante abundante en las bromeliáceas, puede suministrarle alimentación adecuada.

Nuestro *Peripatus* proviene de "La Estrella", selva virgen situada a 2000 m de altura y que forma uno de los puntos extremos de la vertiente atlántica de Costa Rica.

NOTAS

1. M.E.L. Bouvier tuvo la gentileza de determinarnos esta especie y deseo expresarle mi más profunda gratitud.

BOTANICA: LAS BROMELIACEAS EPIFITAS COMO MEDIO BIOLOGICO

La familia de las bromeliáceas presenta un gran número de especies epífitas que a veces cubren los árboles desde la base hasta las ramas más altas. Toda la familia pertenece exclusivamente a la América intertropical.

El grupo de las bromeliáceas epífitas constituye un medio biológico muy característico.

Las bromeliáceas epífitas, en efecto, conservan agua y detritus orgánicos entre sus hojas apretadas las unas contras las otras y a veces prolongadas en sus bases en forma de cuchara. El conjunto constituye pequeños charcos con paredes vegetales sostenidos por las ramas de los árboles y elevados a menudo a 50 m de altura, y aún más.

Todos los autores que se han ocupado de las bromeliáceas epífitas han considerado a estas plantas como simples depósitos de agua de lluvia y polvo. Si tal fuera el origen de los charcos de las bromeliáceas, serían de todas maneras bastante diferentes de los charcos terrestres; por su disposición sobre las ramas, sus condiciones de iluminación, sus reducidas dimensiones y la pureza de su agua. Tan solo esto permitiría considerarlos como un hábitat *sui generis*, como un medio biológico digno de estudio; pero no se han indicado otras condiciones propias de las bromeliáceas epífitas.

El agua que es recogida por estas plantas no es solamente agua de lluvia, sino también agua proveniente de una condensación diaria y en el sitio mismo del vapor de agua atmosférico, de manera que las bromeliáceas la contienen aún durante la estación seca y aún cuando las ciénagas terrestres se han secado. Los detritus contenidos por estas plantas no sufren

una verdadera putrefacción, a pesar del muy reducido espacio en que pasan algún tiempo, pero sí una transformación en una sustancia parda, ligera, parecida al cartón.

Se puede entonces caracterizar al medio bromeliano de la siguiente manera: *Pantano permanente, elevado por encima del suelo, con agua proveniente de una condensación en el sitio mismo del vapor de agua atmosférico, con sedimento celulósico y ausencia de putrefacción.* Si ahora nos damos cuenta de la gran superficie cubierta de selvas que existe en la América intertropical, y de la gran cantidad de bromeliáceas fijas sobre los árboles, veremos que el conjunto de las bromeliáceas epífitas forma una gran ciénaga fraccionada, extendida por toda la América intertropical e incluso una de las más grandes del mundo; es un medio que presenta, para los animales, condiciones diferentes a aquellas ofrecidas por todos los otros medios. Este ha sido hasta ahora muy poco estudiado, puesto que no se han señalado más que dos lombrices, una larva de libélula, algunas larvas de culícidos y algunos otros artrópodos.

La mayor parte de los insectos cuyas larvas habitan en las bromeliáceas no tienen una época de puesta determinada, pues se encuentran larvas de todas las edades en las diferentes épocas del año.

Durante todo un año, he explorado en Costa Rica las bromeliáceas epífitas, con la intención de establecer la fauna que en ellas habita. Así he recogido muchas especies repartidas entre casi todos los grupos, desde los batracios anuros hasta los protistas. (Estos animales se encuentran distribuidos entre los especialistas que se encargan de identificarlos).

Algunas preguntas pueden hacerse a propósito del origen y diseminación de la fauna bromelícola. ¿Son estas especies exclusivas de las bromeliáceas? ¿Vienen del suelo y las ciénagas terrestres? ¿Qué camino siguen para subir hasta las bromeliáceas? ¿Cómo pasan de una planta a otra? Si se considera aisladamente un grupo cualquiera de estos animales, puede suponerse que su presencia en las bromeliáceas se debe a una causa puramente accidental: huevos transportados por los pájaros (lombrices), por el viento (copépodos), etc. Estos no son más que los factores accidentales y si se nota que la fauna de

las bromeliáceas es siempre constante, hay que admitir causas más generales, dando cuenta del conjunto de la fauna.

Me parece demasiado obvio obtener la explicación utilizando únicamente los hechos relativos a la vida de las bromeliáceas y a las circunstancias locales. Las semillas salidas de las bromeliáceas caen generalmente abajo del vástago padre. Los nuevos individuos serán fácilmente infestados, si una de las viejas plantas situadas arriba y ya infestada se vuelca, cae o disgrega.

Por otra parte, estos vástagos nacidos en un nivel inferior, son con frecuencia fijados sobre ramas con crecimiento intercalar bastante pronunciado; por consiguiente, estos vástagos ganan altura; sus semillas caídas darán otras generaciones que podrán ser infestadas por sus padres, y se continúa así. Por otro lado, las bromeliáceas se reproducen igualmente por brotes, nacidos entre las hojas que retienen el agua. Entre las jóvenes hojas de esos brotes, serán retenidos casi todos los individuos del vástago padre; más tarde los brotes hechos adultos darán otros brotes. Al cabo de un cierto tiempo, estando muerto el vástago padre, habrá varios vástagos independientes, habiendo todos conseguido su fauna de una sola cepa.

En tercer lugar, las lianas pasan de un árbol a otro transportando las bromeliáceas a las cuales sirven de soporte.

Conviene añadir que cuando las bromeliáceas están amontonadas, puede haber migración activa y fácil de ciertos animales (lombrices, gasterópodos, copépodos, etc.). Dejando de lado los accidentes, el origen primario de esta fauna puede explicarse de la siguiente manera:

Durante la estación de lluvias, los terrones son arrastrados por los numerosos torrentes temporales tan frecuentes en los trópicos. Dichos torrentes arrojan la tierra mezclada con toda clase de productos del suelo sobre las copas de los árboles, que a menudo están en terrenos escarpados y sobre las cuales caen los torrentes; una parte de los animales o una parte de los huevos arrastrados por el agua caerá entre las hojas de numerosas bromeliáceas y así comenzará el poblamiento.

BOTANICA.—SOBRE LA NUTRICION EN LAS BROMELIACEAS EPIFITAS

En una nota anterior mostramos que las bromeliáceas epífitas retienen en forma constante cierta cantidad de agua, formando charcos poblados de una rica fauna.

En el transcurso de nuestras investigaciones, efectuadas en Costa Rica entre 1910 y 1911, constatamos muchas veces el siguiente fenómeno: en el momento en que las bromeliáceas van a florecer, se produce una secreción gomosa en la base de las hojas más internas. Si la planta se daña, esta goma fluye en forma abundante; se solidifica y presenta entonces una consistencia gelatinosa.

Frecuentemente se encuentran envueltos en esta goma, animales fitófagos (coleópteros, acáridos, larvas de membracidos, etc.) y también larvas de insectos no fitófagos, que por lo general, viven en el agua retenida por las bromeliáceas.

Los animales, una vez cubiertos por la goma, quedan aprisionados y mueren. Caen entre los detritus retenidos por la planta. Estos detritus, vegetales y animales, no sufren putrefacción; el agua almacenada por las bromeliáceas no despidе ningún mal olor y frecuentemente se le usa en la montaña para beber.

Nos propusimos investigar lo que ocurría con los cadáveres de los animales muertos en la planta y hasta qué punto estos servirían a su nutrición.

A.—Un primer hecho bien establecido es que **las bromeliáceas epífitas se alimentan de los detritus retenidos entre sus hojas**; la absorción de las sales minerales contenidas en el agua guardada por estas últimas se lleva a cabo gracias a las escamas foliares de estas plantas.

Fue Schimper quien, después de una serie de experimentos que comenzaron en 1884, mostró este hecho. Estos estudios fueron continuados por Goëbel, Mez, Müller, Groom, Aso, etc.

Su método consistía en comprobar, por dosificaciones, la disminución de concentración de una solución salina colocada entre las hojas de la planta, o en buscar en los tejidos de la hoja estos elementos minerales, sea por medio de reacciones microquímicas, o bien por análisis espectral (Aso). Las investigaciones precedentes a menudo se hicieron con soluciones tóxicas o muy concentradas, y a veces con hojas cortadas.

Rehicimos estos experimentos usando soluciones a baja concentración y plantas vivas en buen estado.

Por medio de este método pudimos comprobar que los elementos minerales desaparecen completamente del agua retenida en las hojas y que no se encuentran los productos de desdoblamiento a los cuales habrían podido dar origen.

Por otra parte, el análisis químico de los detritus retenidos en las bromeliáceas de la montaña virgen (análisis que M. Michaud tuvo la amabilidad de hacer por mí) mostró que estos detritus casi no contienen sales minerales.

Si se toma en cuenta la existencia de este poder absorbente y del hecho que, en cientos de plantas examinadas, siempre encontramos gran cantidad de cadáveres de animales, uno se puede hacer la pregunta de si la planta no absorbe, además de las sales minerales, los compuestos ternarios o albuminoides provenientes de la descomposición de estos cadáveres; y cuál es la forma por la cual estos productos de desdoblamiento son absorbidos. ¿Es este desdoblamiento el resultado de acciones microbianas solas o no se debería, al menos en parte, a las diastasas provenientes de la planta?

B. Pusimos en evidencia los siguientes hechos:

La goma, proveniente del lavado de las jóvenes inflorescencias de las bromeliáceas epífitas (constituida según Michaud en un 77 % de basorina y 23% de arabina entre otras sustancias solubles) **posee un doble poder diastásico:**

1. Transforma el engrudo de almidón en glucosa;
2. Transforma los albuminoides en peptonas y aminoácidos.

Estas transformaciones se deben a la acción de una amilasa y de una tripsina y se producen, en efecto, cuando se agrega 1% de fluoruro de sodio al líquido gomoso. Los tubos de ensayo, que contienen la sustancia que se va a digerir y agua fluorizada no son asiento, durante el mismo período, de ninguna transformación. El líquido gomoso calentado de 70° a 75° pierde su poder diastásico.

Para asegurarnos que la acción peptonizante se debía a una diastasa y no a la acción de los *microbios vivos*, dosificamos los aminoácidos liberados durante la digestión artificial (procedimiento de Sørensen)¹: si los aminoácidos aumentan en forma regular en el curso de una digestión artificial, es que ésta se realizó por microbios; si, por el contrario, la producción de estos ácidos disminuye, y luego se detiene, es que se trata de una diastasa soluble.

En nuestros experimentos comprobamos que la producción de los aminoácidos se detiene a las 46 horas, a 35° aproximadamente; se trata pues de una diastasa y no de microbios vivos.

C. Finalmente demostramos que **la planta absorbe los aminoácidos producidos**. Para esto colocamos, entre las hojas de una bromeliácea y en un tubo de ensayo, una misma solución de peptona. Al cabo de 48 horas no se encuentran más trazas de peptona en el agua de la bromeliácea, mientras que el tubo testigo ofrece las reacciones características. Sin embargo, se encuentra, en el primer caso, el doble de aminoácidos de los que ofrece el tubo testigo. Al tercer día casi no se encuentran aminoácidos en el agua de la planta. Al cuarto día todo fue absorbido por la bromeliácea; el líquido ya no tiene otras sustancias nitrogenadas. Entonces es bajo forma de aminoácidos que las sustancias proteínicas son absorbidas por las bromeliáceas epífitas.

Los fenómenos que ofrecen las bromeliáceas epífitas no están en desacuerdo con los hechos establecidos para otros

vegetales: la absorción de amidas ya se conocía; Lefèbre mostró que las raíces de las fanerógamas las pueden absorber y Palladine mostró que las hojas absorben los aminoácidos. Las sustancias ternarias son absorbidas también por las plantas; Molliard estableció que las raíces pueden absorber los azúcares. La producción de diastasas es también un hecho bien conocido en las plantas. La piña, que pertenece a la misma familia de las bromeliáceas, encierra una papaína muy activa.

Lo que hay de notorio en las bromeliáceas epífitas es que estas plantas ofrecen en su más alto grado los siguientes fenómenos:

1. Absorben, no solamente las sales minerales, sino también las sustancias ternarias y proteínicas provenientes de la digestión de detritus vegetales y animales retenidos entre sus hojas;
2. Son las únicas plantas que se alimentan habitualmente de estos detritus;
3. Una bromeliácea constituye un verdadero dializador que toma constantemente de los charcos formados entre sus hojas todos los productos de descomposición que podrían perjudicar a los animales acuáticos que viven en estos charcos.

NOTAS

1. Este procedimiento, que nos aconsejó el señor G. Bertrand, era el único práctico. En efecto es imposible filtrar con filtro de porcelana el líquido gomoso, y la precipitación de la diastasa exige grandes cantidades de goma fresca que no pudimos procurarnos.

LA HISTORIA DE LOS TORSALOS BOVINOS

París, 28 de agosto de 1913

Señor Director de «La Información»

Considerando los recientes artículos sobre el «tórsalo», publicados en el periódico que Ud. dirige, he creído útil resumir en unas pocas líneas los actuales y *únicos* conocimientos que poseemos sobre la biología de los tórsalos. La intención que me anima es la de poner en conocimiento de las personas interesadas en este asunto, un cierto número de documentos que no existen en el país y que pueden sugerir nuevas investigaciones, que son, como veremos, necesarias para llenar las múltiples lagunas que existen en el conocimiento de la biología de los tórsalos.

Espero que su periódico acogerá hospitalariamente las líneas que siguen. Le doy por ello mis agradecimientos anticipados y quedo

S.S.,

C. Picado

Especies que producen el tórsalo bovino

Los tórsalos del buey son producidos, al menos, por tres especies de moscas, (Oéstridos):

Hypoderma bovis de Geer, especie que habita Europa, Asia, África y Norte América.

Hypoderma lineata Villers, característica de Norte América y que vive además en Europa.

Dermatobia cyaniventris Macquart (sinónimo de *Dermatobia noxialis* Goudot). Especie propia de la América Central y del Sur.

Evolución de las larvas

Aunque los *hipoderma* del ganado vacuno no han sido aun señalados en Centro América, bien puede suceder que su presencia sea ignorada debido a la falta de investigaciones o bien que estas especies sean importadas en el porvenir. En uno u otro caso el conocimiento de la evolución de estas especies es necesario, por tanto, resumo a continuación la historia de su biología.

Migen en 1824 supone que las moscas introducen *directamente* los huevos en la piel de los animales. Esta suposición fue desechada inmediatamente después que se comprobó que *ninguna de todas las moscas que componen la familia posee un obis-capto perforante*.

Brauer en 1863 constata que una larva de *Oestromya* (otro género de la familia) penetra a través de la piel de su brazo; generalizando la observación, concluye que las larvas de las otras moscas de la familia se introducen inmediatamente después de la eclosión en la piel del mamífero huésped.

Henrichsen en 1888, encontrando una larva de *Hypoderma* en el canal raquídeo de un buey, emite la hipótesis de la *penetración por vía digestiva*

Curtice en 1890 encuentra gran número de pequeñas larvas de *Hypoderma lineata* en el tubo digestivo de los animales; constata su paso a través del tubo digestivo y órganos vecinos y establece entonces que el ciclo evolutivo de esta mosca es el siguiente: los huevos son depositados sobre la piel del animal, éste, al lamerse introduce los huevos, o larvas recién nacidas, en la cavidad bucal; de allí pasan al esófago que perforan, después de haber vivido en él cierto tiempo, para emigrar hacia la piel en que constituyen el tumor característico.

Koorevaar en 1896 y Jost en 1897 constatan, por su parte, el paso de estas larvas a través del esófago del buey.

Carpenter en 1910 comunica al Congreso Internacional de Entomología, celebrado en Bruselas en ese año, los resultados de seis años de investigaciones sobre destrucción del tórsalo y sobre su biología. Estas investigaciones fueron llevadas a cabo por Carpenter, Steen, Prendergast y Corson bajo los auspicios del Departamento Irlandés de Agricultura que puso a la disposición de estos naturalistas una cantidad considerable de animales entre los cuales el número de tórsalos ascendía, a veces hasta 27 por cabeza. Según estos autores, la infección del tórsalo se hace sólo por vía digestiva; en efecto, los animales a los cuales se impidió lamerse, gracias a un bozal adecuado, no fueron prácticamente parasitados, mientras que los otros que estuvieron junto con ellos, mas sin llevar ningún bozal, sufrieron enormemente. Otra serie de investigaciones demostró que los baños e irrigaciones dérmicas no impiden, de una manera apreciable, el desarrollo de las larvas de *Hipoderma*.

Vaney en 1911 se ocupa nuevamente de la cuestión; efectúa sus investigaciones en los mataderos de Lyon en bueyes parasitados por *Hipoderma bovis* de 13 a 21 por ciento y constata que la infección se hace por las vías digestivas y que el ciclo evolutivo de *Hipoderma bovis* es en todo comparable al de *Hipoderma lineata* cuya biología fue conocida gracias a los trabajos del zoólogo americano Cooper Curtice.

En lo que respecta a la biología de *Dermatobia cyaniventris*, que es la mosca causante del tórsalo de la América Central, he aquí su historia:

La Condamine en 1749 es el primero que señala la presencia de un tórsalo en América.

Arture en 1757 señala como huéspedes de estas larvas a ciertos monos, caballos, perros, gatos, aves y hombres.

Linne en 1781 cuenta que la mosca pone uno tras otro los huevos, o larvas vivas sobre la piel y que el «gusano» se introduce de seguida, dando al cabo de medio año un insecto perfecto.

En 1822 el Dr. Drick se siente picar por un insecto al tomar un baño al aire libre; durante varios días sintió una fuerte picazón que se tornó luego en agudos dolores. Al cabo de tres semanas extrajo un tórsalo.

Goudot en 1845 recoge en Colombia las larvas de tórsalo que caen del ganado, las hace desarrollar y obtiene una mosca que denomina *Cuterebra noxialis*.

En 1860 el Dr. von Frantzius envía a Grube una larva de tórsalo extraída de un hombre en Costa Rica. Grube la describe y da una figura. El autor hace notar que esta larva es *diferente de las otras larvas de tórsalo*.

Blanchard en 1896 estudia comparativamente las larvas atribuidas a *Dermatobia cyaniventris* y las considera como pertenecientes a *Dermatobia noxialis* y establece que no son sino dos estados de una sola especie, de allí la actual sinonimia. El mismo autor en 1900 estudiando los zancudos del género *Janthinosonia*, constata que uno de ellos (*F. Latzi theobaldi*), tenía adheridos al cuerpo unos huevecillos que encerraban larvas ya formadas cuyos caracteres concuerdan con los de *Dermatobia cyaniventris*.

En 1912 el Dr. Núñez Tobar de Venezuela envió a Surcouf del Museo de Historia Natural de París, un material compuesto por zancudos portadores de huevos, larvas y moscas (obtenidas por la cría de larvas), cuyos caracteres corresponden a los *Dermatobia cyaniventris*. El Dr. Núñez Tobar dice haber logrado la producción de tumores haciendo picar varios mamíferos por los zancudos portadores de huevos. En ese tiempo las larvas abandonarían el huevo y caerían sobre la piel del mamífero; la envoltura del huevo estando rota ya.

En 1913 el Dr. González Rincones de Caracas envía a Surcouf nuevos zancudos portadores de huevos y asegura que la *Dermatobia* pone sobre las hojas y que allí es donde los huevos se adhieren al zancudo que viene a posarse en ella. No hay pues necesidad de que la mosca, del tamaño de una abeja, se ponga a caza de un minúsculo zancudo para depositar en él sus huevos. Esta peregrina historia fue contada por el Dr. Morales de Costa Rica a los profesores Blanchard y Brumpt.

Los diversos huéspedes de los tórsalos

Es de particular interés el conocimiento de los huéspedes naturales de los tórsalos y cuales son los huéspedes secundarios

o adaptivos. Esto no solamente por un interés biológico sino también por un interés práctico, pues conociendo la distribución geográfica de estos huéspedes puede saberse, de seguro, la distribución geográfica del tórsalo. Se puede también tratar de descubrir los huéspedes naturales que propagan y hacen subsistir la plaga, a pesar de la lucha establecida contra la infección de los animales domésticos. Con respecto a los tórsalos europeos y de Norte América estos conocimientos son casi inútiles pues los *Hipoderma* parecen estrictamente adaptados al ganado vacuno y las infecciones humanas o las de otros animales deben ser consideradas más bien como un accidente. En cuanto a *Dermatobia cyaniventris* el caso es diferente; ha sido en efecto, encontrada en el jaguar, el puma, en venados y conejos. Estos son sus huéspedes naturales conocidos hasta ahora. Una multiplicación exagerada o una emigración de cualquiera de estas especies trae como consecuencia natural una invasión inusitada de tórsalos. Esto último es quizás lo que está pasando actualmente en Costa Rica.

Crítica de los últimos trabajos sobre la biología de los tórsalos

La biología de las *Hipoderma* aparece definitivamente establecida. En lo que concierne a las *Dermatobia* el caso es del todo diferente. Según las últimas publicaciones, cuyo resumen dejo ya hecho, el ciclo de *Dermatobia cyaniventris* sería el siguiente: la mosca pondría sobre una hoja, un zancudo que llegue allí transportará los huevos que dejarían caer, cuando el zancudo pica a un mamífero, las pequeñas larvas que contienen, sobre la piel de este último. Las larvas así transportadas penetrarían a través de la piel y se desarrollarían allí. Si meditamos un instante vemos que *nada prueba que este modo de infección sea normal*.

Si los huevos puestos en las hojas son capaces de quedar pegados a un zancudo con mayor razón se pegarán a la piel de un animal que roce al pasar la hoja en que yacen. Si los zancudos son los transportadores de huevos y los tórsalos son tan abundantes, debería encontrarse gran número de zancudos hembras portadores de huevos, pues es bien sabido que los machos no pican. Tal no es el caso.

La transmisión por un zancudo no será sino un procedimiento accidental que explicará cuando más, por qué ciertas personas aseguran haber sido picadas por un mosquito al ser infectadas por el tórsalo.

Hay que pensar además en otra cosa: ¿Son todos los tórsalos producidos por *Dermatobia cyaniventris*? Yo no lo creo por tres razones poderosas.

1ª—Barret en 1906 señala en México la presencia de *Dermatobia hominis*, encontrada, como su nombre lo indica en el hombre;

2ª—Las larvas del tórsalo de Costa Rica estudiadas por Grube difieren, según este autor, de las otras larvas de *Dermatobia*;

3ª—Yo conozco *Dermatobia cyaniventris* que no es peluda sino parecida a las moscas llamadas «Querezas». Su abdomen de color de acero pavonado la caracteriza perfectamente. Ahora bien, yo recuerdo haber recogido en las ventanas de Costa Rica un hermoso *Oestrído* de colores metálicos brillantes, quizás un *Dermatobia*, en todo diferente de la *Dermatobia cyaniventris*. Esta especie que no es una *Chrysomya* (moscas de gusaneras) ni tampoco una *Hypoderma* ni una *Cuterebra* (tórsalo de ardilla), tenía el abdomen lleno, no de huevos, sino de larvas. (Recordemos que otros *Oestrídos* conocidos son larvíparos).

Es pues necesario, para conocer los tórsalos del país hacer numerosas crías de larvas para obtener las moscas y luego estudiar éstas en el campo.

La evolución de los tórsalos es pues un capítulo de biología esbozado apenas.

REACCION DE FIJACION PRACTICADA CON EL SUERO ANTIBUEY Y ALEXINA DE CERDO

Llamado a practicar reacciones serológicas y en particular la reacción de fijación, en nuestro país natal (Costa Rica), donde los carneros son muy raros y los cobayos importados a menudo diezmados por enfermedades epidémicas, preparamos un suero hemolítico antibuey e investigamos si el suero fresco de cerdo¹ podía reemplazar la alexina de cobayo en la búsqueda clínica de anticuerpos específicos.

Consignamos aquí los resultados de nuestras observaciones, creyendo que pueden ser útiles a los investigadores que se encuentren en las mismas condiciones de trabajo que nosotros.

Primero verificamos si el suero de cerdo hemolisaba por sí mismo los glóbulos de buey. Sobre 24 muestras de suero de cerdo, en 16 oportunidades un décimo de suero no hemolisaba ni siquiera un décimo de glóbulos de buey (al 5 por ciento); dos sueros dieron un índice hemolítico de un medio; los 6 últimos el índice de 1. La mezcla de 3 sueros de cerdo en ningún momento dio una apreciable hemólisis de glóbulos rojos de buey.

El suero de cerdo es, como se sabe, mucho más pobre en alexina que el suero de cobayo; 0,1 centímetro cúbico de suero de cerdo no diluido, hemolisa de 0,6 a 0,8 glóbulos vacunos sensibilizados. El contenido del suero de cerdo en alexina es bastante constante².

Preparamos nuestro suero hemolítico antibuey (obtenido por inyecciones repetidas de glóbulos vacunos en conejo) de manera que 1 centímetro cúbico de glóbulos rojos sensibilizados fuera hemolizado en 20 minutos a 37°, en presencia de 0,1 de alexina pura de cerdo (en un volumen total de 3 centímetros cúbicos).

Habiendo sacado así el suero hemolítico antibuey, estudiamos una centena de sueros de enfermos presumiblemente sífilíticos y algunos sueros hidáticos comparativamente con los sistemas hemolítico antibuey y anticarnero, siguiendo la técnica racional de Weinberg.

Desde el inicio de nuestras investigaciones constatamos que el antígeno hidático no posee ningún poder anticomplementario frente a la alexina de cerdo; lo mismo que para el antígeno sífilítico (extracto alcohólico de hígado heredo-sífilítico). Este se muestra fuertemente antialéxico en los tubos testigo en los cuales no se pone suero para examinar. Una serie de experimentos nos demostró que esta propiedad antialéxica del antígeno sífilítico desaparece, si se agrega, en el tubo testigo, una pequeña cantidad de una sustancia albuminoide, como suero humano calentado, suero porcino calentado u ovalbúmina. Guiados por esta indicación, diluimos nuestro antígeno sífilítico no en agua fisiológica, sino en suero calentado de cerdo, el cual presentaba la ventaja de no contener ni sensibilizatriz antibuey, ni sustancias anticomplementarias frente a la alexina del suero fresco de la misma especie.

La reacción de fijación practicada con este antígeno da, con el sistema hemolítico antibuey, los mismos resultados que se obtienen con un antígeno diluido en agua fisiológica empleado con el sistema hemolítico anticarnero.

CUADRO N° 1.—Resultado de los experimentos.

Grupo	N° de casos	Técnica de Weinberg		Reacción con suero antibuey y alexina de cerdo
		Procedimiento rápido	Procedimiento lento	
I	43	—	—	—
II	44	+	+	+
III	4	—	+	+
IV	5	+	—	—
V	2	+	+	débil
VI	2	+	+	—

El Cuadro N° 1 resume nuestros experimentos. Vemos que en 98 casos sobre 100, coincidieron los resultados obtenidos por la técnica racional y la nuestra. Únicamente en dos casos obtuvimos resultados discordantes.

Es posible que esos dos sueros humanos encerrasen excepcionalmente una gran cantidad de amboceptores antibuey. Desgraciadamente no nos sobró suficiente suero para verificar esta hipótesis. Observemos además que los resultados discordantes obtenidos por el proceso rápido en el grupo III (4 casos) y el grupo IV (5 casos) se deben, en el primer grupo, al índice hemolítico muy elevado del suero fresco, y en el grupo IV, al poder hemolítico muy débil del suero estudiado. Esos hechos muestran una vez más que es peligroso fiarse de los resultados obtenidos por el procedimiento rápido únicamente.

(Instituto Pasteur, Laboratorio del Sr. Weinberg)

NOTAS

1. En nuestros mataderos no se sacrifican más que bueyes y cerdos.
2. Recalcamos que hemos encontrado sueros humanos anticomplementarios para la alexina de cobayo y completamente inactivos para la de cerdo. A la inversa, ciertos sueros humanos pueden fijar la alexina de cerdo, siendo inactivos frente a la de cobayo.

APLICACION DEL METODO DE HERELLE EN COSTA RICA

C. Picado T.
F. Sancho J

Sr. Ministro de Fomento
Lic. Don Alberto Echandi

*Al informar a Ud. del resultado de las experiencias que Ud. nos encomendó con el objeto de buscar los medios más prácticos para establecer en nuestro país el sistema d'Herelle para la destrucción de la langosta, creemos conveniente tratar ciertos puntos de la biología del insecto y de la etología de la enfermedad causada en ellos por el **Coccobacilo** y que no deben nunca perderse de vista si se quiere llegar al resultado eficaz obtenido en los países en que el sistema de Herelle ha sido debidamente empleado. ⁽¹⁾*

I. EL METODO DE HERELLE PARA LA DESTRUCCION DE LA LANGOSTA

Biología del Insecto

Si nos atenemos a la idea sustentada por Alfredo Giard y otros biólogos franceses, la especie de langosta que invade los diversos territorios de la América Tropical sería cuando más una variedad del gran acridio migratorio del viejo mundo: *Schistocerca peregrina* Olivier y conocido por los entomólogos con el nombre de *Psh. americana* Drury. En efecto, la biología de los dos insectos es absolutamente igual.

La hembra pone hasta once veces en diversos lugares y cada postura comprende de 30 a 60 huevos, éstos nacen de 15 a

40 días, pero como se conocen casos en que han resistido hasta un año, dando lugar al nacimiento de la larva, debemos saber que una invasión de langosta significa por lo menos dos años de trabajo sistemático si se quieren disminuir los estragos que causa.

Las larvas o saltones duran de 40 a 60 días en los cuales sufren cinco mudas que son las épocas de menor resistencia orgánica. El canibalismo es de práctica corriente entre ellos.

Los adultos emprenden los vuelos de emigración al cabo de 15 ó 20 días después de haber comenzado la vida de insecto perfecto, los vuelos no se llevan a cabo, como vulgarmente se supone, solamente durante el día sino que también se efectúan durante la noche. Juzgando por lo que sucede con la langosta en la América del Sur y con muchas de las especies de animales migratorios de la América del Norte, la actual invasión de la langosta se detendrá probablemente en Costa Rica o Panamá y luego remontará nuevamente hacia el Norte.

Estos hechos no deben olvidarse, pues toda lucha emprendida por medios biológicos tendrá siempre por base forzosa la biología del animal que se quiere destruir y de la oportunidad de su aplicación dependerá en gran parte su éxito.

Origen del Coccobacilo

En 1909, estando Herelle en Yucatán notó que las mangas de langosta que en ese tiempo emigraban hacia el Norte presentaban cierta epidemia que causaba la muerte de varios individuos. Al año siguiente, eran ya varias las mangas en que se producía una abundante mortalidad. En 1911, todas las mangas que aparecieron allí presentaban la peste; en 1912 la mortalidad fue tan grande que ya no hubo invasión de langosta. Herelle aisló de los insectos atacados, que presentan síntomas característicos: diarrea y convulsiones, un microbio causante de la enfermedad, y en 1911 dio cuenta de su descubrimiento a la Academia de Ciencias de París. Este microbio es el *Coccobacillus acridiorum*.

Caracteres del Coccobacilo

Es un bacilo corto, oblongo, muy polimorfo, a veces en forma *Coccus* y otras veces en formas netamente bacilares, es

muy mótil y no toma el Gram. Carácter muy importante, pues algunas langostas tienen otro coccobacilo intestinal no patógeno pero que es Gram positivo.

El coccobacilo de Herelle crece bien en los medios ordinarios de cultivo; su vitalidad es muy intensa, ha podido ser aislado de cadáveres desecados después de varios meses; desgraciadamente su virulencia es muy fugaz y se pierde al ser cultivado, atenuándolo las siembras sucesivas. Esto implica la exaltación de la virulencia cada vez que ha de ser empleado. Nunca deben hacerse infestaciones con culturas cuya virulencia no ha sido previamente ensayada, pues así se lograría únicamente que los insectos se volviesen refractarios a la infección aún por el coccobacilo virulento.

Etología de la infección

Una vez en posesión de un virus exaltado, que se obtienen por el método clásico de Pasteur: pasajes sucesivos por la especie a que quiere adaptarse, puede comenzarse la infección de saltones y de langosta voladora.

La propagación de la enfermedad depende de muchas circunstancias, pero toda banda que se infecte en buenas condiciones está condenada a desaparecer en un tiempo más o menos largo. En la Rogia (Argentina) se ha destruido una gran manga de saltón en 8 días, empleando únicamente el coccobacilo. Si las circunstancias ambientales no son favorables, la enfermedad no adquirirá todo su vigor sino varios días después. Herelle ha visto en la región de Rafaela, en Argentina, bandas en las cuales la enfermedad marchaba lentamente y no declararse una verdadera epidemia sino al cabo de 25 días. Al cabo de este tiempo la peste se desató y comenzó la mortalidad en un radio de 10 kilómetros de los focos de infección.

La infección de los insectos voladores debe en todo caso ser practicada con el objeto de diseminar en el espacio los focos de infección. Es así que han sido encontradas, muertas por el coccobacilo, langostas, alejadas ya 300 kilómetros del lugar en que había sido practicada una infección 15 días antes.

Como toda enfermedad microbiana para convertirse en epidemia requiere múltiples focos de infección, es necesario conta-

minar los insectos adultos que van a lugares diversos a contaminar con sus deyecciones y sus cadáveres, nuevos individuos que mutliplicarán, a su vez, la infección.

Resultados que deben esperarse

Cuando se habla a las gentes de un método de destrucción, biológico o no, ellas esperan ver inmediatamente los resultados y siempre se contentan más de lo que pueden medir o pesar directamente que de los cálculos establecidos por múltiples experiencias anteriores. Sin embargo, los medios mecánicos han dado siempre un resultado mediocre y los medios químicos muchos inconvenientes; dos ejemplos nos bastarían: en 1908 se destruyeron en la Argentina no menos de setecientos mil millones de langostas y sin embargo, según las mismas personas encargadas de la lucha, se encontraban después tantos insectos como si aún no se hubiese hecho nada por destruirlos. En cuanto a los métodos de envenenamiento debemos decir que quien más sufre son las aves insectívoras que mueren por haber comido la langosta envenenada, y resulta, tal vez, peor el remedio que la enfermedad. Nosotros, por otra parte, hemos podido constatar experimentalmente que muchos de los sistemas preconizados, a base de arsénico, son más bien nefastos que útiles y que las plantas sobre las cuales cae la mezcla arsenical se ahilan y mueren.

En lo que se refiere a la infección bacteriana debemos hacer notar que solamente los métodos bacteriológicos bien conducidos pueden dar idea de la propagación de la infección y que siempre serán relativamente pocos los cadáveres que se encuentren; según Herelle una manga de langostas voladoras, infectada en las mejores condiciones y teniendo al menos 1000 insectos por metro cuadrado, no dejaría, con un desplazamiento normal, sino un cadáver cada diez metros cuadrados y sin embargo pronto estaría completamente aniquilada por la epidemia. Añadamos a esto que los cadáveres son devorados por las hormigas y sobre todo por las mismas langostas. En lo que se refiere al saltón el hecho es más notable, pues en cuanto los individuos están debilitados los otros los devoran. Esto, en vez de impedir la propagación de la enfermedad, contribuye a su generalización.

La manera de darse cuenta del aumento progresivo de una infección es el siguiente: recoger cierto número de insectos en el campo, guardarlos veinticuatro horas, constatar la mortalidad y si es posible tratar de aislar de los cadáveres el coccobacilo. Uno o dos días después repetir la experiencia y ver si el porcentaje de individuos que mueren va en aumento.

Esperar otros resultados será del todo inútil. Debe, pues, advertirse a las gentes esto, y darles a entender que el método de Herelle no tiende a salvar cosechas, que sus miras son más amplias y su tendencia, confirmada por la experiencia, la de **destruir** la langosta y precaverse para el futuro.

No es necesario advertir que el empleo del coccobacilo no es incompatible con cualesquiera otros métodos de lucha y que la obstaculización que se le haga no es sino efecto de la ignorancia popular. Cuando trabajamos en la región del Guanacaste no faltaron personas que nos increparan por cuanto la langosta había ya destruido sus sembrados. Todo se pasaba como si en el laboratorio en que trabajábamos fabricásemos langostas. Esta será la misma suerte que correrán las personas que intenten establecer entre los pueblos cualquier método biológico por eficaz que él sea y es a sabiendas de estos contratiempos que debe trabajarse.

La Infección artificial según el procedimiento original de Herelle

Herelle siembra un tubo de caldo ordinario con coccobacilos conservados en Agar y aislados del insecto lo más recientemente posible. Deja el caldo de 6 a 10 horas, según la temperatura ambiente. La cultura está a punto cuando comienza a enturbiarse. Con este caldo, o también con una emulsión de coccobacilos obtenida de un tubo de Agar, sembrado en superficie y diluido en caldo o en agua destilada, inyecta una primera serie de langostas, preferentemente de saltones.

Las langostas inyectadas comienzan a morir al cabo de 24 horas.

Cuando los insectos de esta primera serie están muertos o moribundos se les comprime el abdomen de manera que salga el líquido negruzco que llena los intestinos y donde pululan los co-

coccobacilos. Este líquido recogido en un vidrio de reloj servirá para inyectar una segunda serie de langostas que morirán en un lapso de tiempo menor que las que constituían la primera serie.

El líquido intestinal de los primeros muertos de la segunda serie se diluye con la mitad de agua o caldo esterilizados y se inocular la 3ª serie. Con el líquido intestinal de la 3ª serie, diluido al 1/3 se inocula la 4ª serie. Con el líquido intestinal de la 4ª serie, diluido al 1/4 se inocula la 5ª serie y así sucesivamente hasta llegar a la 10ª serie cuyo líquido intestinal se diluye al 1/10 para inocular la serie 11ª. A partir de esta serie las diluciones se harán siempre al 1/10. Para inocular cada serie se tomarán los primeros insectos que acaban de morir en la serie precedente.

La virulencia del coccobacilo se considera suficientemente exaltada cuando la muerte sobreviene 8 horas después de la inyección. ⁽²⁾

Las inyecciones se practicarán por medio de una jeringa hipodérmica de 1 centímetro cúbico, de aguja muy fina y aguda. La aguja se introducirá entre el segundo y tercer segmento abdominal y en dirección de la cabeza del insecto; no se hundirá más de 2 ó 3 milímetros para no dañar ningún órgano. La cantidad de líquido inyectado será de 1 a 2 gotas. Cada serie constará de unos 12 insectos. Si por acaso el insecto muere en un intervalo menor de 2 horas *se debe eliminar* pues su muerte se debe a causas extrañas a la infección.

Cuando se está ya en posesión de una serie de insectos infectados por un virus de exaltación suficiente se tomará el líquido intestinal de estos, se sembrará en estrías sobre tubos de Agar o cajas de Petri, se dejará a la temperatura ordinaria el tiempo suficiente para que crezcan, se escogerán las colonias más típicas y con ellas se sembrarán los caldos para el riego.

Los caldos de cultura pueden ser caldo ordinario: (carne 500 gramos, agua 1 litro, peptona 10 gramos, sal 5 gramos, alcalinidad ligera, hervir y filtrar). Este caldo, si se ha preparado con una esterilización rigurosa y sembrado con todas las condiciones de pureza, podrá ser empleado 2 ó 3 días después.

Conviene advertir cuanto antes que como estas condiciones no son realizables en un laboratorio de campaña, las culturas

en caldo ordinario deberán regarse, a más tardar 12 horas después de haber sido sembrado y practicando la siembra en el caldo que acaba de enfriarse.

Herelle describe un medio de cultura compuesto de 1 litro de agua, 40 gramos de peptona, 5 gramos de sal, 30 gramos de gelatina y 5 gramos de glucosa; se hierva, se alcaliniza ligeramente, se reparte en botellas que deben ser esterilizadas en autoclave a 120° centígrados durante media hora. Se deja enfriar, se siembra y se deja a la temperatura ordinaria; puede ser empleado hasta 15 días después de preparado. Debemos insistir, sin embargo, en que solamente un laboratorio bien montado, dirigido por personas de larga práctica bacteriológica podrá dar estos cultivos con la pureza requerida, y que cualquier contaminación que sobrevendría infaliblemente por la más pequeña falsa manipulación, echará a perder el cultivo.

Cualquiera que sea el medio empleado, los riegos en el campo practicados por Herelle han sido efectuados por medio de aparatos pulverizadores que se llenan *en el momento de ser empleados*. Cuando se trata de pequeñas manchas de langosta es suficiente un litro de cultivo por hectárea. En las grandes manchas, y si se tiene cuidado de repartir convenientemente los focos de infección, la cantidad de caldo empleada por hectárea puede ser menor aún. Herelle ha infectado una mancha que cubría unas 200 hectáreas utilizando solamente 10 litros, repartidos en 20 lugares regularmente distanciados y haciendo cada pulverización con 1/2 litro.

Las infestaciones se practicarán de preferencia por la tarde para impedir la luz del sol en todo cuanto sea posible y evitar la atenuación de la virulencia. El éxito depende en gran parte de la distribución de los focos de infección y más vale una pequeña cantidad de culturas bien distribuidas, que una gran cantidad regadas en un solo lugar.

II. EL METODO DE HERELLE ADAPTADO A COSTA RICA

En Costa Rica, las escasas vías de comunicación, el poco número de habitantes, la variedad de condiciones topográficas

y naturaleza de los cultivos y sobre todo la escasez de personal idóneo, a la vez que la falta de aparatos adecuados a las pulverizaciones exigían ciertas modificaciones en el método original de Herelle.

Estas modificaciones, como bien se comprende, no debían alterar los fundamentos científicos del método sino únicamente hacer expedita y eficaz su aplicación.

Todas nuestras experiencias tuvieron como único objeto el vencer las dificultades locales y encontrar un método fácil y económico para llevar a cabo las infecciones.

Comenzamos nuestros trabajos en la región del Tempisque con la valiosa colaboración de Don Casimiro Sobrado quien puso a nuestra disposición su laboratorio particular y nos dio todas las facilidades para llevar a cabo nuestras experiencias.

Estas fueron las siguientes:

Exaltación de la virulencia

Los cultivos de coccobacilo que nosotros poseíamos fueron recibidos de la Argentina por intermedio del doctor don Angel Gallardo, quien bondadosamente nos hizo enviar los cultivos; estos fueron conservados en el laboratorio del Hospital de San José desde fines del año pasado habiendo sido sembrados cada dos meses.

Una vez instalados en el laboratorio del Tempisque, nos proveímos de las cajas destinadas a conservar las diversas series de langostas inyectadas. Estas cajas fueron fabricadas de la manera siguiente: con 12 reglas de una pulgada cuadrada de grueso y de 12 pulgadas de largo, se construye una armazón cúbica que luego se forra con dos tiras de lienzo sujetas con tachuelas de manera que cada tira cubra tres caras del cubo.

Estas cajas tendrán una esquina con el lienzo sin clavar para poder manejar los insectos guardados en ellas. Una etiqueta de papel, sujeta a una de las caras de la caja por medio de una gajilla, llevará el número de la serie inyectada, la hora en que se practicó la inyección y las condiciones en que fue practicada. Una caja en un todo semejante servirá cada vez para guardar los insectos que sirven como testigos.

Las cajas fabricadas como se ha dicho tienen la gran ventaja de poder construirse en pocos minutos y ganar el mayor tiempo posible. Las langostas no las perforan, son frescas y el aire circula muy fácilmente a través de la tela, pero hay que ponerlas fuera del alcance de las ratas que sí las perforan. Cuando ya se posee un virus suficientemente exaltado bastarán dos cajas recubiertas con cedazo metálico.

Las culturas de coccobacilos fueron sembradas en superficie en tubos de agar ordinario, dejados a la temperatura ambiente y 24 horas más tarde emulsionadas en agua de sal esterilizada, al 5 por mil (isotónica para las langostas). Se obtiene una buena emulsión haciendo girar el tubo de agar entre las dos palmas de las manos de la manera más rápida posible y como si fuese un molinillo de mano. Con esta emulsión se inyectó una serie de insectos compuesta por no menos de 60 individuos; comenzaron a morir al cabo de 36 horas y la mortalidad alcanzó un 60 por ciento. De los testigos no había ninguno muerto.

A partir de esta primera serie, la técnica de los pasajes fue la siguiente: con unas tijeras se corta el tórax y la extremidad del abdomen del insecto moribundo o recién muerto, con unas pinzas se retiran los intestinos que se diluyen en una emulsión de coccobacilos sembrados en agar, como los que se emplearon para la primera serie. El objeto de diluir en una emulsión de cultura de coccobacilos, y no en agua pura, es el de conservar pura la raza microbiana.

Con esta técnica, a partir del octavo pasaje, los insectos comenzaban a morir después de 4 ó 5 horas.

Con el objeto de darnos cuenta si era posible ganar tiempo haciendo los pasajes cada 4 horas, sin esperar que los insectos estuviesen moribundos, establecimos otras series con pasajes ejecutados cada 4 horas. Este ensayo fue estéril pues pronto vimos que morían más pronto y en mayor número las langostas inyectadas con los microbios provenientes de cadáveres frescos de la tercera y cuarta series, que los que se inyectaban con microbios extraídos de langostas de la octava y novena series en que no se había esperado la muerte para continuar los pasajes. Hay, pues, que esperar que las langostas comiencen a morir para seguir una nueva serie.

Cuando ya las langostas morían a las 6 ó 7 horas después de inyectadas, con una mortalidad en 12 horas de 100%, pusimos dos series de igual número de insectos en dos cajas nuevas: unas recibieron zacate puro como alimento y las otras zacate rociado con la solución que servía para inyectar; 12 horas más tarde comenzaron a morir estos últimos dando al tercer día 90% de muertes mientras que los insectos de la caja testigo se conservaban en perfecto estado. El virus podía, pues, ser empleado.

A partir del 10° pasaje bastaba simplemente mojar las langostas con el líquido intestinal para que sin necesidad de tomar ningún alimento infectado, la mortalidad comenzara a las 15 ó 20 horas y los insectos sucumbieran totalmente en 2 ó 3 días. Los testigos, guardados también sin alimento, no morían en ese tiempo.

En otras series de langostas inyectadas introdujimos individuos intactos y estos también morían contaminados por simple contacto con los ya infectados.

En todos los casos hicimos preparaciones microscópicas que nos revelaron en los cadáveres la presencia del coccobacilo y las cajas de Petri sembradas con el líquido intestinal dieron cultura casi pura.

Algo que da una idea muy clara de la contagiosidad de la peste ocasionada por el coccobacilo es el hecho de que después del 6° día de trabajar no se podían ya guardar langostas en el laboratorio pues pronto se infectaban y morían.

Preparación de los cultivos para el riego

Los cultivos fueron practicados en caldo peptonizado ordinario: 5 kilos de carne de buey fresca, sin grasa ni tendones, picado lo más finamente posible, fueron hervidos directamente en 10 litros de agua. (La maceración previa recomendada en todos los libros no puede practicarse en nuestras cálidas regiones de la costa pues la putrefacción comienza enseguida); luego se añadieron 100 gramos de peptona y 50 de sal común, se alcalinizó ligeramente con soda cáustica. Colamos simplemente en un lienzo fino.

Como no teníamos allí un autoclave, la esterilización se llevó a cabo hirviendo el caldo al baño de María durante una hora. El caldo fue puesto en una lata vacía de petróleo lavada cuidadosamente, primero con soda cáustica y luego con agua pura. La abertura de la lata se tapó con algodón. El baño de María fue hecho con un medio estafión de 500 litros de capacidad.

Cuando el caldo estaba ya a la temperatura ambiente se sembró con una emulsión de intestinos de langostas inyectadas y a la vez con una emulsión de cultura pura de coccobacilo en agar inclinado, sembrado en superficie, y de 24 horas de incubación a la temperatura ambiente.

El objeto de esta doble siembra fue, como en el caso de las inyecciones, tener a la vez microbios muy virulentos provenientes de un último pasaje y gran número de ellos para conservar la pureza de la cultura. En estas condiciones los microbios menos virulentos que son seguramente los provenientes del tubo de agar, adquieren, por el hecho de vivir en comunidad con los más virulentos, una virulencia general.

El método de la doble siembra y de practicar las inyecciones, a la vez con la emulsión de intestinos y con microbios de cultura pura, nos dio resultados excelentes y la virulencia llegó, lo repetimos, a matar los insectos aún en 4 horas de incubación. ⁽³⁾

Al cabo de 12 horas el caldo examinado al microscopio, presentaba cultura pura de coccobacilos.

El riego practicado en las llanuras del Guanacaste

Una vez en posesión de la cultura en caldo, procedimos al riego en el campo. No disponiendo de aparatos pulverizadores que permitiesen un empleo económico del caldo puro, adoptamos un dispositivo diferente que permitiese regar, *sin desperdicio de caldo, muchos lugares a la vez*, pues este es un principio fundamental en el método de Herelle.

Nosotros adaptamos a un estafión de 500 litros de capacidad un tubo en T finamente agujereado en una línea longitudinal. La unión del tubo al estafión se hace por medio de las dobles tuercas llamadas «de tope» que permiten adaptar o retirar a

voluntad el tubo en T. Dos alambres unen la parte superior del estafión a cada extremidad del tubo para impedir los movimientos de báscula.

Este estafión fue montado en una cureña y tirado por bueyes.

Los 10 litros de caldo se diluyeron en 400 de agua dentro del estafión y se procedió inmediatamente al riego.

Una pequeña mancha de langosta voladora había caído en un llano y se encontraba agrupada en unas cien hectáreas. Con los 400 litros de cultura diluída regamos unas 5 hectáreas en el lugar en que los insectos estaban más agrupados. El riego se practicó al caer la tarde y cuando las langostas vuelan a los árboles para pasar la noche. La mancha de langosta duró dos días en estos llanos y cuando partió inspeccionamos el campo y encontramos muchos cadáveres y varios insectos moribundos colgando de las patas anteriores en las ramas de los arbustos; estos insectos tenían la diarrea y las convulsiones características de la coccobacilosis.

Recogimos varios cadáveres que habían sido aún respetados por las hormigas y también algunos moribundos. De cada uno de ellos hicimos preparaciones microscópicas que mostraron pululación de coccobacilos; las siembras en agar nos dieron cultura casi pura de microbio de Herelle.

La técnica de los cultivos y la forma de riego son por lo tanto eficaces y pueden ser empleadas en las regiones planas en que no hay vegetación alta. Como la llave del tubo perforado permite regularizar a voluntad la salida de la cultura diluída, y como no son necesarios sino uno o dos hombres se hace, en el mínimo de tiempo y con la mayor economía, el máximo de trabajo.

La cultura de coccobacilo en maceración de langosta

Deseando encontrar aún un método más económico, de sencilla ejecución y al alcance de todo el mundo, ensayamos el cultivo del coccobacilo en maceración de langosta y llegamos al éxito con la técnica siguiente:

Se machacan los insectos en un barril o cuba de madera hasta que quede medio lleno de la pasta. Se le agrega agua *hir-*

viendo en igual volumen, se tapa, se deja enfriar y se siembra en él el contenido de un tubo de agar sembrado recientemente con coccobacilos en el *mayor estado de virulencia posible*. Si al cabo de 12 horas *estrictamente justas* se infectan los campos con el líquido de la maceración, los insectos se contaminan y mueren atacados por la peste. Uno o dos días después se encuentran los primeros cadáveres y ellos contienen el coccobacilo.

Debemos cuanto antes advertir que este método es inferior, y con mucho, al de los cultivos en caldo y que por muchas causas: agua medio caliente, suciedades que caigan al barril, abandono de la cultura por más de 12 horas, etc., la cultura puede perderse. Sin embargo, como medio de vulgarizar el empleo del coccobacilo debe este método, no solamente ser recomendado a los particulares sino que aún podría exigirse que lo practicasen, siempre que se les pueda entregar una cultura *muy virulenta* proveniente, no de resiembras en agar, sino aisladas recientemente de langostas que hayan sucumbido a la enfermedad en 6 a 8 horas cuando más. El éxito de algunas infecciones justificaría las pequeñísimas pérdidas ocasionadas en los casos de culturas echadas a perder. En todo caso las culturas en agar deben forzosamente ser preparadas y ensayadas en un laboratorio central; las culturas no virulentas serán nefastas pues inmunizarán los insectos a la infección.

La Infección en los lugares donde el riego no es posible

Hay muchos lugares en que el riego no es posible por múltiples causas: alta vegetación, falta de aparatos, malos terrenos, etc. En estos lugares, como en la zona del Atlántico, en Costa Rica, el método empleado ha sido el siguiente: algunos hombres recogen sacos de langosta que se sumergen en el caldo o líquido de cultura hasta que se mojen bien, luego se les da libertad en los lugares más espaciados que sea posible; los insectos humedecidos por la cultura mueren todos infaliblemente y llevarán la contaminación a los lugares adonde vuelen. Así se ha logrado contaminar algunas mangas en Siquirres y, según noti-

cias recibidas, en las regiones vecinas apareció pronto gran mortalidad que según las gentes debía obedecer a *cualquier motivo, salvo la infección por el coccobacilo*. Es de sentir que nadie se diera el simple trabajo de ver al microscopio el contenido intestinal. En Nicaragua dicen también que hay una peste de langosta. ¿Cuál? ¿No serán mangas infectadas anteriormente en El Salvador? ¿No habrá quién tenga la curiosidad de saber qué son esas pestes? ¿A qué se deben esas mortalidades, al parecer espontáneas?

Recordemos también que la infección pasa a veces en estado latente del saltón al volador y que es en esta forma como el insecto sucumbe.

Medidas tomadas por el Ministerio de Fomento para implantar en Costa Rica el sistema de Herelle

Desde el año pasado en que nosotros recomendamos la aplicación del coccobacilo a la destrucción de la langosta, el señor Ministro de Fomento, Lic. don Alberto Echandi, tuvo la mejor voluntad para implantar el sistema, pero las dificultades técnicas de la preparación de cultivos y la ausencia de bacteriólogos en el país han sido obstáculos serios para la práctica de las infecciones.

Actualmente no hay sino un laboratorio bien montado: el de don Casimiro Sobrado en el Tempisque, que tenga una persona competente para fabricar los cultivos y controlarlos como se debe. El señor Sobrado podrá fabricar, y sin que quiera devenir por ello sueldo alguno, hasta 200 litros de cultura diaria, pero siempre que se le dé el material y personal necesarios, como lo ofreció el señor Ministro de Fomento. Este lugar es el más propicio de la región del Guanacaste para hacer los cultivos pues se harán en el único lugar que allí presenta comodidades, y por la única persona competente de cuantas viven en la región. Los cultivos que él entregue deberán regarse no más tarde de 12 horas por los motivos que ya hemos dicho.

En Siquirres montamos un pequeño laboratorio de campaña que quedó a cargo de don Juan Clachar y luego a car-

go del señor Antonio Castro, Jefe Político del lugar, allí se hicieron simplemente maceraciones de langostas pues no era posible otra cosa.

Actualmente quedará a cargo de don Rómulo Molina empleado muy competente del laboratorio del Hospital de San José, la preparación de culturas en agar, que él conservará en estado virulento y podrá repartir a los diversos lugares donde se hagan caldos de cultivo o maceraciones.

Por otra parte, en San Ramón hizo culturas y riegos don Ernesto Machado, bacteriólogo que presta actualmente sus servicios a la United Fruit Co., que también se ha interesado en aplicar el sistema de Herelle.

Conclusiones

- 1- El sistema de Herelle aplicado en las condiciones antedichas es el método más económico y eficaz, para destruir definitivamente la langosta.
- 2- Este sistema no es para salvaguardar cosechas ni plantíos y no es de resultados instantáneos.
- 3- Para establecer eficazmente el sistema de Herelle debe tenerse personal destinado *exclusivamente* a los trabajos de cultivos e infecciones y sin ninguna atingencia con el personal de lucha mecánica.
- 4- Los gastos deben arreglarse de manera que nunca, por evitarse las molestias inherentes a los cobros al Gobierno, falte personal o material.
- 5- Cuando no se puedan hacer las aplicaciones en la seguridad de que todo está estrictamente bien hecho, más vale comenzar nuevamente.
- 6- Para obtener la extinción de la langosta en Centro América, las bandas deben infectarse simultáneamente en todas las regiones de la América Central.

- 7- Las medidas que se tomen deben ser por largo tiempo, si se quiere en verdad destruir el mal.
- 8- Deberá infectarse sistemáticamente todas las manchas, que éstas sean saltón o volador.
- 9- Cuanto más grande y compacta sea la mancha se necesitará menor cantidad de cultura en relación con la superficie de terreno y viceversa.
- 10- Fuera de los métodos bacteriológicos, la *única* manera de darse cuenta del progreso de la infección en una manga de langosta consiste en recoger cada dos o tres días el mismo número de insectos y hacer el porcentaje de la mortalidad en 24 horas. Los insectos se recogerán en varios lugares de la mancha en estudio.

San José, 15 de junio de 1915

NOTAS

- (1) El trabajo más completo que puede ser consultado es:
F.D. Herelle -(1914)- *Le Cocobacille des Sauterelles. Annales de L'Institut Pasteur*. Vol. 28. No. 3 et 4. pp. 280 a 328 - y 387 a 407.
- (2) Cuando las inyecciones se hacen con emulsión intestinal de cadáveres ya viejos la muerte sobreviene muy rápidamente a causa de las Ptomainas. Hay que evitar estas muertes.
- (3) Tanto Ed. Sergent y L'Heritier como Zea Uribe, en Argelia y Colombia respectivamente, han obtenido un virus de gran exaltación y mucha fijeza operando como sigue: el contenido intestinal de la primera serie se siembra en caldo, o mejor en estrías sobre agar, y con este cultivo se inyecta la segunda serie y así sucesivamente. Esto no tiene en realidad más ventaja que la de no ocuparse en la noche de hacer los pasajes de insecto a insecto.

ANALISIS SANITARIO DE LAS AGUAS QUE SE CONSUMEN EN SAN JOSE

Señor Secretario Municipal,
P.

Muy estimado señor:

En contestación a su comunicación de 30 de marzo próximo pasado, en que se me encomienda el análisis sanitario de las aguas en uso de esta Capital, informo a usted de la manera siguiente:

El plan del trabajo fue hecho de acuerdo con el señor Francisco Sancho I., a quien encomendé el análisis químico, reservándome el análisis bacteriológico y biológico que efectué en colaboración de don Carlos Víquez S.

Plan del trabajo y el problema local sanitario del agua

El examen sanitario completo de un agua, tal como se practica actualmente en Europa y Estados Unidos, consta de las partes siguientes:

A-Examen físico, en el que se consideran las cualidades organolépticas del agua en examen: olor, color, sabor, turbidez, etc.

B-Examen biológico que consiste en la determinación de los organismos microscópicos (bacterias excluidas), que pueden, por su pululación, llegar a cambiar las cualidades organolépticas del agua, hasta el punto de convertirse en im potable.

C-Examen bacteriológico: este consta de dos partes:

- 1° Determinación del número de bacterias por centímetro cúbico y
- 2° Aislamiento de las bacterias de origen intestinal, pues sabido es que las únicas enfermedades del hombre, cuyo medio de transmisión posible es el agua, son aquellas que tienen por origen microbios que viven normal o esporádicamente en el intestino del hombre.

CH-Examen químico: este comprende la determinación de las sustancias, cuya presencia indica:

- 1° Sustancias vegetales en vía de descomposición;
- 2° Sustancias de origen animal (cadáveres y deyecciones);
- 3° Cantidad de los compuestos químicos que significan materia orgánica en vía de transformación (amoníaco, nitritos y nitratos);
- 4° Cantidad de cloruro de sodio, que es un indicio precioso para sospechar la contaminación de un agua dada;
- 5° Sales cuyo exceso hace un agua inepta para los usos domésticos e industriales (sales de calcio y de magnesio).

Cada uno de estos exámenes tiene un valor intrínseco, pero no puede por sí solo llegar a significar con certeza la naturaleza de un agua. Sin embargo, la concurrencia de los diversos exámenes representa, no solamente un mutuo control, sino que también se complementan, de manera indispensable, para la interpretación del valor sanitario de un agua; así, por ejemplo, el examen físico será reforzado por el examen químico y biológico y éstos por el examen bacteriológico.

Como en varias publicaciones se ha hablado de la contaminación del agua de la tubería de San José, nuestro plan de trabajo no se concretó solamente a responder al cuestionario propuesto por el señor Ingeniero Municipal, sino que también nos propusimos buscar la fuente de esta contaminación. Nuestros análisis corresponden a *cada uno* de los lugares de contaminación probable: llegada de agua a Curridabat, entrada a los tanques de San José y salida de los mismos.

Para los párrafos especiales nos reservamos la discusión de los métodos empleados.

ANALISIS QUIMICO

(Practicado por don Francisco Sancho I.)

De acuerdo con el plan adoptado, las muestras fueron recogidas en los diversos lugares de contaminación sospecha, y usando para cada muestra, frascos de tapón esmerilado y de capacidad de 5 litros. Las materias inestables: amoniaco, nitritos, nitratos y substancia orgánica, fueron determinados en las primeras 12 horas.

El amoniaco libre se determinó destilando 500 centímetros cúbicos de agua y recogiendo 150 cm³ del destilado en 3 tubos de 50 cm³ cada uno, los cuales fueron nesslerizados y el amoniaco determinado colorimétricamente por comparación con una solución previamente titulada de cloruro de amonio.

El amoniaco albuminóideo fue transformado en amoniaco libre por medio de una solución alcalina de permanganato de potasio, y destilado, a su vez, como en el caso anterior, recogién dose así 7 tubos de 50 cm³, en vez de 3, como en el caso anterior. La nesslerización fue llevada a cabo, como en el caso del amoniaco libre.

Los nitritos se buscaron por medio del reactivo y método de *Griess*.

Este método es el recomendado por "The Committee of the section of Bacteriology and Chemistry of the American Public Health Association" en su "*Standard Methods of Water and Sewage Analysis*" como el más sensible y exacto.

Los nitratos se determinaron por el método de *Grandval et Lajoux*.

La dureza se dosó por el método de *Clark*.

El oxígeno consumido fue determinado por el método de *Kubel*.

El cloro se dosó por medio del nitrato de plata.

La determinación de la materia sólida se hizo evaporando 100 cm³ de agua y *se omitió la pérdida por ignición*, porque esa determinación está abolida hoy día en el caso de aguas profundas (caso del agua proveniente de Tres Ríos).

El Cuadro N° 1 resume el resultado de los análisis químicos de las diversas muestras de agua recogidas.

CUADRO No. 1

Examen físico del agua

Agua de	Curridabat	Entrada tanque, San José	Salida del tanque, San José	Junio de 1913	Michigan Standard
Color	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	-----
Olor	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	-----
Sedimento	Nada	Nada	Nada	Nada	-----
Turbidez	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	-----

Análisis químico del agua (Partes en 1 000 000)

Agua de	Curridabat	Entrada tanque, San José	Salida tanque, San José	Junio de 1913	Michigan Standard
Amoniaco libre	0,016	0,014	0,007	0,02	0,06
Amoniaco albuminóideo	0,034	0,044	0,018	0,08	0,15
Nitritos	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Nitratos	0,33	0,25	0,50	0,30	0,90
Dureza	71,4	74,3	65,7	74,30	-----
Total de Sólidos	162,0	170,0	168,0	176,0	500,00
Oxígeno consumido	0,10	0,10	0,15	1,00	2,2
Cloro	6,4	6,0	5,0	5,60	12,1

Interpretación del análisis químico

El ideal de fineza de un agua de fuente sería aquella que tuviera todo el nitrógeno de la sustancia orgánica en forma de nitratos, indicando así que el proceso de nitrificación, al pasar esta agua por las capas de tierra, que le han servido de filtro natural, ha sido completo. La sustancia orgánica, mineralizada así en forma de nitratos, constituye un alimento para *toda suerte de plantas verdes*.

En el caso del agua de Tres Ríos, las cantidades de sustancias orgánicas en forma de amoníaco, sustraídas a la nitrificación, son excesivamente pequeñas y no se acercan siquiera al límite fijado para las aguas consideradas como impuras. El amoníaco libre y albuminóideo se consideran como signo de contaminación orgánica de origen animal cuando las cantidades de estos cuerpos sobrepasan el límite fijado de antemano en la unidad considerada.

Cuando la cantidad de nitratos contenida en un agua es considerable, significa contaminación precedente, y si el peligro ha pasado ya, no por eso debe considerarse la contaminación como concluída, sino que ella puede repetirse en cualquier momento en lo futuro y por lo tanto el agua debe considerarse como sospechosa y condenarse. La cantidad de nitratos, en el caso del agua de la cañería de San José, no es tal que debamos considerar esta agua como sospechosa.

Los nitritos, de los cuales está exenta esta agua, son un elemento recriminable cada vez que se encuentran, pues ellos indican un estado de transición en el proceso de oxidación de la materia orgánica o un fenómeno de reducción de los nitratos que no se lleva a cabo sino en presencia actual de *materia orgánica de origen animal*.

La materia orgánica de origen vegetal o materia oxidable y que generalmente se determina por la acción reductora que tiene sobre una solución de permanganato, en el agua a que nos referimos se encuentra en cantidades menospreciables. Esta materia orgánica no es nociva por sí misma, pero es un alimento que permite la multiplicación de las bacterias y por consiguiente constituye un medio apropiado para la pululación de las bacterias patógenas si se da el caso de que el agua sea contaminada. Desde luego, toda agua que contenga más materia orgánica del límite estipulado

debe rechazarse. El agua de Tres Ríos tiene muchísimo menos materia orgánica que la considerada como normal.

El cloro, en forma de cloruro de sodio, es un elemento normal en todas las aguas, en menor o mayor cantidad, según el origen geológico de las capas por las cuales el agua se ha filtrado, y también debido a la cercanía de todo depósito de agua salada o de minas de sal. Desde luego, para que la cantidad de cloro pueda servir como un índice digno de tomarse en cuenta para la consideración de la bondad de un agua, se debe saber la cantidad de sal que normalmente esta agua contiene. Todo aumento significa contaminación, puesto que son las deyecciones y la orina y también aguas de cocina, las que llevan un aumento de cloruros a un agua dada. Debe por consecuencia tratarse de conocer la cantidad normal de cloruros de las fuentes del país para formar así las *líneas isocloras* que serían la base indispensable para la apreciación válida de este índice en los análisis de agua de este país.

La mayor o menor dureza de un agua se traduce en un gasto mayor o menor de jabón (o sustancias similares) y los inconvenientes que traería cuando esta agua fuese empleada para la producción de fuerza motriz, por medio del vapor. Por tanto, la dureza de un agua es más un asunto económico que sanitario; el agua de las fuentes es "blanda" pues contiene menos de 97 partes de sales de calcio y magnesio en 1 000 000.

La dureza normal de un agua puede aumentarse en ciertos casos de contaminaciones debidas a los desperdicios industriales.

El carácter y cantidad del residuo seco constituye un indicio de contaminación cuando éste por su color y naturaleza prueba la existencia de sustancias que acompañan un agua impura.

El residuo del agua de Tres Ríos es de color blanco, compuesto principalmente de carbonatos alcalino-térreos de sílice, cloruros y sulfatos. La pérdida por ignición, lo repetimos, no está indicada en el caso presente por contener el agua muy poca sustancia orgánica en comparación con la inorgánica, lo que ocasionaría una pérdida por evaporación debida a la descomposición de los nitratos y cloruros alcalino-térreos y una pérdida de agua de cristalización que falsearían por completo los resultados.

Conclusiones del análisis químico

- 1- El agua de Tres Ríos, en el presente, no está contaminada por sustancias de origen vegetal ni animal.
- 2- En el agua no hay ningún elemento, en tal cantidad, que indique que lo haya estado en el pasado y por consecuencia el peligro de contaminarse en el futuro debe ser considerado como menor.
- 3- El agua que sale de los tanques de San José, no sufre ninguna alteración, en lo que se relaciona con su constitución química, que sea digna de tomarse en cuenta.
- 4- El resultado del análisis practicado en junio de 1913 es prácticamente el mismo que el actual y por consecuencia no ha habido ningún cambio geológico apreciable en las capas de terreno que atraviesan esas aguas.

ANALISIS BIOLOGICO

Este examen fue practicado:

- 1° En el detritus que dejan las aguas al caer en Curridabat;
- 2° En el plankton de los tanques de San José;
- 3° En el sedimento de los mismos tanques;
- 4° En las materias recogidas por un filtro, "Bekerfeld" durante tres días consecutivos de filtración.

Este análisis tiene como principal objeto el saber cuáles son las causas de alteración de las propiedades organolépticas de un agua y también para localizar el origen o el lugar de contaminación de un agua dada, pues sabido es que originalmente ninguna fuente tiene gérmenes de organismos microscópicos y solo el aire y la luz permiten el desarrollo de las algas unicelulares que sirven de pasto primitivo a los animales cuyos cadáveres pueden servir para nutrir

vegetales saprófitos (hongos y bacterias) que servirán a su vez como alimento a nuevos vegetales o animales. La pululación de algas no desdice de la calidad de un agua, antes al contrario, sino que indica que los recipientes son inadecuados. Por otra parte las algas, cuando no están en cantidades tales que mecánica o químicamente alteren el agua, son agentes de purificación, pues absorbiendo anhídrido carbónico y liberando oxígeno, purifican el agua, y por eso es justamente en las aguas cuya flora es más rica, en donde viven las faunas más ricas. Con el objeto de saber cual es el origen de la flora del agua en uso actual, fueron practicados todos los exámenes antedichos.

A. Flora del agua de Curridabat

Esta flora es puramente bacteriana y en la parte dedicada al examen bacteriológico encontrará lugar apropiado. Bástenos constatar que el sedimento dejado por el agua de Tres Ríos que cae en Curridabat, es de origen mineral y que allí no viven algas de ninguna naturaleza cuyo número sea apreciable.

B. Plankton de los tanques de San José

En la superficie del agua de los tanques de San José, pueden recogerse, en un día martes, es decir, seis días después de lavados los tanques, las siguientes especies vegetales y animales:

1° *Navícula*. Esta diatomea constituye prácticamente la casi totalidad de la flora de dichos tanques. A primera vista pudiera ser tomada por una *synedra*, pero la presencia de *nódulos* y de un *verdadero rafe*, la distinguen fácilmente.

2° *Oscillaria*. Estas cianofíceas constituyen la segunda especie importante de la flora de los tanques.

Se encuentra además un número considerable de especies de diversos grupos, pero cuyo número de individuos permite apenas catalogarlos entre lo que podría llamarse "Curiosidades biológicas de los tanques". Las *synedras* son raras en extremo y

pueden distinguirse de las *fragilaria* a causa de arreglarse en forma de balsas y de tener *extremos agudos* y no rectangulares.

Las *asterionellas* no existen allí y aunque parecidas a las *navículas*, pueden empíricamente distinguirse de estas últimas gracias a que estas tienen extremidades agudas mientras que las *asterionellas* tienen extremidades abultadas.

Se encuentran, además, varias *conjugadas*: particularmente *cosmarium* y raras *spirogiras*.

Viven entre las algas superficiales gran número de infusorios ciliados: *Paramecium*, *Colpidium*, *Nassula* y *Enchelys*. Encontré una ameba de gran tamaño. Flagelados del género *Monas*. Varios rotíferos: *Hydatina*, *Brachionus* y otros badelloideos.

Las larvas rojas, que nadan haciendo eses en el agua, pertenecen a una especie de *Chironomus*, mosco que abunda en todos los cuartos de San José.

En el plankton se encontraron además los cadáveres de varios insectos terrestres, tales como grillos, avispas, etc., caídos accidentalmente en el agua. Se encuentran también plantas aéreas, tales como *marchanthas* que viven en las paredes húmedas de los tanques y que se desprenden y caen.

C. Flora y fauna de fondo

Las diatomeas forman aquí también la mayor parte de la flora, siendo las *Navículas* y *fragilarias* las más abundantes. Se encuentran además allí algunos *Oscillarias* y *synedras* y también varias *conjugadas*, particularmente de los géneros *Penium* y *Euastrum*.

Los animales principales son varios infusorios de los géneros citados en la fauna de superficie y además un número muy grande de ciliados que me son desconocidos. Como habitantes importantes del fondo de los estanques citaremos los *Volvax* (considerados por ciertos autores como algas); los *Actinophrys*, algunos flagelados del género *Monas*; pero lo que más particularmente llama la atención son los *Melicerta*, vermidianos de alto interés biológico, pues sirven de pasaje entre los rotíferos y los gusanos. Viven en un estuche que construye el animal, aglomerando esferitas de barro. Estos animales son más bien raros en las aguas de Europa y aquí se encuentran por centenares.

Antes de terminar digamos que el examen del residuo de un filtro, da las mismas algas que ya cité y que como protozoarios no pude constatar sino *Monas*.

Ya hemos indicado que las algas no son nefastas sino en gran número y a causa principalmente de sus secreciones oleaginosas. En lo que se refiere a los protistas, su cantidad significa pura y simplemente que allí hay algas que dan oxígeno en cantidad suficiente para mantener un agua pura.

Conclusiones del análisis biológico

1° El agua que llega a Curridabat no tiene la flora ni la fauna de los estanques de San José. Es a estos tanques a los que hay que recriminar y no al agua.

2° El agua debido a su corta permanencia en los estanques, no tiene tiempo de perder sus cualidades físicas.

3° Bastaría *desinfectar y tapar* los estanques para ver desaparecer las algas y con ellas los animales.

ANALISIS BACTERIOLOGICO

Las muestras para los análisis bacteriológicos fueron recogidas, con toda asepsia, en los mismos lugares y mismo día que las muestras para el análisis químico.

Se siguió el método de análisis recomendado por "The Laboratory Section of the American Public Health".

Fueron empleadas, a la vez, placas de gelatina y de agar corrientes. La gelatina no puede en San José tomarse como "Standard" pues la temperatura falsea en absoluto los resultados. Vale la pena hacerlo simplemente para darse cuenta del proceso de licuefacción y putrefacción, pero no para el cómputo. Se hizo éste en placas de agar incubadas 48 horas a 37°, pues sabido es que a esta temperatura, que es la del cuerpo humano, se desarrollan las bacterias que son susceptibles de convertirse en patógenos.

Cada siembra se hizo con un centímetro cúbico, no necesitando nunca diluir, pues las bacterias no pasaron nunca de 200.

Con el objeto de saber si el agua de Curridabat trae bacterias sospechas, seguí, durante 12 días consecutivos, una cultura de esa agua y examiné una a una todas las colonias que resultaron.

El residuo del filtro (filtración de 3 días) sirvió para la busca de bacterias del grupo *coli*, que son los testigos más importantes de la contaminación debida a deyecciones. La busca del grupo *coli* fue practicada por el método de Drigalsky-Conradi, usado en Alemania desde hace muchos años y actualmente adoptado en el Instituto Pasteur de París.

Antes que pasar a los resultados obtenidos, conviene darnos cuenta de cuál es la significación del número de bacterias en un agua dada y cuál la significación de la presencia de bacterias del grupo *coli*.

El número de bacterias varía con las estaciones; aquí, por ejemplo, la época de lluvias significaría una contaminación posible en aguas descubiertas. Sin embargo, el cómputo de bacterias a lo largo de un curso de agua y siempre que éste se efectúe en igualdad de condiciones, indica el lugar de contaminación del curso de agua en estudio; y en esto estriba su principal valor.

En lo que respecta al número, diremos que las aguas de Boston contienen de 50 a 200 bacterias (Philbrick, 1905) y el lago Zurich 71 en verano y 184 en invierno (Cramer, 1885). Estas dos aguas se citan como tipo de aguas buenas. Un número mayor de bacterias en un agua es un indicio altamente sospechoso.

La significación de la presencia de bacterias del grupo de *coli*: bacilo de la tifoidea, de las fiebres paratíficas, de la disentería y sobre todo del *Bacterium coli* es la siguiente: toda agua que contenga uno de estos bacilos es un agua contaminada por deyecciones. Como es muy difícil aislar de un agua estos bacilos, siendo en cambio relativamente fácil la busca del *Bacterium coli*, es sobre éste sobre el que se dirigen las investigaciones. *"El resultado negativo en la busca del coli y un cómputo bajo de bacterias debe ser interpretado como prueba de la buena calidad de un agua con una certeza no alcanzada por ningún otro método de análisis"* (Prescott and Winslow).

Los resultados que se obtuvieron son los siguientes:

1° Agua que llega a Curridabat

Una cultura en agar de 1 cm³ del agua de Curridabat incubada durante 48 horas a la temperatura de 37° y luego abandonada a la temperatura del Laboratorio, dio lugar a la subsiguiente aparición de colonias:

Día	No. colonias
1°	8 colonias
2°	5 colonias
3°	2 colonias
4°	1 colonias
5°	2 colonias
6°	1 colonias
7°	1 colonias
8°	1 colonias
9°	4 colonias
10°	5 colonias
11°	3 colonias
12°	3 colonias

Lo cual da un total de 36 colonias que se descomponen en las especies bacteriológicas siguientes:

- 1° Un *coccus* no mótil, de crecimiento lento, que da colonias transparentes de un color gris amarillento.
- 2° Dos especies de *diplococcos* ligeramente mótils, de crecimiento rápido y que dan colonias de color gris; en una de estas especies la transparencia lo hace casi invisible.
- 3° Tres especies de *sarcinas*, dos de las cuales presentan movimientos de traslación, siendo inmóvil la tercera. Las tres especies crecen rápidamente, son opacas y sus respectivos colores son anaranjado, gris y blanco.

4° Un *bacilo* muy mótil, de crecimiento rápido, que da colonias transparentes de color rosado.

5° Dos especies de *coccobacilos*, de las cuales una es ligeramente mótil, de crecimiento lento y que da colonias transparentes de color naranja.

La otra especie de *coccobacilos* es con mucho la más importante por su número en la flora bacteriológica del agua que nos ocupa; en efecto, más de la mitad de las colonias corresponden a este *coccobacilo*, cuyos caracteres son los siguientes: gran motilidad, crecimiento tardío y colonias regulares, transparentes, de color gris e iridiscentes.

Se encontraron además dos colonias de hongos que aparecieron desde el primer día y cuya ausencia de fructificación no me permitió clasificarlos genéricamente. Ambas especies pertenecen al grupo de los *hyphomycetos*.

De todas las bacterias, pues, que trae el agua de Curridabat, no hay ninguna (en un centímetro cúbico) que pertenezca al grupo *coli*.

Se hizo a la vez la cultura en gelatina y al cabo de 48 horas a 20° se obtuvieron 5 colonias liquidantes. La licuefacción total se efectuó el 9° día.

2° Agua que entra a los tanques de San José

Esta agua con solo llegar al tanque, comienza a contaminarse, dando 78 bacterias por centímetro cúbico. En gelatina hay 30 que licúan al cabo de 48 horas a 20° y la licuefacción total se efectúa al 6° día. Se obtienen 6 colonias de hongos.

3° Salida del agua de los tanques de San José

A pesar del corto tiempo de estancamiento, el agua sale ya con una muy notable contaminación: 200 bacterias por centímetro cúbico. Hay 40 colonias que licúan la gelatina el segundo día y la licuefacción total se efectúa al tercer día.

El cómputo de bacterias del agua que llega a Curridabat, se controló con el cómputo del agua de la cañería del Hospital (pues

ésta viene directamente sin pasar por el tanque). La salida de los tanques se controló con la salida de la cañería (filtro de la Botica Municipal) a donde llega el agua después de estancada en San José.

El cultivo en bilis del residuo del filtro dio, aislando en placas de Drigalski, varias colonias de *Bacterium coli*.

Conclusiones del análisis bacteriológico

1° El agua que llega a Curridabat es una de las llamadas *excesivamente pura* (*Miquel*), no contiene cantidades apreciables de *coli* ni gérmenes nocivos.

2° En los tanques de San José se contamina con gran número de bacterias, especialmente bacterias putrificantes, *proteus*, *flourecens*, *coli*, etc.

COMPARACION DE LOS DIVERSOS ANALISIS

Como hemos dicho al principio de este informe, estos diversos análisis se complementan y la comparación de los resultados da una idea muy clara de la calidad de un agua.

Así, por ejemplo, la limpidez del agua de Tres Ríos, constatada por el examen físico, junto con la cantidad de nitratos, constatada por el examen químico, explica el crecimiento abundante de las algas en los estanques descubiertos de esta ciudad y la presencia de estas algas explica la pululación de protozoarios y otros animales, pues las algas constituyen para ellos el alimento necesario, así como los nitratos son el alimento de las algas; y por otra parte la presencia de cadáveres de animales o de algas en vía de desagregación, explica la pululación de bacterias.

Ahora bien la poquísima cantidad de substancia orgánica contenida en las aguas de Tres Ríos, antes de llegar a los estanques, es el motivo que nos explica el cómputo bajo de bacterias en dichas aguas.

El análisis químico no demuestra tampoco la presencia de substancias fecales: nitritos, cloruros en exceso, amoniaco, etc.,

y en efecto, el análisis bacteriológico muestra la ausencia de organismos de origen intestinal.

Al salir el agua de los tanques de San José, el análisis químico no constata un aumento apreciable de materia orgánica y el aumento de bacterias constatado por el análisis bacteriológico se explica por la rapidez con que se multiplican las bacterias en condiciones favorables, y de allí la gran sensibilidad de los exámenes bacteriológicos, comparados con los otros métodos de análisis.

CONCLUSION FINAL

El agua de Tres Ríos es excelente. El error consiste en no manejarla como usualmente se estila en cualquier caso de agua de fuente, es decir el conservarla siempre al abrigo del polvo y de la luz.

Sancho Jiménez, Francisco y Picado Twight, Clodomiro.
**Informe presentado con respecto al análisis
comparado de las aguas de Tres Ríos y Tiribí.**
San José, 1915.

INFORME PRESENTADO CON RESPECTO AL ANALISIS COMPARADO DE LAS AGUAS DE TRES RIOS Y TIRIBI

Francisco Sancho J.
Clodomiro Picado T.

San José, Mayo de 1915

Señor Lic. Don Alberto Echandi

Habiendo concluído el examen sanitario de las aguas del Tiribí en conexión con el examen sanitario de las aguas de las fuentes de Tres Ríos, que Ud. tuvo a bien encomendarme, informo a Ud. de la manera siguiente:

Se practicaron los análisis de diversas muestras de agua captadas

- 1.- En pleno Río Tiribí
- 2.- Al caer el agua de la zanja a los estanques de San José, y
- 3.- A la salida de los mismos.

De cada muestra fueron practicados los siguientes análisis:

- 1° Examen físico
- 2° Análisis químico
- 3° Análisis bacteriológico y
- 4° Análisis biológico.

Como en el caso de las aguas de Tres Ríos, el señor Francisco Sancho J. practicó los dos primeros y el tipo de agua potable fue el *Michigan Standard* propuesto por el señor Ingeniero Municipal y aprobado por la Municipalidad de San José.

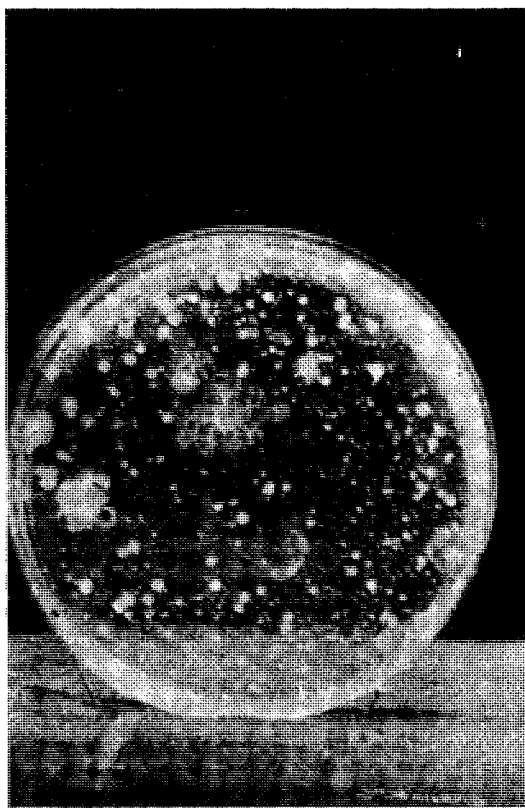


FIGURA No. 1. Fotografía de una gota de agua del Río Tiribí. Las partes blancas, indican las impurezas.

En el caso del agua del Tiribí se siguieron los mismos procedimientos químicos que para el agua de Tres Ríos, con la diferencia que en el caso del Tiribí, por ser una agua de río, se practicó además la pérdida por ignición. En cuanto a los exámenes bacteriológicos, éstos fueron practicados por los mismos métodos que en el caso del agua de Tres Ríos, con diferencia que como las aguas del Tiribí están ampliamente contaminadas por los microbios, hubo que hacer las siembras con diluciones a 1/10 en vez de hacerlo sin dilución ninguna como en el caso de las aguas de Tres Ríos.

Habiendo ya discutido ampliamente el valor de los métodos empleados y la significación de cada uno de los análisis en el informe presentado a la Municipalidad de San José y deseando en el actual ser lo más breve posible, resumimos a continuación en un solo cuadro sinóptico el estudio comparativo de los diversos análisis practicados en ambas aguas. Si en este cuadro comparamos las cifras arrojadas por los análisis (de las dos aguas en comparación), vemos que mientras las aguas de Tres Ríos son muchísimo más puras que lo pedido como tipo, las del Tiribí exceden notablemente, en ciertos de sus componentes, a lo requerido como tipo, y la presencia de nitritos nos indica que estas aguas traen materia orgánica *en vía de descomposición*. Por otra parte, el análisis bacteriológico nos muestra que mientras las aguas de Tres Ríos son de las llamadas excesivamente puras, el agua del Tiribí, es una agua repudiable por el número de las materias que arrastra, por estar ampliamente contaminada, *aun en el Tiribí mismo*, por microbios propios a las deyecciones, lo cual significa que habría que cuidar no solamente de la no contaminación de las aguas en su trayecto del Tiribí a los tanques, sino también durante su discurso por el río.

El análisis biológico muestra en ambas aguas, y al salir de los estanques, las mismas especies de algas, *faltando éstas en el agua que cae en Curridabat*, lo cual muestra, hasta la evidencia, que son los tanques la causa de la pululación de dichas algas: y si bien es cierto que los estanques que almacenan el agua de Tres Ríos tienen una flora mucho más rica en individuos y *no en especies*, eso muestra justamente que las aguas de Tres Ríos por su pureza y ausencia de materias orgánicas en

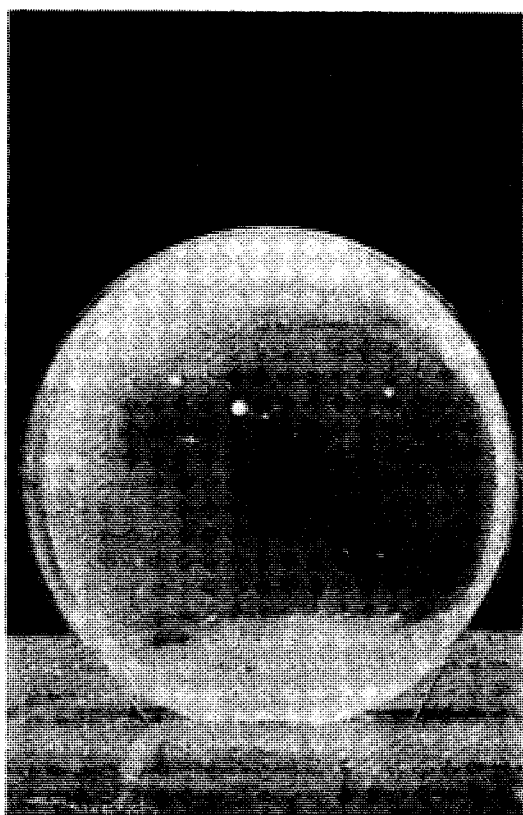


FIGURA No. 2. Fotografía de una gota de agua de las fuentes del Padre Carazo y del Chigüite. Las partes blancas indican las impurezas.

Análisis

Comparado de las aguas de Tres Ríos y Tiribí

	Agua que llega a Curridabat (Tres Ríos)	Entrada a los estanques de San José (Tres Ríos)	Salidas de los estanques de San José (Tres Ríos)	Michigan Standard	Salida del agua de los estanques de San José (Tiribí)	Llegada a los estanques (Tiribí)	Pleno río Tiribí	Exceso del Tiribí sobre el Standard
Examen físico por Fco. Sancho Jiménez	Turbidez Sedimento Color Olor	Ninguna Nada Ninguno Ninguno	Ninguna Nada Ninguno Ninguno		Mucha Poco Ninguno A todo	Mucha Bastante Ninguno A todo	Poca Mucho Ninguno A todo	
Am. libre	0,016	0,014	0,007	0,050	0,078	0,02	0,14	0,068
Am. albm.	0,034	0,044	0,018	0,150	0,078	0,292	0,218	0,0016
Nitritos	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012	0,050	0,0016	0,10
Nitratos	0,33	0,25	0,50	0,900	0,25	0,20	1,00	
Dureza	71,4	74,3	65,7		77,1	60,0	60,0	
Total solid.*	162,0	170,0	168,0	500,0	182,0	216,0	312,0	
Ox. consm.	0,10	0,10	0,15	2,20	1,60	3,90	5,50	3,30
Cloro	6,4	6,0	5,0	12,1	2,0	2,20	2,20	
Perd. p. ignc.				0,000	34,0	40,0	48,0	
Res. fijo				50 a 200	148,0	176,0	264,0	
Nº Bact. 1cm³	12	78	200		2,880	2,400	4,000	3 800
Nº col. líquid.	30		40		Total	Total	Total	
Licuef. total	9º día	6º día	3er día		A 36 horas	2º día	A 36 horas	
Coli. en 1cm³	No hay	No hay	Si hay		Si hay	Si hay	Si hay	Presencia
Hongos	6 colonias	6 colonias	6 colonias	Ausencia	8 colonias	8 colonias	8 colonias	
Diatomeas	No hay	No hay	Navicula Fragilaria		Navicula Fragilaria			
Cyanoph.*	No hay	No hay	Synedra (pocas)		Synedra			
Conjug.*	No hay	No hay	Oscillaria (bastantes)		Oscillaria (bastantes)			
Protozoarios	No hay	No hay	Coenacium Penium		Coenacium Penium			
Metazoarios	Si hay	Hay pocos	Euastrum, Spirogyra (pocas)		Euastrum, Spirogyra (pocas)			
	No hay	No hay	Infusorios, amibas, y monos.		Infusorios, amibas, y monos.			
			Rotíferos, chironomus y Planarias		Rotíferos, chironomus y Planarias			

Flora y Fauna de los Estanques

Flora y Fauna de los Estanques

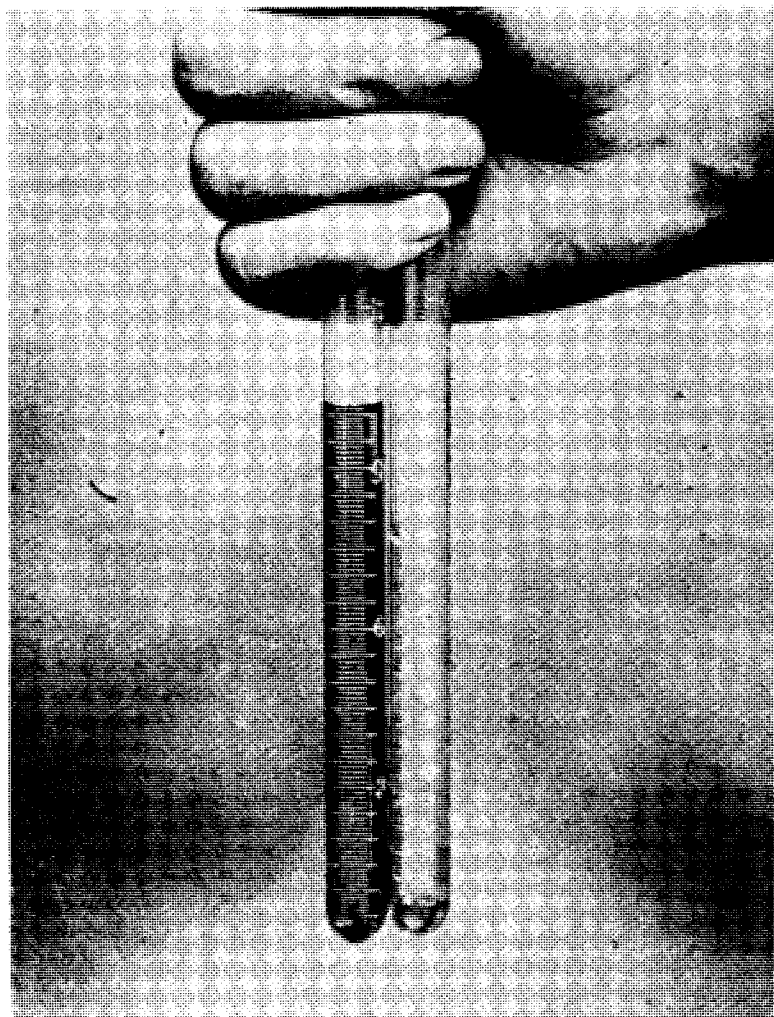


FIGURA No. 3. Las partes negras, indican las impurezas; el tubo de la izquierda tiene agua del Tiribí, el de la derecha tiene agua de las fuentes del Padre Carazo y del Chigüite.

descomposición, se prestan más fácilmente al crecimiento de las plantas verdes.

En lo que respecta a la fauna, debemos decir que aquellas especies que viven solamente en las aguas de Tres Ríos almacenadas en los estanques y no en las del Tiribí, son especies que requieren aguas puras.

Las fotografías adjuntas permiten comparar el número de microbios que viven en las aguas del Tiribí con el de las aguas de Tres Ríos, número que se mantiene en relación directa con la cantidad de materia orgánica contenida en dichas aguas, de lo cual nos da una idea gráfica una de las fotografías.

Conclusión

Las aguas de Tres Ríos son purísimas, química y bacteriológicamente, mientras que las aguas del Tiribí son inaceptables en las condiciones actuales y su empleo como agua potable es inadmisibile. Solamente sometiéndola previamente a un proceso eficaz de purificación, podría ser empleada como tal.

f) C.Picado T.

PRIMERA CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LAS MICOSIS EN COSTA RICA (*)

El conocimiento de las micosis de la América tropical ha sido iniciado apenas, y, en algunos países, tales como Costa Rica, son del todo desconocidas. Sin embargo, las condiciones climáticas del país, hacen suponer un enorme desarrollo de infecciones de origen micótico, toda vez que los hongos patógenos no son en la casi totalidad de los casos, sino especies saprófitas, accidentalmente transformadas en especies parasitarias, gracias a la concurrencia de múltiples condiciones favorables. Ahora bien, los hongos saprófitos abundan en Costa Rica más de lo que sería deseable: cualquier sustancia orgánica que se abandona a sí misma, se enmohece en un tiempo excesivamente corto.

Por otra parte, la recolección del maíz, cultivado en casi todo el país, es, a no dudarlo, una ocasión muy propicia para ser infectado por los hongos. Por otra parte la abundancia de bosques y el constante contacto con la vegetación natural son otras tantas fuentes de frecuentes infecciones.

Podemos darnos una idea de la abundancia de las micosis en Costa Rica, por el hecho de haber encontrado, sin poner empeño especial en ello, ocho especies de micosis, algunas del todo desconocidas, en el corto tiempo de seis meses, que llevamos practicando toda suerte de análisis clínicos en el Laboratorio de este Hospital; es decir, que el hecho de haber encontrado estas afecciones micóticas, es un simple accidente y que hay mucho que esperar del porvenir.

Las micosis encontradas hasta la actualidad son las siguientes:

(*) Nota del editor: este trabajo fue publicado originalmente en español y en inglés.

I. Lengua pilosa

Producida por el "simbionte" *Cryptococcus rectangularis* n. sp. + *Bacterium flavogenus* n. sp.

La paciente sufre de su enfermedad desde hace seis años. Las vellosidades linguales aparecen esporádicamente y desaparecen luego como si se tratase de una curación espontánea.

Las vellosidades linguales tienen, vistas al microscopio, el aspecto de un talo de musgo, (Figura Nº 1). Sobre el eje córneo de la vellosidad se insertan las levaduras, que representan las foliolas del musgo.



FIGURA Nº 1.—Vello- sidad lingual y 2 le- vaduras sueltas.

Las vellosidades linguales sembradas en Agar maltosado de Sabouraud dan colonias que recuerdan un cuerpo cristalizado en las que es fácil distinguir vellosidades negruzcas.

Si se examina una parcela de estos cultivos, al cabo de 24 horas a 37° C, se ve que está formada por un *Cryptococcus rectangularis*, carácter que lo distingue fácilmente del *Cryptococcus linguæ pilosæ* que da formas ovoides cuyo borde es redondeado.

Entre los pequeños elementos rectangulares del cultivo se ven filamentos formados por 3 ó 4 células alargadas, la longitud de las cuales es 3 ó 4 veces mayor que la de los pequeños elementos (Figura Nº 2).

Una cultura en Agar de Sabouraud abandonada 48 horas a la temperatura del Laboratorio (20° C más o menos) da formas diversas, (Figura Nº 3) que uno o dos días después dan un micelio abundante.

Si se examina al microscopio el borde de uno de estos cultivos vemos que está constituido por elementos simples y

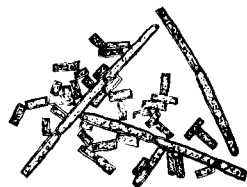


FIGURA Nº 2.—Cultivo inicial de la levadura en medio de Sabouraud.

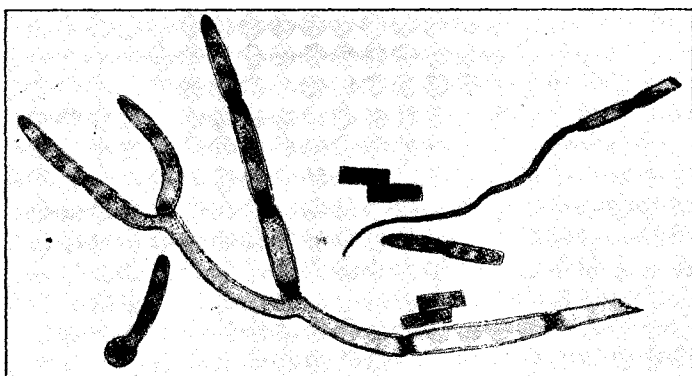


FIGURA N° 3.—Diversas formas que toma el hongo al cabo de 24 horas de cultivo a 37° C en medio Sabouraud.

otros ramificados en forma dicótoma o tricótoma. Se encuentran además hifas que terminan en esferas (Figuras N° 4 y N° 5).

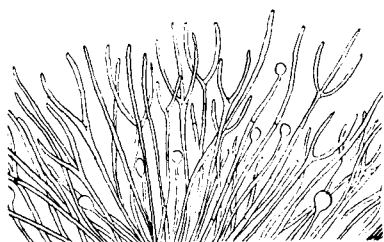


FIGURA N° 4.—Aspecto del borde de una colonia nueva del simbiote.

Cuando se practica el examen microscópico de un cultivo, se ve que no se trata solamente de un hongo sino que *constantemente* se agrupan y se adhieren a las paredes del hongo, gran cantidad de bacterias que se colocan a

lo largo del micelio de manera que tienen el mayor contacto posible (Figura N° 6).

Tratamos por varios métodos de aislar cada uno de estos organismos, lo cual conseguimos después de varios ensayos.

La bacteria es fácil de aislar haciendo sucumbir el hongo en un medio alcalino. Basta, en efecto, sembrar en caldo alcalino ordinario un fragmento de un cultivo simbiótico para obtener un cultivo puro de la bacteria. Puede

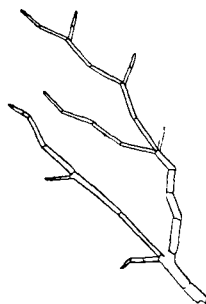


FIGURA N° 5.—Hifa vieja.



FIGURA N° 6.—
*Hifas y bacterias
en simbiosis.*

obtenerse también este aislamiento de varias otras maneras: se siembra el simbiote en placas de Sabouraud y se coloca a 37° durante 24 horas y entonces se obtiene un cultivo abundante de la bacteria, pero si se abandonan estas placas a la temperatura ordinaria se ven aparecer, al cabo de pocos días, colonias del hongo. Si se practica el aislamiento en placas de Drigalski, el hongo no crece, pero la bacteria da pequeñas colonias.

En cambio si se siembra y se abandona una placa de Sabouraud a la temperatura del laboratorio (20°) durante algunos días, se ve pronto aparecer alrededor del cultivo simbiótico pequeñas colonias de la bacteria (Figura N° 7).

El aislamiento del hongo ofrece, en cambio, mayores dificultades. Si se siembra en líquido Raulin, el hongo aparece bien pronto en la superficie, la bacteria se encuentra con bastante dificultad, pero basta resembrar este cultivo en el medio de Sabouraud, para obtener nuevamente el simbiote primitivo.

Pudimos obtener, al fin, una cultura pura del hongo, por medio de las diluciones sucesivas en Raulin (y partiendo de una cultura, en Raulin, de 6 días). El hongo toma entonces la forma de una levadura oval que se reproduce por retoños como una levadura ordinaria. Si se resiembra en Sabouraud, esta levadura guarda siempre su forma primitiva y da colonias blancas que parecen rosáceas esculpidas en yeso.

El aspecto macroscópico de este hongo puro difiere en un todo del cultivo simbiótico, a la vez que del cultivo de la bacteria: las Figuras N° 8, 9 y 10 nos muestran estas diferencias.

Una vez en posesión del hongo puro y de la bacteria pura, sembramos en leche tornasolada cada uno de ellos y pudimos constatar que la bacteria acidifica y coagula esta leche, mientras que el hongo no. Si, en cambio, en leche tornasolada, sembramos el simbiote, vemos que la coagulación se produce más pronto y que es seguida de una brusca digestión.

Esto explica, creemos nosotros, el rol de la asociación: la bacteria acidifica el medio, rindiéndolo propicio al crecimiento

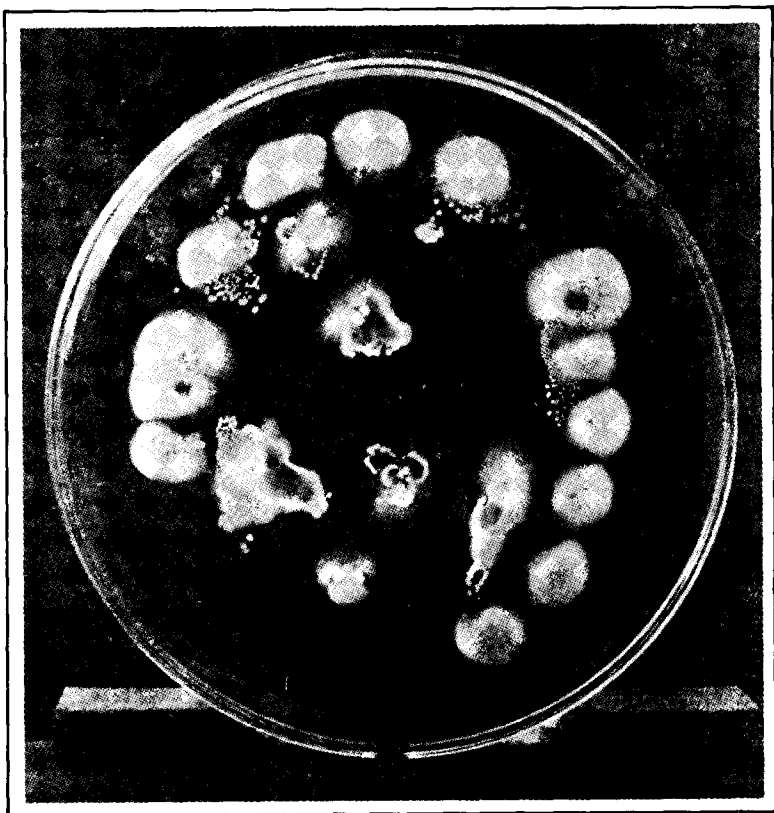


FIGURA Nº 7.—Cultivo del simbiote en donde se ven separarse espontáneamente algunas pequeñas colonias de las bacterias (Tamaño natural).

del hongo, y obtiene del micelio de éste los elementos propios a su desarrollo.

Los ensayos de síntesis del simbiote primitivo fracasaron.

La bacteria

Se presenta en las formas simbióticas, como un óvalo alargado, a veces unidas dos a dos en el sentido longitudinal. Es muy

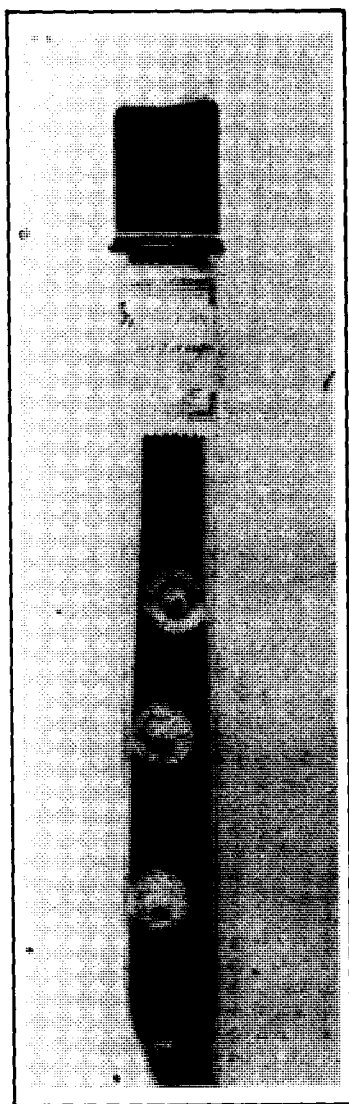


FIGURA N° 8.—Cultivos del simbiote en agar de Sabouraud (Tamaño natural).

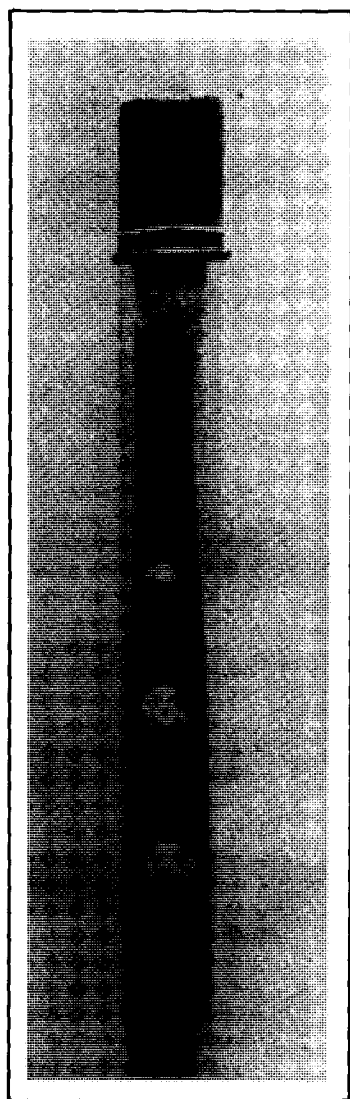


FIGURA N° 9.—Cultivos de *Cryptococcus rectangularis* n. sp. en agar de Sabouraud (Tamaño natural).

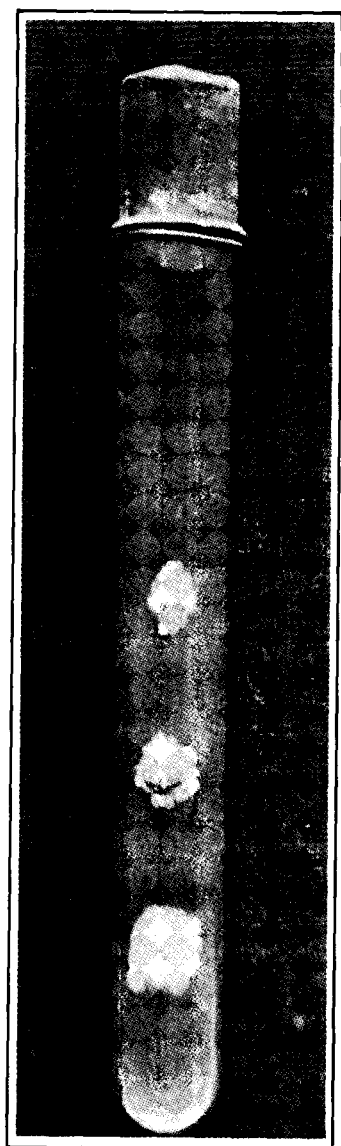


FIGURA N° 10.—Culturas de *Bacterium flavogenus* n. sp. en agar ordinario (Tamaño natural).

móvil y hemos podido colorar en ella varios flagelos. La cultura en caldo da, por el contrario, formas alargadas y delgadas que recuerdan en un todo los bacilos paratíficos. No se colora por el método de Gram. No es aglutinada ni por los sueros antiparatíficos ni por el suero antitífico. El suero de la enferma no la aglutina tampoco. En cambio; el suero de la enferma, a una dilución de 1/100, aglutina rápidamente una emulsión hecha con el hongo.

Los cultivos de la bacteria en Agar ordinario se coloran en amarillo fluorescente. El caldo también es teñido de amarillo por esta bacteria.

¿Cuál es el rol patógeno de cada uno de estos organismos?

El hecho de que el suero de la enferma no aglutine la bacteria y sí al hongo, parece mostrar que la infección principal es de origen micótico. El examen del jugo gástrico de la enferma nos muestra, por otra parte, ausencia de ácido clorhídrico y presencia de ácido láctico (siendo la acidez total normal). Esto pareciera significar que el rol patógeno de la bacteria es acidificante, como *in vitro*.

El hecho de haber encontrado esta forma simbiótica, verdadero líquen constituido por una bacteria y un hongo nos hace pensar que quizás estos simbioses son mucho más abundantes, y que nuevos descubrimientos vendrán a aumentar el número de estas nuevas entidades biológicas para las cuales proponemos el nombre de "micosimbionte".

El nombre de *Cryptococcus rectangularis* reservado para el hongo descrito, nos recuerda uno de sus caracteres principales: levadura en forma cuadrangular. El nombre de *Bacterium flavogenus* con que designamos la bacteria, nos sirve para recordar su función cromógena característica.

II. Dermatitis aspergilar

Esta micosis dérmica presenta un aspecto raro que recuerda, a la vez, aunque vagamente, los carates y el tokelau. La piel de la faz y particularmente en las orejas, se encuentra cubierta de manchas rosadas que dan el efecto de haber sido producidas por un borrador de goma elástica. Estas manchas están rodeadas por una zona más oscura y bastante delgada.

La enferma tenía, a más de las placas faciales, cuya forma y disposición nos revela la Figura N° 11, algunas otras placas en el pecho y en la espalda; tenía, además en una mano una pequeña goma.

La enferma se queja sobre todo de la picazón constante de las placas. Hace dos años que padece de la enfermedad, adquirida, probablemente, de la harina de trigo con la cual la enferma trabaja frecuentemente. Había sido tratada por el Neosalvarsán, sin ningún resultado, como bien se comprenderá. Su enfermedad había también sido confundida con Lupus. Sin embargo, tanto de las escamas del borde de las manchas como de la piel de la goma, obtuvimos en Agar de Sabouraud cultivo puro de una especie de *Aspergillus*. Por otra parte, el examen directo de las escamas dérmicas, en potasa cáustica, muestra fragmentos de micelio.

III. Tiña de *Penicillium*

El enfermo, de 13 años de edad, padece de una tiña de aspecto fávico, particularmente rebelde. Desde hace dos años comenzó por una pequeña mancha en una oreja, la cual fue, poco a poco, extendiéndose por casi todo el cuero cabelludo (Figuras N° 12 y 13).

El enfermo refiere que al mismo tiempo que le comenzó a él la tiña, le comenzó también a otros hermanos suyos que trabajan con él en los campos de labranza; que los otros hermanos se curaron con infusiones de hojas de güíزارo (*Psidium savnarum*) y con una pomada de azufre.

El examen del cabello, en potasa cáustica, muestra en su base un escaso micelio endógeno a la vez que una vaina semejante a la de las tiñas causadas por los *Microsporum*. La cultura en el medio de Sabouraud, nos dio un *Penicillium*, de color glauco, que crece en círculos concéntricos mucho más marcados que en los otros *Penicillium* que hemos observado (*P. crustaceum*, incluso). La Figura N° 14, nos muestra una de estas culturas vista por reflexión.



FIGURA Nº 11.—*Lesiones dérmicas causadas por una especie de Aspergillus.*

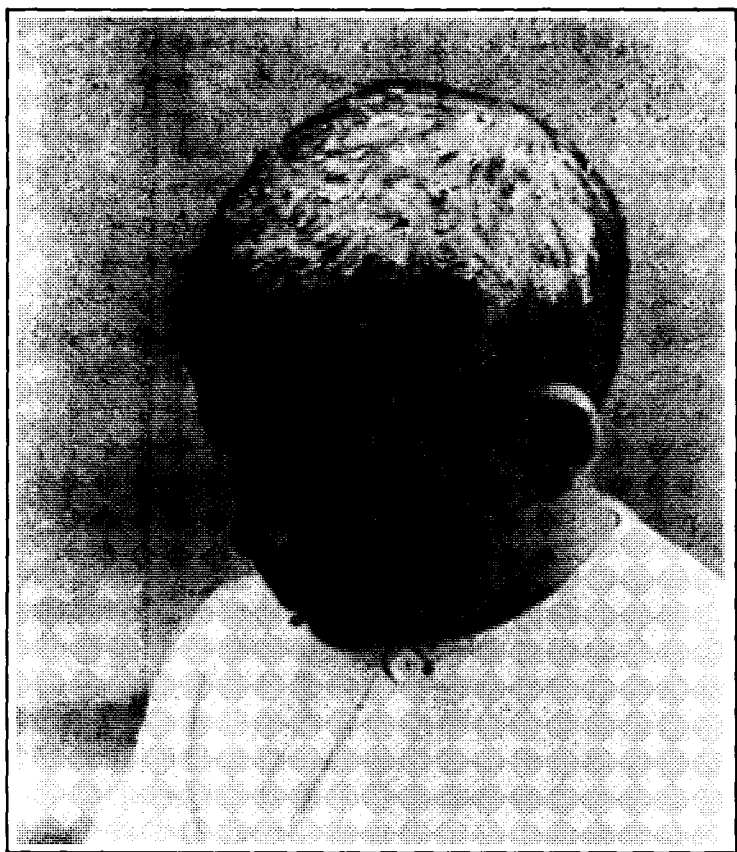


FIGURA Nº 12.—*Tiña de **Penicillium**. Aspecto del cuero cabelludo.*

El interés de esta tiña consiste, no solamente en su tenacidad y en la edad del paciente (púber ya), sino en el hongo que la produce. En efecto, no tenemos noticias de ninguna tiña humana causada por los hongos del género *Penicillium*.

Es interesante notar que en esta tiña, el cabello puede ser arrancado con todo y raíz, lo cual no sucede en las tiñas fávicas.

Ha sido tratado por una serie de pomadas, pero la epilación mecánica o por los rayos X no ha sido tanteada en absoluto.

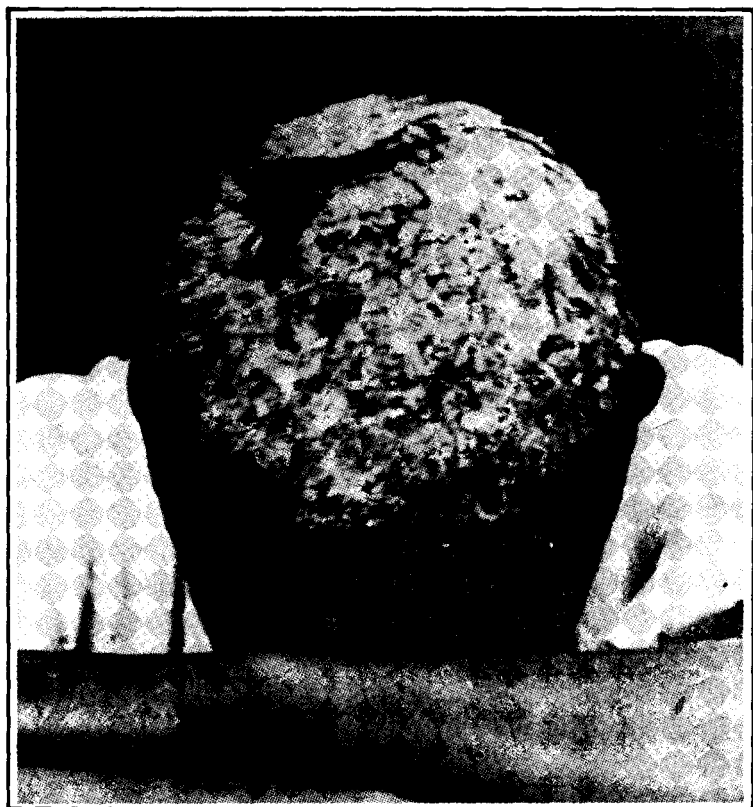


FIGURA N° 13.—Aspecto crateriforme de las lesiones de la tiña de *Penicillium*

IV. Carates de *Penicillium*

La Figura N° 15 nos muestra el aspecto de una especie de *Penicillium*, (que presenta cabezas esporíferas gruesas y cortas, a diferencia de la especie anterior). Este hongo ha sido aislado de varios carates y de varios niños que son hermanos.

Estos niños han sido infectados probablemente en la región del Pacífico a donde van frecuentemente. No sabemos si todos ellos fueron infectados directamente por el mismo hongo

saprófito o si hubo contagio entre ellos, lo cierto es que lo que se obtuvo fue una sola especie de *Penicillium*. El color del cultivo es idéntico al verde de los paños de billar. El carate es de color rosado.

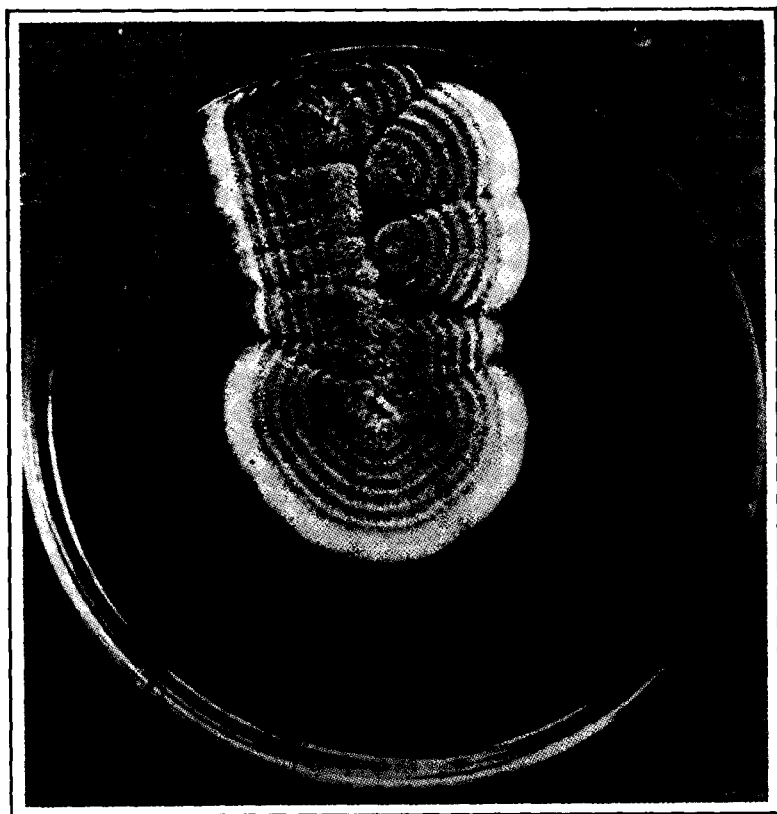


FIGURA Nº 14.-*Penicillium* sp. causante de una tiña pseudofálica (Cultivo de 8 días en Agar maltosado).

Los *Penicillium* causantes de carates han sido señalados desde hace tiempos en la América del Sur. Los niños fueron curados con una solución débil de nitrato de plata. En un caso bastaron dos aplicaciones con un día de intervalo y en otros tres.

V. Carate de *Trichophyton*

Este carate data de dos años; ha resistido al tratamiento por la tintura de yodo y por el nitrato de plata. El paciente fue sometido además, por un motivo puramente accidental, al tratamiento por inyecciones intravenosas de Electrargol y, contra lo que era de esperarse, el carate no fue modificado.

De las escamas epidérmicas de este carate, se obtuvo un *Trichophyton* que esporuló sin dar nunca colonias típicas y conservando siempre la forma lanosa aberrante que frecuentemente toman los hongos del género *Trichophyton*. La Figura N° 16 nos muestra la exuberancia y el aspecto algodonoso del cultivo de esta especie de hongo.



FIGURA N° 15.—*Penicillium* sp. aislado de escamas de varios carates rojos (Cultivo de 8 días en agar maltosado).

VI. Aspergillosis pulmonar

Varias veces hemos encontrado *Aspergillus* en los esputos y hemos indicado su presencia. En algunas ocasiones se encontraba el hongo solo y en otras, la micosis estaba acompañada de tuberculosis bacilar. De todos los casos señalados (6 ó 7 en 6 meses) solamente dos o tres fueron seguidos clínicamente y el tratamiento adecuado fue instituido con ventajas para las pacientes. (Dr. D. Quirós, Comunicación al 7° Congreso Médico Pan-Americano). Los otros casos fueron perdidos de vista.

VII. Tiña de *Trichophyton*

Dos hermanos, de poca edad, presentaban una tiña producida por un *Trichophyton endothrix*.

VIII

En un caso de "Ispundia", enfermedad cuya etiología es del todo desconocida, constatamos la presencia de un hongo que no fue posible cultivar. Vale la pena, sin embargo, dar esta indicación para buscar, en otros casos de la misma enfermedad, si se trata de una micosis constante. (La enferma había sido considerada como leprosa).

Al concluir esta primera y breve reseña sobre la micosis en Costa Rica; damos los más cordiales agradecimientos al Doctor don Emilio Echeverría que se hizo cargo de la enojosa tarea de traducir al inglés nuestro manuscrito.

(1) Próximamente nos ocuparemos de un caso de *Mucormycosis* pulmonar y de una vaginitis pseudomembranosa causada por un *Cryptococcus*.

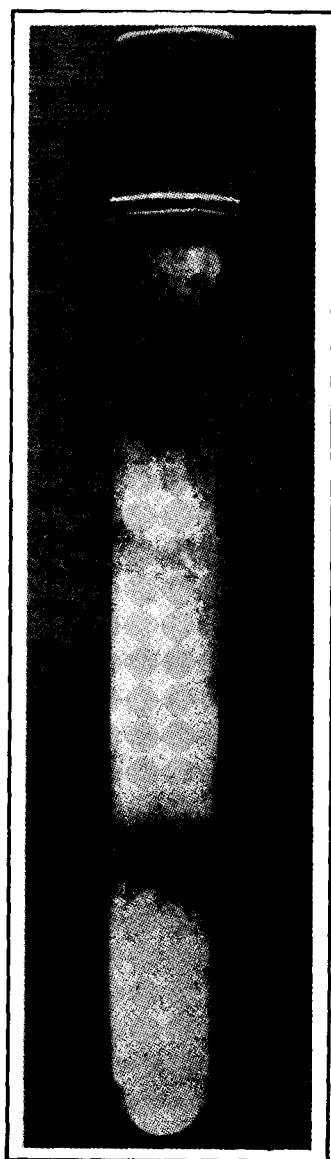


FIGURA Nº 16.—*Trychophyton* sp.
aislado de un carate. Forma algodonosa (Tamaño natural).

NUEVAS TECNICAS DE LABORATORIO

I. Diagnóstico precoz de las fiebres tifomorfas

Se sabe cuál es la utilidad del diagnóstico precoz en las afecciones febriles de aspecto tífico. La hemocultura es el único procedimiento que puede indicarnos la naturaleza del microorganismo causante. Durante los 4 ó 5 primeros días de la enfermedad, la hemocultura es, en efecto, positiva en 95% de los casos aproximadamente.

El procedimiento clásico y de elección para la hemocultura en los casos de fiebres tifomorfas es la cultura directa de la sangre en bilis de buey (Conradi) y después de 16 a 24 horas de incubación a 37° C., aislamiento de los bacilos en placas Drigalski Conradi (Zeidler y Kayser).

Con esta técnica es necesario verificar por la aglutinación y la fermentación de glucosa, si los bacilos que dan colonias azules, transparentes, son bacilos de Eberth o bacilos paratíficos, es decir que se necesitan tres días para la identificación exacta del microbio.

Durante la epidemia dotientérica desarrollada en el curso de la guerra actual, se han imaginado técnicas nuevas para la investigación precoz del bacilo de Eberth en la sangre, bilis y heces de los enfermos, con el interés de tomar, cuanto antes, medidas profilácticas. Entre los diversos procedimientos imaginados para la hemocultura, es particularmente interesante el descrito por P. Carnot y B. Weill-Hallé (*La Presse Médicale* N° 12. page 89 a 91. 25 mars 1915).

Estos autores han imaginado la hemocultura en tubos en U en el cual las dos ramas están separadas por arena muy fina; en una rama se introduce la mezcla bilis-sangre y en la otra caldo ordinario; al cabo de 24 horas de cultivo a 37° C., los bacilos cultivados en la bilis atraviesan el filtro de arena y van a pulular en la rama que contiene el caldo. La arena impide la mezcla de los líquidos, pero no presenta ningún obstáculo al paso de los bacilos. Se utiliza entonces el cultivo en caldo para practicar la aglutinación con el suero antitífico e identificar así el bacilo, pues la aglutinación no es posible en la bilis. Si se quisiera fermentar los azúcares, sería necesario un día más.

Los autores precitados han practicado también la hemocultura vertiendo en la superficie de la mezcla bilis-sangre, caldo ordinario, con muchas precauciones para impedir la mezcla. Con este dispositivo los bacilos que cultivan en la bilis emigran hacia el caldo y allí pueden ser tomados para la aglutinación.

M.L. Martin para la cultura del bacilo de Eberth y de los paratíficos, hace digerir el hígado de buey o de puerco por medio de una maceración de estómago de puerco y con ello prepara un caldo. Si el medio queda ácido con pocas burbujas de gas, se trata del bacilo de Eberth. Si es primero ácido, luego alcalino, con numerosas burbujas de gas, se trata de paratíficos; es necesario controlar la naturaleza de los microbios cultivados por la aglutinación con los sueros experimentales.

En nuestros países el problema que se plantea en los casos de dotienentería es saber si se trata verdaderamente del bacilo de Eberth, de los bacilos paratíficos o del *Bacterium coli*, pues a pesar de la rareza de las verdaderas infecciones tíficas y de la gran abundancia de las paratíficas, muchas fiebres raras y aún del todo desconocidas, vienen a oscurecer el diagnóstico. Es así que he tenido frecuentemente la ocasión de aislar, en casos de fiebres de aspecto tífico, los más diversos bacilos cuyos caracteres de coloración, cultura y propiedades biológicas, los separan netamente del grupo tífico.

Al comienzo de nuestros trabajos de laboratorio en el Hospital de San José, nosotros adoptamos la técnica de Zeidler y Kayser, pero era necesario esperar tres días. Con la intención de tener un resultado precoz adopté la técnica que voy a describir y

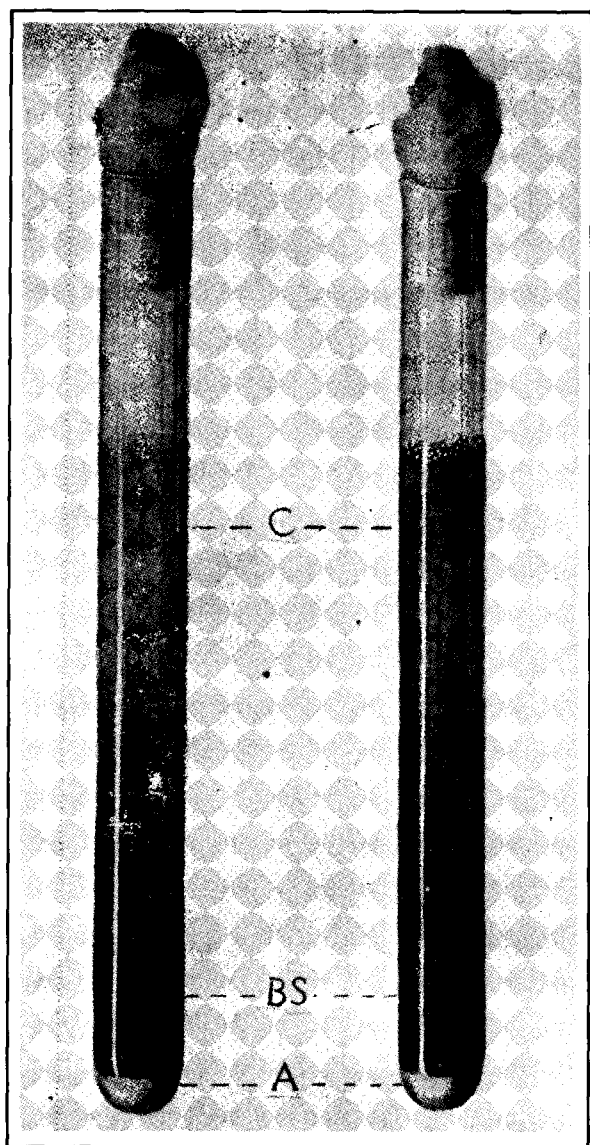


FIGURA N° 1.—Aspecto de un tubo sin fermentar y fermentado (a la derecha). A. Carbonato de calcio. B.S. Bilis-sangre. C. Caldo.

que me permite tener un resultado diferencial al cabo de 24 horas.

El material que se necesita es el siguiente: tubos de bilis estéril de buey, tubos de caldo glucosado-carbonatado (2% de glucosa y 2% de carbonato de calcio) y tubos de caldo lactosado-carbonatado; estos tubos deben guardarse en reposo algunos días para que el carbonato de calcio se deposite en el fondo.

La técnica es la siguiente

1° Se siembra en 10 centímetros cúbicos de bilis estéril, 2 a 3 centímetros cúbicos de sangre del enfermo.

2° Se vierte rápida y asépticamente la mitad de la mezcla bilis-sangre en un tubo de caldo glucosado-carbonatado y la otra mitad en un tubo de caldo lactosado-carbonatado.

Actuando así, la mezcla bilis-sangre cae al fondo del tubo sin mezclarse al caldo que sobrenada.

Se dejan los tubos de caldo durante 24 horas a 37° C.

En los casos de hemocultura positiva pueden obtenerse los resultados siguientes:

A. Ninguno de los dos tubos fermenta, pero el caldo es rico en bacilos móviles.

B. El tubo de glucosa es el único fermentado. El de lactosa presenta bacilos.

C. Los dos tubos fermentan.

En el primer caso se trata del bacilo de Eberth. En el segundo de bacilos paratíficos y en el tercero del coli-bacilo ⁽¹⁾. Los resultados son, como se sobreentiende, controlados por la aglutinación específica.

Esta técnica nos permite, practicando siempre la cultura de la sangre en bilis, medio de elección, conseguir en 24 horas lo

que se obtiene en tres días por la técnica clásica de Zeidler y Kayser.

II. La coloración del gonococo

El método clásico de Gram, que se emplea corrientemente para colorar el gonococo, es seguramente uno de los mejores; tiene la ventaja de eliminar una cantidad de diplococos que toman el Gram, pero adolece de dos defectos principales:

- 1° Es frecuentemente muy difícil distinguir los gonococos en un medio homócrono.
- 2° Ciertas razas de gonococos, aunque muy raras, toman el Gram.

El método de Pick y Jacobsohn, deja, por el contrario, los gonococos muy visibles gracias a la heterocromía del fondo, pero su defecto principal es que los otros microbios se coloran como el gonococo y puede uno equivocarse sobre la naturaleza del microbio en examen, sobre todo, si se trata de individuos extracelulares. Otro defecto de este método consiste en que el colorante no puede conservarse y que es necesario renovarlo cada vez. Yo llegué a evitar este inconveniente modificando la técnica de Pick y Jacobsohn de la manera siguiente:

- 1° Se deposita sobre el frotis una gota de fuchsina fenicada y se lava *inmediatamente*.
- 2° Se colora 12 segundos por el azul de metileno fenicado, se lava, y se examina.

Los gonococos y otros microbios, de la misma manera que en el procedimiento de Pick y Jacobsohn, quedan coloreados en azul oscuro, los núcleos de las células en azul más claro y su protoplasma en rosado violáceo.

Más tarde establecí una combinación del método de Gram y de mi último procedimiento; combinación que me da una serie de ventajas que no ofrece ninguna de las técnicas aisladas.

Coloro el frotis por el violeta de genciana fenicado, se decolora por el alcohol absoluto y recolora por la fuchsina.

Se examina la preparación y se constata la presencia o ausencia de diplococos Gram positivos. Los gonococos quedan coloreados por la fuchsina en rojo homócrono con el fondo. Se retira la misma lámina y se deposita sobre ella azul de metileno durante 20 segundos; no es necesario decir que hay que lavar el aceite de cedro con xilol antes de colorar con el azul de metileno.

Se examina y se ve que los gonococos aparecen ahora coloreados en azul sobre un fondo rosado violáceo.

Es decir que siguiendo esta técnica se ve sobre una misma lámina lo que puede compararse a dos pruebas fotográficas: una negativa (Gonococos homócronos con el fondo) y otra positiva (Gonococos azules en fondo rosado).

Puede pues, sin más que hacer un Gram con doble coloración por la fuchsina, y agregando algunas gotas de azul de metileno después de un primer examen, aprovechar las ventajas del método de Gram (diferenciación de otros diplococos) y de las del método de Pick y Jacobsohn (contraste neto entre el gonococo y el fondo) sin emplear más que una sola lámina y observando un mismo lugar en ésta.

III. Cultura de hongos

El medio más favorable a la cultura de los hongos es sin duda el agar maltosado de Sabouraud. En nuestros países es frecuentemente difícil procurarse la maltosa y la peptona granulada que se emplea en la preparación de este medio. Yo he buscado, pues, un medio compuesto de sustancias que puedan procurarse siempre y cuya preparación estuviera al alcance de todo el mundo.

Un medio hecho a base de "dulce" ⁽²⁾, solución en agua a 11° Brix (6,11 Baumé) adicionado de 1% de peptona, 0,5% de fosfato de amonio y 2% de agar-agar da los mejores resultados para la cultura de los hongos patógenos (*Cryptococcus*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, etc.).

La manera de preparar este medio es del todo simple:

Se disuelve el dulce, de 130 a 150 gramos en un litro de agua; se agrega un poco más de agua para obtener los 11° Brix, se hierve y se agrega la peptona y el fosfato de amonio; una vez estas sustancias disueltas se agrega el agar-agar. No hay necesidad de filtrar pero es necesario controlar que el medio sea *lige-ramente ácido*; se distribuye en los tubos y se esteriliza al auto-clave; luego se inclina.

Al concluir doy cordiales agradecimientos al Dr. Dn. Gustavo Michaud, que ha tenido la bondad de darme las indicacio-nes sobre la composición del dulce lo mismo que la de corregir el texto francés.

(1) Las otras afecciones intestinales, disentería bacilar, etc., aunque provocan una fiebre no producen normalmente una septicemia y la hemocultura es negativa por consecuencia.

(2) Se llama dulce y también panela el residuo obtenido por la evaporación del jugo de la caña de azúcar sin otra purificación que la coagulación de la albúmina por medio de un poco de cal y la extracción de las espumas. El *dulce* se compone de:

Agua	7,2%
Sacarosa	82,6%
Azúcar invertido	8,4%
Cenizas	0,5%
Celulosa, goma y pérdida	1,3%

El total de azúcares varía generalmente entre 83 y 92%

METODO NUEVO Y FACIL PARA COLORAR BACILOS DE KOCH, HANSEN, ETC.

El método clásico de Ziehl Neelsen para la coloración del bacilo de Koch es seguramente el más practicado. Su principal inconveniente es que, cuando la preparación es gruesa, los bacilos no son visibles; por otra parte, las operaciones de coloración son varias:

1. Colorar en caliente por la fuchsina fenicada.
2. Tratar por un ácido diluido.
3. Decolorar con alcohol absoluto.
4. Recolorar con azul de metileno.

Biot¹ encontró un método de coloración de los bacilos de Koch, que los hace muy visibles y permite encontrarlos en condiciones en que no hubieran sido vistos en láminas coloreadas con el método clásico. En efecto, empleando el método de Biot pueden explorarse capas sucesivas de un frote grueso y los bacilos aparecen siempre netamente coloreados de violeta intenso, sobre fondo rosado.

El método de Biot facilita el encuentro de los bacilos de Koch, pero las operaciones son también varias:

1. Colorear en caliente por la fuchsina fenicada.
2. Tratar por el ácido nítrico al 20%.
3. Decolorar con alcohol absoluto.
4. Sumergir en formol 1 a 3 minutos.

Yo encontré un nuevo método que gozando de las ventajas del de Biot, no requiere sino dos operaciones:

1. Colorear en caliente por la fuschina fenicada.
2. Decolorar con:

Alcohol absoluto	80 centímetros cúbicos
Acido nítrico	20 centímetros cúbicos
Formol	100 centímetros cúbicos

La decoloración se lleva hasta que la lámina deje de desteñir, se lava en agua, se seca y examina.

La solución empleada ha sido recientemente preparada.

Los bacilos quedan de color lila intenso sobre fondo rosado, pueden explorarse capas sucesivas de un frote grueso y los bacilos son más fácilmente encontrados que con el método clásico. Este método es, como se supone, aplicable a la coloración del bacilo de Koch, de Hansen, etc.

Es el método más simple y eficaz de cuantos conozco.

NOTAS

1. C. R. Assoc. des Anatomistes. Congres de Lyon, p. 234-237, 1901.

TECNICAS E INTERPRETACION DE LA REACCION DE WASSERMANN

El presente trabajo no contiene ninguna novedad científica; es la síntesis de los conocimientos que poseemos hasta la hora actual sobre la biología y sobre las reacciones concernientes al Treponema de Schaudinn. Hemos tratado de documentar lo más posible este ligero resumen de manera que cada aseveración vaya respaldada por un nombre ilustre y que el lector pueda verificar nuestras citas.

CONCEPCION ANTIGUA Y CONCEPCION ACTUAL DEL MECANISMO DE LA REACCION

Cuando Wassermann descubrió la reacción que lleva su nombre creyó hacer una aplicación del método de Bordet y Gengou o sea la desviación del complemento en presencia de un antígeno y de su anticuerpo correspondiente.

Actualmente sabemos que la reacción de Wassermann no entra en el cuadro de Bordet y Gengou, sino que *en el suero de los sífilíticos se encuentran cuerpos coloidales que en presencia de ciertos tipoides fijan la Alexina* (que tampoco es un cuerpo único sino que puede fraccionarse en dos «eslabones» que actúan en sucesión determinada e irreversible). Así como el antígeno puede ser reemplazado por cuerpos químicos: coles-terina, etc., así la alexina *puede reemplazarse por cuerpos tales como sulfuro de bario y otros*.

Debemos, pues, poner todo nuestro empeño en no hablar de especificidad de antígeno con respecto al Wassermann, pues no se trata del fenómeno de Bordet y Gengou, sino de otra especie de reacción biológica: adhesión de coloides.¹

Las investigaciones de Levaditi, Leredde, Rubinstein, etc. tienden actualmente a establecer un antígeno sintético que sea más constante que los diversos extractos de órganos cuyo poder antigénico es muy variable.

CLASIFICACION Y CRITICA DE LAS PRINCIPALES TECNICAS

Las diversas técnicas pueden dividirse en dos grandes categorías:

- A) Las que emplean sueros humanos inactivados y alexina de otro animal.
- B) Las que emplean sueros humanos frescos, de menos de 24 horas.

A la primera categoría pertenece la técnica inicial de Wassermann, la primitiva de Bauer, etc.

A la segunda pertenecen las técnicas de Tschernogoubow, Hecht, Hallion, Bauer, Foix, Noguchi, Benard et Joltrain, etc.

Hay además un método puramente comercial que consiste en recibir para su examen sangres viejas de más de 4 ó 5 días y que *tienen que no servir*:

- 1º Por la destrucción espontánea de anticuerpos
- 2º Por la formación de complementoides
- 3º Por la infección bacteriana
- 4º Por estar hemolisados. (La sangre ha sido recogida en jeringas hervidas en agua corriente).

Las principales causas de error de las técnicas de la serie A, son:

- 1ª— El calentamiento destruye a veces las pequeñas cantidades de anticuerpos.²
- 2ª— Los sueros humanos tienen cantidades variables de hemolisinas anticarnero (0,1 de suero humano puede hemolizar de 0,1 a 2,0 de glóbulos de carnero a 5%). Como

el suero en examen puede ser fuertemente hemolítico y pobre en anticuerpos, la alexina se fijará parcialmente y con la que sobra se producirá la hemólisis; es decir, que la reacción será negativa cuando debiera haber sido positiva.³

En resumen: muchos sueros sífilíticos darán reacciones negativas, sea por destrucción de los anticuerpos durante el calentamiento, sea por exceso de hemolisinas.

Técnicas que emplean el suero fresco

Estas técnicas pueden a su vez dividirse en dos categorías:

- 1º—Las que emplean la alexina y las hemolisinas naturales del suero humano.
- 2º—Las que emplean suero humano activo, pero que añaden alexina y hemolisinas artificiales.

La principal objeción que se ha hecho a las técnicas que emplean el suero activo es la de que si éste tiene una cantidad muy pequeña de alexina, se obtendrá la fijación no específica, es decir una reacción positiva en sujetos indemnes.⁴

Para vencer este obstáculo, muchos autores: Weinberg, Busilla, Hallion, Bauer, Brendel, Demanche, etc., han elaborado técnicas que toman en cuenta el poder hemolítico de los sueros y añaden luego, a cada uno, cantidades variables de glóbulos.^{5, 6}

Entre las técnicas que emplean suero activo, pero que añaden alexina y hemolisinas artificiales, la más conocida, cuando menos en América, es la de Noguchi.⁷ Como es sabido, este autor emplea glóbulos humanos; solamente, como muchos sueros humanos contienen a veces grandes cantidades de isolisinas y pueden por consecuencia falsear la reacción, el autor diluye el suero del paciente y así evita esta causa de error, pero cae en otra, pues *al diluir el suero diluye también los anticuerpos* que pudiera contener y se obtendrá un resultado negativo cuando debiera ser positivo. Weinberg, al practicar la reacción de desviación del complemento en la echinococosis,

con la técnica de Noguchi ha tenido ocasión de constatar que frecuentemente, en casos comprobados de quiste hidático, cuya reacción serológica era positiva por la técnica de Hecht-Weinberg, era negativa por la técnica de Noguchi, pero que duplicando o triplicando la cantidad de suero humano, se obtenía la reacción positiva. La causa de error residía, pues, en la dilución de los anticuerpos.⁸

LA DISOCIACION DEL SERODIAGNOSTICO

Sucede frecuentemente que las reacciones que se practican con suero fresco y las que se practican con suero inactivo dan resultados discordantes.

Todas las publicaciones que no indican la técnica seguida por los autores, son la causa principal del desorden que reina en las ideas que se sustentan con respecto al valor clínico de la reacción de Wassermann.

Cuando se da el resultado de la reacción por el método de Hecht-Weinberg como Muy Positivo y al practicar la reacción por la técnica de Wassermann o de Noguchi, se obtiene un Resultado Negativo, el escepticismo sobre el valor de la reacción se adueña en seguida del criterio de la persona poco versada en cuestiones serológicas y cree que *la reacción de Wassermann no sirve o que fue mal practicada*.

Para hacer criterio al respecto veamos lo que dicen Leredde y Rubinstein en su estudio sobre el procedimiento de Wassermann y el de Hecht-Weinberg.²

Estos autores han seguido clínicamente más de 1 600 casos en la mejor clínica particular de dermatología y sifilografía que existe en París. Ellos dicen:

Diferentes autores han constatado ya que la reacción de desviación del complemento es más frecuentemente positiva con el suero fresco que con el suero calentado. Desgraciadamente, a excepción de Hecht, de Marg-Stern, de Levaditi y Latapie, no han acordado a los procedimientos que reposan sobre el empleo de sueros frescos, sino una confianza bastante limitada. Pero es verdad que estos autores no dan los detalles de su técnica, ni dicen si emplean el

antígeno a la misma dilución que en la reacción de Wassermann y sobre todo, no determinan la fuerza hemolítica de los sueros a fin de poder interpretar los resultados.

Nosotros hemos podido establecer que la disociación del serodiagnóstico (reacción de Wassermann negativa; reacción practicada con el suero fresco, positiva) se encuentra en los sífilíticos, sea al comienzo de la infección, sea después de un tratamiento que ha atenuado esta última, sea en los sífilíticos tratados o no tratados cuya sífilis está atenuada, pero presenta localizaciones graves, por ejemplo el nivel del glóbulo ocular o aún del eje espinal, algunas veces al comienzo de una sífilis grave tal como una sífilis cerebral, a veces en casos de sífilis atenuada espontáneamente. La disociación del suero diagnóstico ofrece, pues, desde el punto de vista práctico, un interés considerable.

Haciendo paralelamente el estudio de la reacción con sueros activos e inactivos, Leredde y Rubinstein consideran tres casos:

1º.—Si la reacción obtenida con el suero calentado es negativa y la de suero fresco igualmente negativa, el índice del suero fresco siendo débil (menos de 5), el resultado es definitivo.

2º.—Si la reacción con el suero calentado es negativa y la con suero fresco positiva, siendo alto el índice hemolítico (pasando de 5 ó 6), hay razón de considerar la reacción como positiva.

3º.—Si la reacción con el suero calentado es negativa y la con suero fresco es positiva, pero siendo débil el índice, se considerará la reacción como dudosa, pero hay toda razón de creer que se está en presencia de un caso específico y se tiene el deber, si la hipótesis de sífilis es permitida, desde el punto de vista clínico, de tratar al enfermo como sífilítico.

Vemos pues que estos autores dan todo crédito al empleo de sueros frescos. En el Instituto Pasteur de París también las

reacciones se practican con suero fresco y es a ella a la que dan crédito los sifilígrafos de esa institución.

La técnica seguida por mí en la práctica de la reacción de Wassermann, en Costa Rica, tiene por base el empleo del suero fresco (técnica Hecht-Weinberg). Para cada caso se efectúa la determinación del índice hemolítico de cada uno de los sueros y no se añade después de 1 hora de estufa a 37° C, sino la mitad de los glóbulos que cada suero puede disolver. Es decir que a cada suero se le da un 50% de probabilidades de dar un resultado negativo. Así pues, si en estas condiciones (y empleando un antígeno diluido doblemente que la dosis a la cual impide la hemólisis), obtenemos una reacción positiva; y si juzgamos con el mismo criterio que Leredde, Levaditi, Ravaut, Rubinstein, Latapie, Hecht, Marg-Stern, etc., etc., debemos creer en todas las probabilidades de una infección específica, y, repitiendo las palabras de Leredde y Rubinstein:

Se tiene el deber, si la hipótesis de sífilis es permitida desde el punto de vista clínico, de tratar al enfermo como sifilítico.

LA REACCION DE WASSERMANN Y LAS DIVERSAS ENFERMEDADES

Así como ciertas ilustraciones, por infieles que sean, se repiten hasta la saciedad de obra en obra, por no darse el autor el trabajo de hacer una nueva figura, así hay aseveraciones que pasan por tradición de libro a libro y nadie sabe quién, cómo, ni por qué lo dijo, y sin embargo, en todas partes se repite. Así, por ejemplo, cuando se hace una conferencia sobre la evolución de las tenias, el conferencista cree de su deber decir que la ley de Moisés prohibía a los israelitas comer carne de cerdo justamente para evitar la propagación de las tenias. Esto se repite de manera lamentable sin ver que se está cometiendo la simpleza de creer a Moisés al tanto de la vida íntima de los céstodos cuando aun no había ni el más rudimentario microscopio.

Los libros de medicina al tratar de la reacción de Wassermann, dicen siempre:

«La reacción de Wassermann es positiva en la sífilis, en la lepra, en la enfermedad del sueño, en el paludismo, en el cáncer, la escarlatina, y algunas afecciones tropicales raras».

Nadie sabe de la estadística, quién lo comprobó, qué técnica empleó, ni cuáles son «algunas afecciones tropicales raras», pero no por eso se abstienen de repetirlo.

Otras veces el *fulano de tal* que practica a todos los enfermos de su servicio la reacción y encuentra que dan resultado positivo varios de ellos atacados de varias enfermedades, instituye a todos ellos tratamiento antisifilítico, pero sus enfermos siguen lo mismo o peor. En cambio, si establece el tratamiento adecuado a cada caso la enfermedad cede.

Entonces *fulano de tal* concluye, creyendo poner una pica en Flandes, que la reacción no tiene valor alguno.

Este método de raciocinar lo llaman «simplista» los franceses, y ese señor olvida que un enfermo puede a la vez tener sífilis y tifoidea y que si él espera curarle la tifoidea con tratamiento antisifilítico por cuanto el Wassermann fue positivo, es una persona que no sabe su oficio.

Para que el trabajo tuviese valor tendría que volver a practicar la reacción después de tratar al enfermo como conviene a su enfermedad actual, ver si la reacción se volvió negativa o si persiste, y en ese caso ver si cede al tratamiento específico. Debe además indicar qué técnica es la que él empleó, y en qué condiciones se practicaron los exámenes.

Fuera de estos desvaríos los autores han demostrado que:

La reacción de Wasserman es positiva en la sífilis (luego veremos en qué proporciones en cada período según Citrón), en la lepra, en la enfermedad del sueño, en la fiebre recurrente, en el Pian, en una palabra en las *enfermedades Spirillares y Trypanosomiasis*.

En cuanto a las pretendidas reacciones positivas de otras enfermedades veamos lo que sabemos:

Bates, en Ancón, y Mathis y Heymann, en el Tonkin, han demostrado que el paludismo no da reacciones positivas.⁹

Sutherland y Mitra obtienen también la reacción negativa en los casos de paludismo y de Kala-azar.¹⁰

Letulle-Bergeron y Lépine practican el Wassermann en 346 tuberculosos y obtienen la reacción positiva solamente en los casos que tienen sífilis suspecta además de la tuberculosis.¹¹

Teissier y Bernard muestran que la reacción de Wassermann da resultado positivo, pero transitorio, en los escarlatinosos hepáticos, a condición de emplear un antígeno acuoso.¹²

Jeanselme obtiene Wassermann negativo en la Leishmaniosis cutánea.¹³

Sabouraud y Vernes demuestran que la reacción de Wassermann es negativa en la pelada.¹⁴

Foerster estudia cancerosos desde el punto de vista de la reacción de Wassermann y no obtiene resultados positivos sino en unos pocos casos que (en su mayoría) tenían sífilis suspecta, en unos pocos, se trataba de un cáncer de la lengua.¹⁵

En cuanto a los que sostienen que las personas sanas pueden dar Wassermann positivo ¿cómo hacen para probar que su paciente está sano?

En todo caso recordemos que la sífilis da Wassermann positivo y que el Novarsenobenzol cura la sífilis y también cura las otras enfermedades que dan Wassermann positivo (lepra excepto).

Recordemos también, que cuando se trata de sí mismo o de los seres queridos entonces no se piensa en que la persona que da el Wassermann positivo no debe ser tratada por el Novarsenobenzol. Por el contrario, establecen el inmediato tratamiento.

LA REACCION DE WASSERMANN EN LOS DIVERSOS PERIODOS DE LA SIFILIS

Antes de dar cifra alguna, acordémonos de las leyes clásicas formuladas por Citron:¹⁶

1º.—Cuanto más largo tiempo haya actuado el virus sifilítico y cuantas más recidivas haya producido en el organismo, la constatación de la existencia de anticuerpos en el suero será tanto más frecuente e intensa.

2º.—Cuanto más temprano haya sido aplicada la terapéutica (mercurial en ese tiempo), cuanto más tiempo haya sido continuada y más frecuentemente repetida; en fin, cuanto más amplio haya sido el modo de aplicación y cuanto más recientemente haya cesado, es tanto más rara la existencia de anticuerpos.

Como todo el mundo sabe, en los casos de sífilis comprobada la reacción de Wassermann no es siempre positiva, sino que hay cierto número de enfermos que dan Wassermann negativo.

No puede fijarse un porcentaje global de reacciones positivas sino que en cada caso este número varía. Según Citrón y Levaditi estos números son:¹⁸

A.—Durante el tiempo en que el chancro sifilítico aún persiste, el Wassermann es positivo en un 90 por ciento de casos.

B.—Después de la aparición de la roseola un 95 por ciento de veces.

C.—Después de las manifestaciones terciarias un 60 por ciento. Esto se debe a una ley biológica bien conocida:

Un individuo que tiene en su sangre más anticuerpos que otro, puede no estar más inmunizado que este último. Así por ejemplo un enfermo de tifoidea cuyo suero aglutina el Bacilo de Eberth a 1/500 puede estar en mejor o también en peor grado de inmunidad que otro individuo cuyo suero lo aglutine solamente a 1/100.

REACTIVACION BIOLOGICA DE LA REACCION DE WASSERMANN

Si un individuo con sífilis sospecha y dando una reacción de Wassermann negativa, recibe una inyección de uno de los arsenicales (Salvarsan, Novarsenobenzol, Hectina), la reacción de Wassermann se vuelve positiva (Milian et Giraud).¹⁹

Mac Donagh²⁰ muestra que en los casos de chancro sifilítico que todavía no dan reacción positiva, si se someten a una inyección de 606, al cabo de 48 horas la reacción se vuelve

positiva, pero que con 3 ó 4 inyecciones de 606 y un tratamiento mercurial simultáneo, la reacción queda definitivamente negativa.

Voisin²¹ cita también casos de reactivación de sífilis viejas mediante una inyección previa de Hectina.

Estos hechos, conocidos con el nombre de «reactivación biológica de la reacción de Wassermann» son de gran utilidad en los casos de sífilis sospecta que dan Wassermann negativo. Si a estos individuos, se les inyecta 0,30 de Novarsenobenzol y 8 días después se repite el Wassermann, la reacción se vuelve positiva en la mayoría de los casos de sífilis.

LA REACCION DE WASSERMANN Y EL TRATAMIENTO

Algo de lo más interesante que puede ofrecerse en medicina experimental es seguramente el paralelismo que presentan la terapéutica antisifilítica y la reducción de la reacción de Wassermann.

Cuando Levaditi logró inocular la sífilis a los conejos, pronto constató los hechos siguientes: a los pocos días de adquirido el chancro, en el cual pululan los treponemas de Schaudinn, la reacción de Wassermann comienza a ser positiva. Se establece el tratamiento por el Novarsenobenzol y pronto la reacción comienza a volver a ser negativa, cuando persiste siendo negativa el animal *está curado*. La prueba es el hecho de poder volver a adquirir otro chancro sifilítico. Cada cual sabe, en efecto, que las manifestaciones ulteriores de la sífilis inmunizan contra la úlcera inicial o chancro.

En cuanto al hombre se refiere, los hechos son los mismos (al fin de este trabajo se encontrará la historia de una reinfección), con una salvedad: hay individuos cuya reacción de Wassermann es irreductible, sea por ser arsenorresistentes (y en ese caso deben tratarse con mercurio), sea porque interviene alguna otra enfermedad, lepra, por ejemplo; o también por inmunización de los treponemas.

Una persona, en efecto, que tenga a la vez sífilis y lepra, podrá muy bien curarse de la sífilis, pero su Wassermann será siempre positivo pues la lepra que no le ha sido curada, persiste aún y ella también da Wassermann positivo.

LA REACCION DE WASSERMANN Y LA INMUNIZACION DE LOS TREPONEMAS

Juzgando por analogía con otros parásitos del grupo de los flagelados, los *treponemas* de Schaudinn no serían sino los elementos machos o microgametas de un protozoario: *Lympocytozoon pallidum*.²²

De cualquier manera que sea, los autores están acordes, casi unánimemente en considerar los treponemas como protozoarios y no como bacterias. Ahora bien, uno de los caracteres distintivos entre protozoarios y Bacterias es que los primeros, debido a su naturaleza animal, son susceptibles de inmunización. Así por ejemplo, si se trata paulatinamente un animal atacado de trypanosomas por medio del Atoxyl u otro arsenical, llega un momento en que los trypanosomas soportan perfectamente grandes dosis del medicamento sin mostrar perturbación alguna; *se han acostumbrado al medicamento*.

En lo que se refiere al tratamiento de la sífilis, se corre el mismo peligro: *Si el tratamiento no es enérgico desde el principio*, los treponemas, en su carácter de protozoarios, pueden habituarse al medicamento y volverse refractarios a él.

Esta sería, pues, una de las causas que no hay que perder de vista cuando nos encontramos en presencia de una reacción de Wassermann irreductible.²³

UTILIDAD PRACTICA DE LA REACCION DE WASSERMANN

Puesto que la reacción de Wassermann no es estrictamente específica de la sífilis, por no tratarse del fenómeno de Bordet-Gengou, hay muchas personas que creen que el Wassermann no tiene utilidad práctica alguna; nada más inexacto, sin embargo.

Los cuadros adjuntos muestran cuál es la utilidad que presta la Reacción de Wassermann, cuál es el crédito que se le da en las clínicas europeas y cuáles las ventajas que el médico deriva del estudio serológico del paciente.

Veamos lo que dice Vernes:²⁴

Fuera de las lesiones objetivas, nosotros no tenemos conciencia actualmente de la actividad de la sífilis y de la acción del tratamiento que por la evolución de la reacción de Wassermann. Para el clínico y el terapeuta no es, pues, el resultado brutal positivo o negativo lo que más importa, sino la posibilidad en presencia de muchas reacciones sucesivas operadas sobre un mismo enfermo, poderlas comparar: sea seguir su evolución.

RESUMEN DE VARIAS HISTORIAS CLINICAS ⁽¹⁾

A.—De 18 años, soltero, sin antecedentes sífilíticos adquiere un chancro con adenopatías inguinales, seguido de roseola. El Wassermann es muy positivo. Se trata por el Novarsenobenzol y cianuro. Al cabo de dos meses de reposo la reacción es negativa. Cinco meses más tarde, también negativa.

Adquiere un nuevo chancro, la reacción todavía no es positiva. Le sobreviene una roseola, es tratado; después de la 6ª inyección el Wassermann es aún positivo.—(Caso de los Drs. Aguilar y Umaña).

B.—Joven de 19 años, soltero, adquiere en el escroto un chancro crateriforme, indurado, de lo más típico. La reacción de Wassermann es muy positiva. Sigue una roseola. Se trata con Novarsenobenzol y cianuro de mercurio. Durante todo un año, por diversos conductos y con varios pseudónimos ha estado enviando la sangre y siempre se ha obtenido una reacción negativa.—(Caso de los Doctores Aguilar y Soto).

(1) Cada uno de los profesionales aquí citados ha revisado la historia del caso que le corresponde y me ha autorizado para publicarlo.

SIFILIS CLINICAMENTE SEGURAS

Resultado del Wassermann antes del tratamiento	El paciente deberá	Wassermann después de 2 meses sin tratamiento	El paciente deberá	Wassermann después de 1 año sin tratamiento	Interpretación
I Positiva	Ser tratado	Positiva (A)	Ser tratado más intensamente	Positiva	El paciente debe considerarse aun enfermo. Puede ser arseno-resistente y necesita un tratamiento diferente o haber tenido tratamiento incompleto.
		Negativa (B)	Dejarse sin tratamiento 10 meses. Si no ofrece nuevos síntomas.	Negativa	El enfermo se considerará como curado.
II Negativa	Ser tratado	Positiva (C)	Deberá ser tratado más intensamente, pues ha habido reactivación del Wassermann, como el caso (A).	Positiva	El enfermo no está curado. (Arseno-resistente o tratamiento insuficiente).
		Negativa (D)	Dejarse sin tratamiento 10 meses más.	Negativa	El enfermo se considerará como curado.

SIFILIS CLINICAMENTE DUDOSA

Wassermann antes del tratamiento	El paciente deberá	Wassermann con líquido raquídeo o con la sangre después de la inyección de prueba	El paciente deberá
III Positiva	Ser tratado como si fuera sífilítico, según el cuadro I.		
IV Negativa	El paciente deberá someterse a una inyección de 0.30 de Novarsenovenzol y a un Wassermann 8 días después. Si hay signos nerviosos se hará un Wassermann con líquido cefalo-raquídeo.	Positiva (F)	Ser tratado como sífilítico, según el cuadro I.
		Negativa (G)	Considerarse como no sífilítico mientras no manifieste nuevos síntomas.

SIFILIS CLINICAMENTE AUSENTE					
Wassermann antes del tratamiento	El paciente deberá	Wassermann 2 meses después de la última inyección	El paciente deberá	Wassermann después de 1 año de la última inyección	Interpretación
V Positiva	Ser tratado por Arsénobenzol que sirve para curar las diversas enfermedades que dan la reacción positiva.	Positiva (H)	Tratarse más intensamente por los medicamentos antiprotozoarios: Salvarsan, etc., etc.	Positiva	Debe tratarse sea de un arsén resistente o bien adolecer de otra enfermedad. «Cuando la reacción es irreductible cabe pensar en la Lepra», <i>Jeanselme</i> .
		Negativa (1)	Ser considerado como el caso (B).	Negativa	El paciente se considerará como curado.
VI Negativa	Considerarse indemne de sífilis y con pocas probabilidades de otras enfermedades que dan reacción positiva.				

C.—Casado; ha tenido manifestaciones sifilíticas. La reacción es muy positiva, es tratado por el Novarsenobenzol asociado al cianuro de mercurio, dos meses después la reacción es positiva ligeramente. Se intensifica el tratamiento. Nuevo período de reposo y la reacción se vuelve negativa. En cuatro ocasiones durante más de un año ha enviado la sangre, con nombres supuestos y siempre ha tenido un resultado negativo.—(Caso visto sucesivamente por los Doctores Uribe, Espinosa y Umaña).

D.—Tiene síntomas de Tabes y sospechas de sífilis, la reacción de Wassermann es negativa. El médico envía el líquido cefalorraquídeo para que le sea practicado un Wassermann, y éste es positivo. Se trata por el Novarsenobenzol y el enfermo mejora. (Caso del Dr. Hernández).

E.—Hace 11 años tuvo un chancro. Le fue diagnosticada sífilis y se sometió a un tratamiento mercurial y yodurado, se

abandona varios años. La reacción de Wassermann es muy positiva. Se trata por dos inyecciones de neosalvarsan y 12 de oxicianuro de mercurio. 3 meses de reposo y el Wasserman continúa siendo positivo. Se pone entonces 8 inyecciones (en serie) de Novarsenobenzol y 20 inyecciones de oxicianuro de mercurio. Al cabo de 2 meses de reposo el Wassermann es negativo, 3 meses después el Wassermann ha continuado siendo negativo.—(Caso del Dr. Amancio Sáenz).

F.—Tiene un chancro seguido de roseola se trata un año y medio por yoduro de potasio y mercurio, se le pone además una inyección de «606». Al cabo de un mes se pone 4 inyecciones (en serie) de Novarsenobenzol. Después de 9 meses de reposo el Wassermann es negativo. Nuevo reposo de 9 meses y entonces la reacción se ha vuelto positiva, se trata por 2 inyecciones de Novarsenobenzol y un mes de tratamiento por el cianuro de mercurio y el yoduro de potasio. 5 meses después la reacción es muy positiva, es decir que el último tratamiento reactivó la reacción por no haber sido curado aún.—(Caso tratado por los Doctores Aguilar y Lara).

G.—No tiene historia clínica ni manifestaciones sifilíticas, por curiosidad se hace un Wassermann el cual resulta negativo. 15 días después es contagiado de sífilis (chancro seguido de roseola) entonces el Wassermann es muy positivo, el enfermo abandonó el Hospital y no fue tratado.

H.—Casada de 40 años por lo menos, sin antecedentes sifilíticos conocidos. Durante mucho tiempo padece de disturbios gástricos e intestinales; ingresa al Hospital. Se trata por la emetina con resultados nulos. Se practica la reacción de Wassermann y resulta muy positiva. Se trata por el Novarsenobenzol (3 inyecciones) asociadas con oxicianuro de mercurio, mejora inmediatamente. Dos meses después la reacción es negativa.

Sale del Hospital. Ocho meses después vuelve atacada de los mismos síntomas, la reacción de Wassermann es muy positiva.—(Caso de los Drs. Soto y Quirós).

I.—Tuvo un chancro seguido de roseola y placas mucosas hace 10 años. Se trata por mercurio y yoduro durante dos años. (Caso del Dr. Rodríguez). Wassermann positivo.

Se le inyectan 7 ampollas de neosalvarsan (seriadas) al cabo de 2 meses de reposo la reacción es negativa. Se abandona 3 ó 4 meses y la reacción es positiva. El enfermo prefiere no tratarse y un año después la reacción es muy positiva.—(Caso del Dr. Rodríguez).

J.—Es infectado con sífilis (chancro indurado seguido de roseola y placas). La reacción de Wassermann es muy positiva. Se trata por 10 inyecciones de Novarsenobenzol y el enfermo se descuida. Le comienza una parálisis facial y es sometido a sondajes de los oídos, pues, se atribuye la enfermedad a una lesión acústica.

Se le recomienda un Wassermann y como éste es muy positivo, se renueva el tratamiento por el Novarsenobenzol. El enfermo mejora inmediatamente.—(Caso del Dr. Umaña).

K.—Adquiere una sífilis típica y contamina a su esposa. Ambos cónyuges son tratados por el «606». Un año más tarde la señora presenta signos clínicos sospechosos (placas en la garganta) mientras que el esposo está en aparente buena salud. Se me envían con marcas convencionales las sangres de ambas personas. El Wassermann que corresponde al marido, en apariencia curado, resulta negativo; y el de la señora, que tiene placas en la garganta, resulta muy positivo.—(Caso del Dr. L.P. Jiménez).

L.—Soltera, de 20 años, tiene una Keratitis y ningún otro estigma sífilítico; pero como su padre había tenido antiguamente una sífilis que él creyó curada, se practica en la niña una reacción de Wassermann, cuyo resultado es muy positivo, se trata por el Novarsenobenzol y cianuro de mercurio intravenoso, sigue una rápida mejoría, dos meses más tarde la reacción es negativa.—(Caso del Dr. Amancio Sáenz).

CASOS ABERRANTES

1º—El señor X. tiene una hemiplegía que es atribuida a sífilis y, en efecto, comienzan a tratarlo por el cianuro de mercurio

intravenoso. La reacción de Wassermann es ligeramente positiva. En el extranjero le diagnostican una parálisis por intoxicación microbiana debida a una intensa piorrea.

Se le extraen los dientes y el enfermo cura.

En este caso es de suponer que la piorrea fuese producida por *Spirillas*, y que ellas fuesen la causa de la reacción ligeramente positiva.²⁵

2º—Se trata de un joven atacado de hemiplegía y perturbaciones mentales de origen sifilítico seguro.

Es tratado muy intensa y frecuentemente por el novarsenobenzol. La reacción de Wassermann no se vuelve negativa sino unos 7 meses después de abandonado el tratamiento. Posiblemente se trata de un caso de inmunización de treponemas por tratamiento mal conducido en un principio.

3º—Z. De 16 años, carece de antecedentes y síntomas sifilíticos. Tiene en el pie una ulceración, quizás un cáncer, que no ha cedido con ningún tratamiento. El examen microscópico del pus de la úlcera muestra una cantidad enorme de espirilas (no se trata de la infección fuso Spirillar de Vincent ni de treponemas de Schaudinn. La reacción de Wassermann es muy positiva.

4º—Si consideramos las estadísticas que se refieren a los casos de cáncer, constatamos que la mayor parte de los que dan reacción positiva (sin sospechas de sífilis) tienen *cáncer en la lengua*. Es muy posible que en estos casos se trata también de una infección Spirillar, que las *Spirillas* de la boca se desarrollen sobre el cáncer y sean ellas las que provoquen la reacción positiva; es, en efecto, muy conocido el hecho de que las *Spirillas* se desarrollan sobre los tumores cancerosos, y habiendo en la boca tantas especies, es más que probable que infecten los cánceres de la lengua.

CONCLUSIONES

I.—Cuando una persona cuya reacción de Wassermann es francamente positiva por la técnica Hecht-Weinberg, debe ser

tratada por el Novarsenobenzol que cura no solamente la sífilis, sino también las otras enfermedades (lepra excepto) susceptibles de dar reacción positiva, tales como pian, fiebre recurrente, disentería espirilar, trypanosomiasis, etc.

II.—Las reacciones ligeramente positivas tienen valor solamente en dos casos:

1º—Cuando corrobora un diagnóstico clínico bien establecido;

2º—Cuando se trata de un paciente en vía de tratamiento, al cual le haya sido practicada antes la reacción por el mismo sistema, y en el cual se esté siguiendo la evolución del tratamiento.

III.—Cuando una persona sospecha de sífilis da reacción negativa, debe inyectársele 0,30 de Novarsenobenzol y una semana más tarde repetir la reacción para ver si hubo reactivación biológica.

IV.—Cuando un enfermo con sífilis sospecha y que presente solamente signos nerviosos da Wassermann negativo con el suero sanguíneo, debe repetirse el examen con líquido raquideo y ver si así la reacción es francamente positiva.

V.—Solamente mediante una serie de reacciones de Wassermann, practicadas siempre con la misma técnica, puede juzgarse de la eficacia del tratamiento.

VI.—Una reacción de Wassermann que se muestra irreductible a pesar de un tratamiento bien conducido DESDE EL PRINCIPIO muestra que se trata de un individuo arsenorresistente y en ese caso debe establecerse la terapéutica mercurial.

Al concluir doy los más cordiales agradecimientos al Doctor don David Quirós, en cuya biblioteca pude consultar la mayor parte de los trabajos que cito.

XIII.—LITERATURA CITADA *

- 1 Burnet. Microbes et toxines. pág. 297. 1972.
- 2 Leredde et Rubinstein. *Procedé de Wassermann et Procedé de Hecht-Weinberg. Zeitsch für Inimunitats forschung und experimentelle Therapie.* pág. 500 1913.
- 3 Weinberg. *Technique Rationnelle de la Reaction de Fixation. Annales de l'Institut Pasteur.* Pág. 43. 1912.
- 4 Bauer et Hallion. *Reaction de Wassermann. Bulletin de la Societé de Dermatologie et Syphiligraphie.* 6, junio 1912.
- 5 Hallion et Bauer. *C. R. de la Soc. de Biol.* 29 Octubre, 1910.
- 6 Hallion et Bauer. *Bull de la Soc. Med. de Hop. de Paris.* 24 Fevrier, 1911.
- 7 Noguchi. *Serum Diagnosis of Syphillis* J. B. Lippincott Company.
- 8 Weinberg. *Ann. Inst. Past.* pág. 425. 1912.
- 9 Mathis et Heymann. *Bulletin de la Societé de Pathologie exotique.* Pág. 258. 1915.
- 10 *The Journal of the American Medical Association.* pág 364. 1915.
- 11 *Presse Medicale.* pág. 308. 1914.
- 12 *Compt. Rend. Soc. Biol.* Février, 1910.
- 13 *Comunication a la Societé de Syphiligraphie et Dermatologie.* Abril. 1914. (In *Presse Medicale*). pág. 320. 1914.
- 14 *Annales de Dermatologie et Syphiligraphie.* T. 2. Nº 5 pág. 257. 1911.
- 15 *The Lancet.* T. CLXXX. pág. 1.695. 1911.
- 16 Armand-Delille. (1911). *Techniques du Diagnostique par la Méthode de Déviation du Complement.* Masson & Cie. Pág. 136.

* En los libros de Armand-Delille y de Noguchi encontrará el lector la Bibliografía principal sobre la Reacción de Bordet-Gengou y de Wassermann. (Unas 300 indicaciones).

18. Burnet. **Microbes et toxines**. pág. 298. 1912.
19. Millian et Giraud. *La réactivation biologique de la reaction de Wassermann*. **Presee Medcale**. pág. 1074. 1911.
20. Mac Donagh. **Comunication au congres dermatologique**. 1912.
21. Voisin. *La réactivation biologique de la réaction de Wassermann comme moyen de Diagnostic*. **Presse Medcale**. pág. 198. 1912.
22. Ross. **Brilish Medical Journal**. May, 24. 1912.
23. Burnet. *Microbes et toxines*. pág. 340. 1912.
24. Vernes. *Les Signes Humoraux de la Syphilis* (These de Doctorat). París. 1913. (Baillières et Fils).
25. Repacil. *Contribution à la connaissance des «Microbes spiralés de la Bouche»*. **Annales de l'Institut Pasteur**. pág. 536. 1912.

ESTUDIO SOBRE LOS ANTICUERPOS LEPROSOS

En 1906 Eitner encontró en el suero de los leprosos, anticuerpos que fijan la alexina en presencia de un extracto de lepromas.

Posteriormente muchos autores han emprendido investigaciones diversas cuyo resumen puede encontrarse en la bella memoria de Marchoux sobre la lepra (*Revue d' Hygiene et Police sanitaire*. Août 1913).

Estos trabajos han mostrado el hecho siguiente:

Los sueros sifilíticos lo mismo que los sueros leprosos dan una reacción de Wassermann positiva y también una reacción de Eitner positiva la mayor parte de los casos: 90 por ciento, según Marchoux. (Conferencia del Instituto Pasteur, 1914).¹

En el Cuadro N° 1 hay algunos casos extraordinariamente interesantes; son los números 40 y 50 donde se encuentra ausencia de bacilos de Hansen en el mucus nasal, reacción de Eitner negativa, pero un Wassermann positivo.

Se ve que hay en la sangre de estos enfermos anticuerpos sifilíticos y no leprosos; todo lo contrario de los números 7, 19 y 41 en los que no se encuentran sino anticuerpos leprosos.

Otro caso del todo sugestivo es el del número 57. Esta persona presenta numerosas ulceraciones, pero tubérculos no, da las dos reacciones (Eitner y Wassermann) positivas; no tiene bacilo de Hansen en el mucus nasal. Fue recluido en la leprosería. Su hijo, muchacho venido al Hospital al mismo tiempo que la madre, no tiene tampoco bacilos; da la reacción de Eitner negativa y la de Wassermann positiva; tiene todos los caracteres de un heredo-sifilítico. No es recluido en la leprosería.

CUADRO N° 1.- Datos de análisis sanguíneo de 61 casos.

N°	Nombre	Índice hemático	Reacción de Eitner	Reacción de Wassermann	Presencia de bacilos de Hansen
1	D. G.	1/2	++	++	+
2	I. C.	1	++	++	+
3	A. L.	1/2	++	++	+
4	S. Q.	0	++	++	+
5	F. P.	2	++	++	+
6	M. B.	2	++	++	-
7	E. C.	1/2	++	-	-
8	L. M.	2	++	+ -	-
9	B. L.	2	++	++	-
10	A. S.	2	++	++	+
11	E. C.	1/2	+	+	+
12	J. O.	0	++	++	+
13	C. M.	7	++	++	+
14	J. M.	5	+	+	+
15	T. S.	2	+ -	+	-
16	D. P.	3	+	+	+
17	S. M.	1/2	+ -	++	+
18	L. D.	2	++	++	-
19	I. S.	3	++	-	+
20	I. P.	1	++	++	+
21	J. G.	3	++	++	-
22	J. B.	2	++	+	-
23	F. V.	3	++	++	+
24	J. V.	3	++	++	+
25	A. P.	3	++	++	-
26	C. G.	3	++	++	-
27	M. M.	2	++	++	+
28	V. B.	3	++	++	+
29	S. G.	2	++	++	-
30	C. V.	2	++	++	-
31	A. O.	2	++	++	-
32	T. C.	3	+ -	+ -	-

Nº	Nombre	Índice hemolítico	Reacción de Elmer	Reacción de Wassermann	Presencia de bacilos de Hansen
33	E. A.	2	++	++	—
34	U. C.	1	++	++	+
35	S. M.	3	++	++	+
36	M. R.	3	++	++	—
37	M. F.	1	++	+	—
38	M. R.	2	++	+	—
39	R. M.	3	+	+	—
40	R. M.	0	—	+	—
41	J. S.	5	+—	—	—
42	J. C.	2	++	++	—
43	D. C.	1/2	++	++	—
44	C. S.	2	++	++	—
45	D. S.	2	++	++	—
46	T. A.	2	++	++	—
47	M. G.	4	—	—	—
48	Z. V.	4	++	++	—
49	J. M.	5	+	++	—
50	A. B.	5	—	+	—
51	J. V.	2	+	++	—
52	M. R.	5	++	+	—
53	A. S.	5	+—	+	—
54	F. P.	6	—	—	—
55	F. C.	2	++	++	—
56	R. R.	3	—	—	—
57	J. B.	4	++	++	—
58	J. M. V.	3	++	++	+
59	A. C.	1/2	++	++	+
60	S. T. R.	2	+	+	—
61	A. A.	1	—	—	—

Me parece que cuando se está en presencia de un caso como éste, lo mismo que ante los presentados por los números 40 y 50 debiera someterse a los enfermos al trata-

miento intenso por el Novarsenobenzol, y ver si las manifestaciones desaparecen y la reacción de Wassermann se vuelve negativa.

Si así sucede hay que desechar el diagnóstico de lepra.

Un trabajo de esta clase será emprendido próximamente por el señor Director de la Leprosería Nacional, doctor J. M. Barrionuevo en colaboración con el señor C. Viquez.

CONCLUSIONES

1. Ciertos leprosos, como 5 por ciento más o menos, dan la reacción de Wassermann negativa aunque la reacción de Eitner sea positiva. Hay pues en los leprosos una sensibilidad más grande para el antígeno leproso que para el sífilítico. (La predilección contraria ha sido encontrada por Jeanselme y Vermes en los sífilíticos).
2. Cuando en un sospecho leproso se encuentra una reacción de Eitner negativa y una reacción de Wassermann positiva debe someterse al enfermo al tratamiento explorativo por el Novarsenobenzol antes de decidir su reclusión.

Al terminar doy cordiales agradecimientos al doctor don Gustavo Michaud que ha tenido la bondad de corregir el texto francés; al doctor Barrionuevo que me ha dado toda suerte de facilidades para visitar la Leprosería, y al Lic. C. Viquez quien con extrema buena voluntad ha recogido las diversas muestras.

NOTAS

1. Es notorio que los leprosos atacados de lepra anestésica dan muy frecuentemente una reacción negativa, lo que no es de ninguna manera sorprendente, pues «los leprosos nerviosos son frecuentemente leprosos curados o en el organismo de los cuales no quedan sino algunos bacilos». (Marchoux).

INTERPRETACION DE NUESTROS DOSAJES DE UREA EN LA SANGRE

Sabido es que siempre que los riñones estén indemnes existe una relación constante entre la cantidad de urea de la sangre y la de la orina excretada en 24 horas. Esta relación se expresa por la conocida fórmula de Ambard que es una de las pocas leyes biológicas sometidas a las reglas matemáticas.

La fórmula de Ambard:

$$K = \frac{Ur}{\sqrt{D \times \frac{70}{P} \times \sqrt{\frac{C}{25}}}}$$

nos da una constante K cuyo valor debe oscilar alrededor de 0,07 con pequeñas variaciones.¹

En Europa o Norte-América es corriente que la urea de la sangre llegue a la cantidad de 0,50 por mil, y que la persona excrete de 35 a 40 gramos de urea por día manteniendo así una constante normal.

Por otra parte, sabemos que la urea se acumula en la sangre por dos causas:

1. Exceso de alimentación.
2. Defecto del filtro renal.

En el primer caso la constante no se altera, pues, si bien el porcentaje de urea de la sangre se eleva, la cantidad excretada por la orina sube también. Sabemos, además, que si a un individuo normal lo hacemos ingerir 20 gramos de urea, ésta se acumula en la sangre, pero siendo a la vez excretada en superabundancia, la constante de Ambard sigue siendo normal.

Otros individuos, por el contrario tienen una cantidad de urea en la sangre, normal, al parecer, pero excretan pequeñas cantidades y en realidad son azotémicos. De aquí el valor práctico de la constante de Ambard, que permite seguir la evolución de la azotemia.

Cuando F. Sancho J.² estableció por numerosos y minuciosos análisis, que la cantidad media de urea en la orina de las personas que habitan en San José de Costa Rica es de 14 por mil y no como en Europa, me propuse este problema:

Si la constante de Ambard no deja de ser constante en San José, la urea de la sangre debe también haber disminuido.

La resolución de este dilema no entraña solamente un alto interés biológico, sino que es de utilidad práctica inmediata. Según las investigaciones de Widal y sus discípulos, llevadas a cabo en los urémicos, quedó establecido que cuando la cantidad de urea en la sangre fluctúa entre 0,50 a 1 gramo por litro, el pronóstico no es inmediatamente fatal. Los que tienen entre 1 y 2 gramos no sobreviven más de un año. Cuando hay 2 a 3 gramos es cuestión de pocos meses.

Hace ya varios meses que comencé sistemáticamente los dosajes de urea en la sangre, utilizando los residuos de sueros examinados en este laboratorio.

Tengo hecho el examen de 89 sueros y he encontrado en ellos desde 0,10 hasta 0,40 de urea por mil, dando una cantidad media de 0,25.

Si aquí llegásemos a tener 0,50 dada la excreción urinaria, la constante sería de 0,12 sobrepasando en mucho el número normal y permitiendo un pronóstico fatal, en ese caso la fórmula sería:

$$0,12 = \frac{0,50}{\sqrt{21 \times \sqrt{\frac{14}{25}}}}$$

Pero con las cifras reales tenemos:

$$0,068 = \frac{0,27}{\sqrt{21 \times \sqrt{\frac{14}{25}}}}$$

Es decir que entre nosotros 0,27 de urea en la sangre, corresponde a 0,37 en un europeo, esto debido a nuestras condiciones climáticas y de alimentación.

Es decir que los números de retención de urea en la sangre tienen entre nosotros una significación más grave que en Europa. En efecto yo he tenido ocasión de ver sucumbir en pocos días a tres urémicos en los cuales la urea de la sangre no llegaba ni a 1,50 por mil. Dos de estos casos eran personas asistidas por los doctores Calderón y Uribe, una vez, Rojas, Facio y Umaña otra vez; el tercer caso es el de un enfermo del Hospital.

CONCLUSIONES

1. La cantidad media normal de urea en la sangre es entre nosotros menos que en Europa.
2. A pesar de la disminución de urea la ley de Ambard es constante entre nosotros.
3. Si queremos saber el estado de nuestros azotémicos debemos recurrir a la fórmula de Ambard. Los simples dosajes de urea en la sangre, nos servirán cuando tengamos la justa equivalencia de los números.

(Laboratorio del Hospital)

NOTAS

1. Por vía de recuerdo notemos que D, representa la cantidad de urea excretada en 24 horas; P, el peso de la persona; C, la cantidad de urea por litro de orina, y Ur. la cantidad por mil de Urea en la sangre.
2. **Anales del Hospital de San José**, Tomo I, pág. 55.

EL PANTANO AEREO

Huyamos, ¿queréis? el invierno, las nieves y las brumas. Vamos a calentarnos al país del eterno sol, donde el mundo de las plantas no conoce ni tregua ni reposo y no interrumpe jamás el vuelo de su lujuriente vegetación. Allí en vez de nuestros bosques adormecidos encontraremos los esplendores de la selva tropical, siempre despierta, siempre en trabajo, "donde la vida vegetal, ha dicho Stanley, se afirma colosal, apacible y silenciosa, y sin embargo magníficamente solemne".

J. Constantin.

La nature tropicale.

Sabemos que generalmente no existen pantanos permanentes en los grandes bosques. Esto se concibe fácilmente. Se ha calculado, en efecto, que un bosque de encinas, por ejemplo, pierde en un año una cantidad de agua suficiente para formar un lago de una profundidad de medio metro y cuya extensión sería igual a la del bosque. Si esto pasa con plantas tales como las encinas cuya superficie de vaporización es relativamente pequeña, y en países sujetos a las cuatro estaciones, con mayor razón sucederá en los bosques tropicales constituidos por árboles gigantescos sometidos a un calor tórrido durante todo el año. Otras causas se unen a impedir los depósitos de agua en los bosques; una de las principales es el drenaje del suelo por las raíces de los árboles; éstas, aún después de muertas, constituyen verdaderos tubos que se introducen en el suelo a 20 o más

metros conduciendo el agua a grandes profundidades. *Los bosques tropicales y los pantanos parecen, pues, excluirse unos a otros.*

Esto nos haría pensar que los animales que ordinariamente habitan los pantanos, sea durante toda su existencia, sea durante un período de su vida, faltan en los bosques. Nada más erróneo; en pleno bosque encontraremos las hermosas y espléndidas libélulas, coleópteros cuyas larvas son acuáticas, y sobre todo, una legión de zancudos que vienen a demostrarnos su existencia con pinchazos a plena orquesta.

¿De dónde vienen estos animales y dónde están las charcas necesarias a su desarrollo?

—¡Están en el aire!

En efecto, allá en lo alto viven las bromelias que parecen ser las ánforas y las copas que con sus torcidos y largos brazos extienden los árboles pidiendo al cielo sus gotas de rocío. Ni una gota se pierde, pues estas plantas tienen hojas en forma de cartucho que parecen salir de un punto común y debido a esta disposición pueden retener hasta 20 litros de agua.

No solamente el agua es retenida entre sus hojas, sino que el viento hace caer entre ellas polvo orgánico y mineral que se deposita en el fondo de la charca vegetal y constituye allí una especie de barro. Las bromelias viven a expensas de estos detritus y de esta agua, sin pedir al árbol que las sostiene ni gota de su savia.

Debido a la activa nutrición de la planta, la putrefacción no aparece en las charcas aéreas y allí pueden vivir hasta los animales acuáticos más exigentes en cuanto a pureza del agua. Los unos depositan allí sus larvas, otros viven constantemente bajo el agua, algunos vienen a buscar humedad y no pocos una presa.

Las bromelias dan albergue a gusanos acuáticos tales como sanguijuelas y ciertas lombrices, ranas, animales del grupo de los cangrejos, larvas de libélulas, de tábanos, de zancudos y otros moscos; bástenos decir que hay unas 250 especies conocidas de animales que habitan las bromelias.

El pantano aéreo es perenne, pues lo surten no solamente la lluvia y el rocío sino el vapor de agua que por la noche se condensa entre sus hojas.

¿De dónde provienen los animales de las bromelias, cómo pasan de una planta a otra?

En cuanto a los insectos alados poco hay que decir, pero en cuanto a los animales sedentarios tales como lombrices, sanguijuelas y otros, ¿cómo llegaron a las bromelias por primera vez?

Muy probablemente los primeros ejemplares de estas especies cayeron entre las hojas de las bromelias llevados por los torrentes que se desbordan y salpican los árboles desde su cima; una vez allí se adaptaron a la nueva vida.

En cuanto a la transmisión de la fauna de una bromelia a otra, el caso se explica fácilmente: las bromelias se reproducen principalmente por retoños que nacen dentro de las hojas de la planta madre y por consecuencia, al crecer, llevarán los gérmenes de las especies que habitan la planta primitiva.

He aquí, pues, resumida la historia del gran pantano aéreo que se extiende por toda la América intertropical.

Las bromelias, bellos cálices abiertos al cielo, nos ofrendan no solamente con la alegría que nos da su belleza y con el himno constante que canta su poética historia, sino también... con los agentes que nos transmiten el paludismo y múltiples enfermedades, y los elevan fuera de nuestro alcance, hasta 50 y más metros, como para burlar nuestra pobre condición de terrícolas.

HISTORIA DEL GUSANO DE LA GUAYABA

SOBRE LA BIOLOGIA DE LOS DIPTEROS

Entre los insectos, el orden de los dípteros es, sin duda alguna, el que más interesa al hombre. A sus formas, tan variadas, a los fenómenos biológicos que se realizan en el mundo de los dípteros, debemos añadir el gran papel que desempeñan en la vida humana: ya sea descomponiendo nuestros alimentos — quesos, carnes, legumbres—, ya mortificándonos con dolorosas picaduras y, por último, trasmitiéndonos tantas enfermedades, entre ellas algunas de las más nefastas: fiebre amarilla, paludismo, enfermedad del sueño, tifoidea y otras muchas.

Las moscas viven en todo el ámbito de la tierra; si bien es cierto que las regiones ecuatoriales son las más propicias para estos insectos, también han podido soportar hasta las regiones polares de hielos perpetuos. Se las encuentra en las luminosas cumbres de las montañas como en las grandes cavernas en que reina una noche perpetua.

Al evocar la idea de mosca, casi siempre nos representamos la mosca doméstica que suele naufragar en nuestra sopa; sin embargo, el grupo presenta formas que se alejan mucho de nuestra mosca tipo: todos los cazadores conocen unas moscas de cuerpo ancho y bajo que viven como parásitos de los gavilanes y palomas silvestres, otras viven entre la lana de los carneros y han perdido ya las alas. En los hormigueros viven moscas ápteras cuyo aspecto recuerda mucho el de las hormigas entre las cuales viven. En los termiteros se encuentran moscas, ápteras también, que tienen la extraordinaria particularidad entre los insectos de ser vivíparas, en el estricto sentido de la palabra, es decir, que nacen ya en forma de mosca.

El hecho de existir moscas que cazan al vuelo las otras moscas, a la manera de halcones, nos da idea de las múltiples adaptaciones acompañadas de formas apropiadas, que ha realizado el grupo de las moscas.

Hasta ahora hemos seguido los insectos adultos, pero si nos acordamos de que en la vida de los insectos el adulto no está sujeto a la influencia del medio sino por un tiempo corto, y que en cambio, el período larvario es el que representa la mayor parte de la vida, no nos parecerá extraño el hecho de que las larvas sean las que hayan sufrido adaptaciones más variadas.

Los dípteros nos ofrecen dos tipos de larvas en extremo diferentes. Unas, de organización bastante compleja, están constituidas según el tipo general de los insectos: poseen una cabeza bien conformada con sus seis piezas bucales y ojos bien desarrollados; estas larvas son muy activas; como tipo citaremos las larvas del zancudo. Otro grupo de larvas, cuyo tipo es el de la mosca común, consta de animales degradados en extremo. Estas larvas son ciegas, poco ágiles y en su armadura bucal no pueden ya distinguirse las mandíbulas, maxilas y labios típicos de la boca de los insectos. Su organización se ha simplificado al extremo de que los ganglios del cerebro y toda la cadena ventral nerviosa de los insectos típicos, se encuentran reducidos a una pequeña masa, que no está en la cabeza. Un carácter común a todas las larvas de mosca, es la ausencia de extremidades.

Pudiera creerse *a priori* que estas últimas larvas son primitivas y las primeras más complejas, evolucionadas; sin embargo, la historia de la aparición de los insectos sobre la tierra, nos enseña que las larvas primitivas fueron del grupo representado hoy día por las larvas mejor conformadas, y que las formas más simples son producto de degradaciones debidas sea al régimen de vida parasitario o a su alimentación de sustancias en descomposición.

Estas larvas degradadas atacan a los animales, no perdonando ni a los recios elefantes y rinocerontes. Algunas de estas larvas tienen historias muy interesantes: ciertas moscas cuyas larvas viven como parásitas en las colmenas, ponen sus huevos en las flores visitadas por las abejas; al llegar éstas a la flor, las larvas salidas del huevo de la mosca se prenden de la abeja haciéndose transportar al panal por su propia víctima. La mosca del tórsalo

pone sus huevos sobre zancudos y otras moscas; cuando estos últimos insectos se posan sobre un mamífero la larva de tórsalo abandona el huevo para perforar la piel de su huésped. El tórsalo europeo hace un viaje extraordinario: las jóvenes larvas son tragadas por el ganado y luego atraviesan el tubo digestivo, siguen las bridas conectivas de los diversos órganos hasta llegar a la piel.

Otras larvas de mosca atacan las heridas o ulceraciones de los animales, produciendo las llamadas gusaneras; algunas veces se desarrollan en los oídos o en la nariz del hombre causando tremendos dolores; otras veces atacan el tubo digestivo.

Los vegetales no están exentos de los ataques de las larvas de mosca: las hojas de muchas plantas presentan surcos en forma de arabescos entre la epidermis superior e inferior; vemos calados semejantes en las vainas de frijol y otras leguminosas; algunas atacan los tallos jóvenes llegando a producir verdaderas agallas. Finalmente, otras larvas de mosca se desarrollan en las frutas. Las guayabas, los mangos, los jocotes, las anonas, los zapotes, etc, son entre nosotros echados a perder por las larvas de ciertas moscas.

Las moscas, no sólo nos mortifican de mil maneras durante nuestra vida, sino que bajan con nosotros a la tumba para roer allí, en medio de una orgía de podredumbre, nuestro cuerpo hasta la médula de los huesos. Cuando las larvas del sepulcro concluyen su macabro festín se introducen en la tierra y, allí adquieren la forma alada; vuelan luego entre los vivos llevando por todas partes su mensaje de muerte. Tal es el oficio de las moscas.

LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS

La casi totalidad de las moscas cuyas larvas atacan las frutas pertenecen a la familia de los Trypétidos. El aspecto de estas moscas es muy característico: el cuerpo está generalmente manchado de amarillo y pardo más o menos negruzco; las alas presentan bandas o estrías de color sepia; caminan pausadamente, lo que ha hecho decir a cierto naturalista inglés, que "son muy circunspectas". Cuando se posan, suben y bajan continua y pausadamente, las dos alas, a la vez.

En Europa hay dos especies muy conocidas por los destrozos que causan. Una de ellas ataca las aceitunas y es corrientemente conocida con el nombre de **mosca del olivo**. La otra especie llamada **mosca mediterránea de las frutas** ataca principalmente las naranjas sin despreciar gran número de otras frutas.

Esta mosca ha sido introducida accidentalmente, y por medio de frutas atacadas por las larvas, en Australia, gran parte del Africa, islas Hawai y Honolulu, etc.

En estos países se han aclimatado y multiplicado de manera asombrosa causando desastres en las cosechas de frutas al extremo de arruinar a muchos productores, no solamente por las pérdidas causadas en los plantíos, sino también porque los países que importaban dichas frutas han tomado medidas prohibiendo la introducción de frutas de los lugares atacados, en el temor de introducir la plaga.

La mosca mediterránea, en cuanto se multiplica en un país, comienza a atacar los frutos indígenas al extremo de conocerse hoy cuarenta especies de frutas que son atacadas por las larvas de esta especie. Este hecho nos muestra que no hay ninguna especificidad parasitaria con respecto a esta mosca de las frutas.

En Méjico, encontramos una especie de mosca que ataca las frutas y que llegó a constituir para ese país una verdadera plaga. Las frutas constituyen, en efecto, una de las principales producciones de varios estados mejicanos; estas frutas se exportaban principalmente a los Estados Unidos, siendo San Francisco de California su mercado más importante.

Pero estas frutas, que constituían una de las principales riquezas agrícolas mejicanas, comenzaron a ser infectadas por la larva de una mosca: *Anastrepha ludens* Loew, de tal manera que esta infección, haciendo progreso día a día, llegó a constituir una verdadera epidemia. En Oajaca, por ejemplo, a veces, se pierden dos terceras partes de las cosechas de naranjas, las cuales son inutilizadas por las larvas de *Anastrepha*.

En California, temiendo que a pesar de la estricta vigilancia, fueran introducidas frutas conteniendo gusanos, prohibieron completamente la importación de frutas de los estados mejicanos invadidos por esta especie de mosca.

El gobierno mejicano, preocupado por las pérdidas que ocasionaba el díptero nefasto, nombró una comisión con el objeto de estudiar la biología de la mosca y los medios de combate que pudieran emplearse para exterminarla.

Pronto constataron los entomólogos mejicanos que las larvas no vivían solamente en las naranjas y que la mosca ponía también sus huevos en otras frutas: mangos, guayabas, aguacates, etc., estableciendo un ciclo alterno en estas diversas especies de frutas, cuyas épocas de recolección se sucedían unas a otras; la mosca vivía pues en completa actividad reproductiva durante todo el año. No pudiendo haber en California, debido al invierno, una sucesión de épocas de recolección de diversos frutos, creyeron los entomólogos mejicanos que no había peligro de introducir a California la mosca mejicana que necesitaba esta serie sucesiva de frutos maduros durante todo el año. A pesar de esta opinión, los Estados Unidos continuaron rehusando las frutas mejicanas, en el temor de que la mosca pudiese invernar en estado de ninfa, tal como lo hacen muchos otros dípteros.

La misma especie de mosca ataca en el Brasil las frutas del café causando graves daños.

Por las líneas anteriores vemos cómo un ser, tan insignificante, al parecer, logra perturbar el equilibrio económico de varios estados y acarrear la ruina de varios productores.

LA MOSCA DE LA GUAYABA EN COSTA RICA

Todos sabemos que en nuestro país la infección de las guayabas por los gusanos o larvas de mosca es lo corriente y que puede contarse como una rareza el hecho de encontrar una guayaba madura no infectada.

Sabiendo que en Méjico las frutas son devastadas por la *Anastrepha ludens*, y que esta especie causa iguales daños en el Brasil, nos propusimos averiguar por qué, entre nosotros, las naranjas se conservaban indemnes habiendo en las guayabas y otras frutas tal cantidad de gusanos.

Esperábamos que la especie de mosca que se extiende de Méjico al Brasil fuese la misma especie de Costa Rica y que la inmunidad de las naranjas fuese debida a causas extrañas al díptero mismo.

Con tal objeto emprendimos el estudio de nuestros gusanos de guayaba y constatamos que daban origen a una mosca que nosotros, al principio, tomamos por la misma especie mejicana, pero que estudiadas luego por el profesor Bezzi, especialista del grupo, fueron clasificadas como *Anastrepha striata* Schin, es decir, que se trata de una especie distinta.

Nuestro estudio se basa en material recogido en Oroquieta y completado luego con ejemplares recogidos en San José.

Ovoposición

La mosca pone sus huevos en las guayabas que comienzan a madurar. La hembra, provista de un largo ovopositor, lo introduce en un lugar de la fruta que se encuentra casi siempre en la vecindad del lugar ocupado antes por la flor, lugar que es el primero en comenzar a madurar. La larva se traza luego un camino hacia el interior del fruto, acelerando con el traumatismo que causa, la maduración de la guayaba. Las larvas de esta mosca, como todas las del grupo, pasan por tres estados: los gusanos que encontramos en el interior de la fruta están ya en el estado larvario definitivo o sea el tercer estado.

Larva

Consta de once artículos fuera de la cabeza

No queriendo hacer descripciones harto embarazosas tanto para el lector como para el autor, y necesitando tantos detalles prefiero referirme a los dibujos.

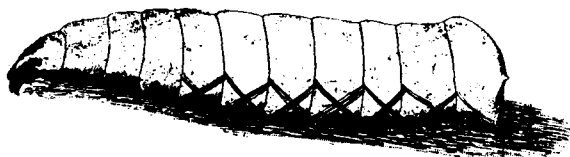
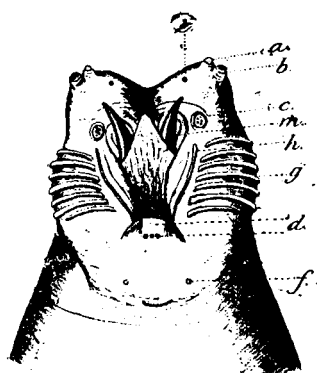


FIGURA N° 1.—Larva de la mosca de la guayaba.



a) y b) parte superior e inferior del órgano antenal; c) órgano sensorio; d), c) y f) papilas sensitivas aisladas; g) lóbulos orales; h) estilos quitinizados; m) ganchos mandibulares.

FIGURA N° 2.—Extremidad anterior de la larva.

Hay, sin embargo, un asunto de biología general que ha impreso sus huellas en la anatomía de la larva y que vale la pena tratar:

Hace pocos años que sabemos que las larvas de mosca "degradadas" se comportan de dos modos muy diferentes: unas son verdaderos parásitos; las otras viven a expensas de productos microbianos, carecen de glándulas digestivas de suficiente poder para asegurar la vida de la larva y son por lo tanto incapaces de vivir en medios privados de microbios. La faringe de las larvas parásitas y de las saprófagas se diferencia notablemente: las parásitas tienen una faringe lisa y las saprófagas poseen surcos o canales longitudinales.

Ahora bien la faringe del gusano de la guayaba presenta los surcos longitudinales como si no se tratase de un parásito. Esta conformación se debe al hecho de que el gusano aprovecha los productos elaborados por las diastasas de las frutas al llevarse a cabo la maduración.

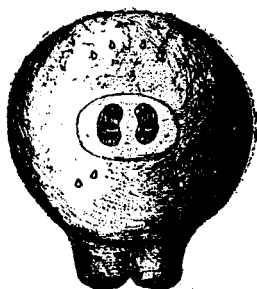


FIGURA N° 3.—Extremidad posterior con sus papilas sensitivas.

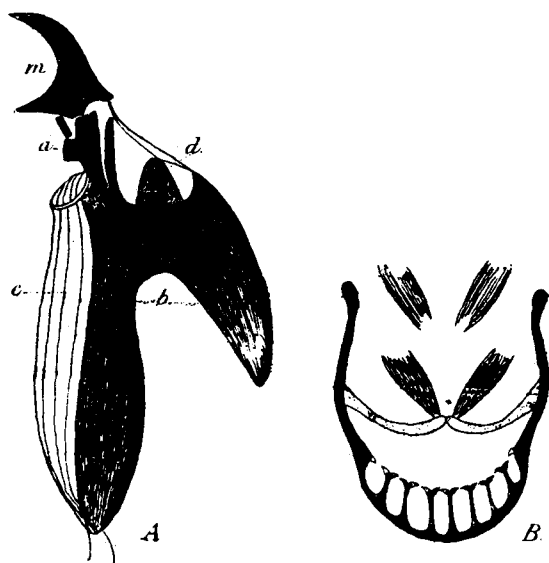


FIGURA N° 4.—Armadura bucal y faringe del gusano de la guayaba.

A) armadura bucal vista de lado.—B) corte transversal de la faringe, m) mandíbula; a) pieza intermedia; b) alas posteriores de la armadura; d) alas anteriores; c) canales de la faringe.—Estos se ven en corte en B.

Se había también emitido la hipótesis de que estas larvas fueran simplemente portadoras de una infección microbiana, tal como pasa con los gusanos de los cadáveres. Sin embargo, el examen microscópico del contenido intestinal no muestra bacterias; si acaso las hay, como es casi seguro, no están en número considerable.

El hecho de tener los gusanos de la guayaba una faringe semejante a la de las larvas saprófagas nos prueba cómo, por la ley biológica de convergencia, se llega a formas semejantes en animales que no son parientes próximos.

Ninfa

Cuando caen las guayabas y comienzan a podrirse, salen las larvas, penetran un poco en la tierra, allí la piel se endurece y

toman el aspecto típico en forma de barrilito: estas **ninfas** o **pupas** llevan en su parte superior un opérculo que más tarde caerá para dejar salir la mosca que se ha formado en su interior.

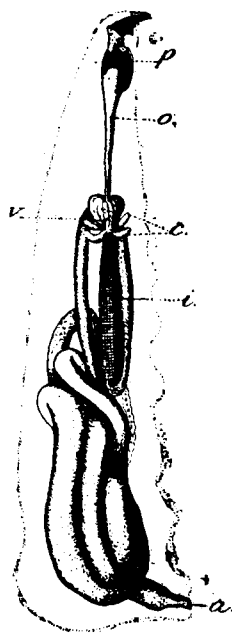


FIGURA N° 5.—*Aparato digestivo.*

P) faringe; o) esófago; v) ventrículo; c) ciegos digestivos; i) intestinos; a) ano.

Mosca

La hembra se diferencia del macho por poseer un largo ovopositor. Los detalles de las nervaduras de las alas, lo mismo que los dibujos presentados por las estrías son los representados en la Figura N° 8 y N° 9.

SOBRE UN PARASITO DEL GUSANO

Con el objeto de obtener buen número de moscas de guayaba fueron recogidas del suelo, debajo de las guayabas que caen

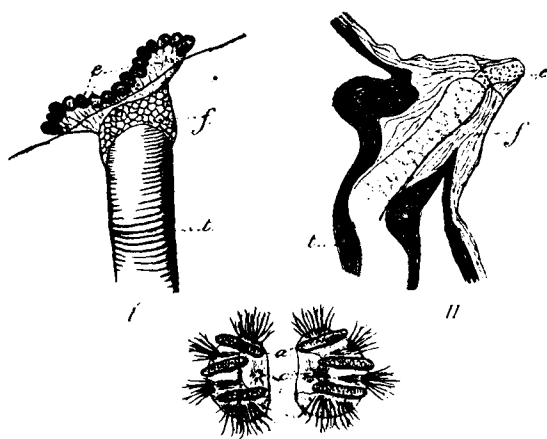


FIGURA N° 6.—I. Estigmas protorácicos. II. Corte transversal del mismo. III. Estigmas caudales.
e) papilas estigmáticas; f) cámara reticulada; t) tráquea; a) estigmas posteriores; c) pelos sensitivos.

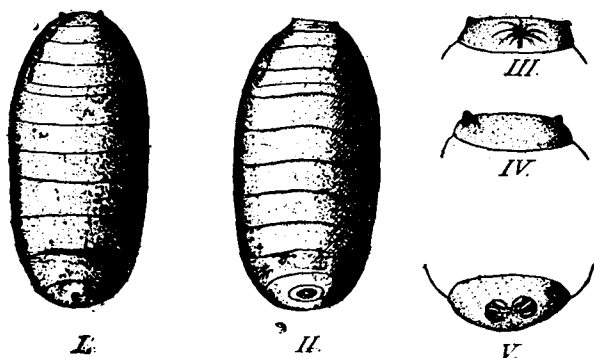


FIGURA N° 7.—Pupa.
I. Faz dorsal.—II. Faz ventral.—III. Cicatriz bucal.—IV. Cuernos respiratorios.—V. Estigmas posteriores.

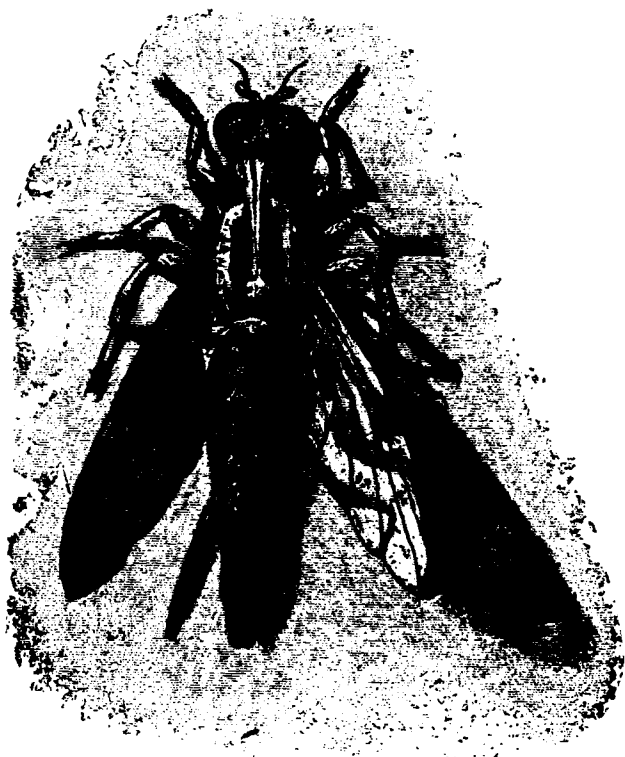


FIGURA N° 8.—Mosca de la guayaba (hembra).

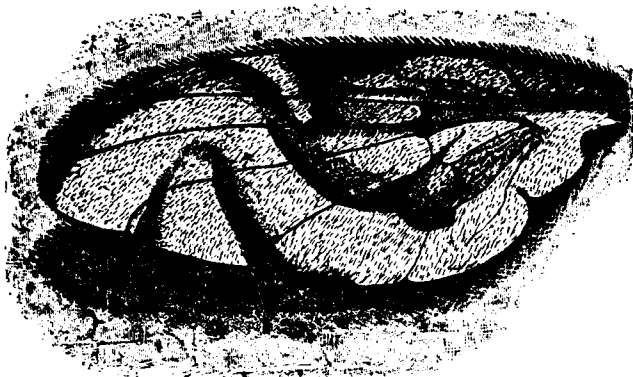


FIGURA N° 9.—Detalles del ala.

del árbol bastantes ninfas que fueron puestas en un frasco con una capa de tierra, moderadamente húmeda y tapado con una tela delgada. Notamos que al mismo tiempo que las moscas, aparecían unos himenópteros: constatamos que pertenecían a la familia de los braconídeos y que, por lo tanto debían ser parásitos, comenzamos entonces a disecar larvas y ninfas de la mosca de la guayaba con el objeto de encontrar las larvas del himenóptero parásito. El resultado obtenido sobrepasó nuestras esperanzas y el adagio que dice "quien busca encuentra", fue corroborado una vez más. Logramos encontrar, en efecto, el material siguiente:

Varias larvas en el primero y segundo estado, larvas en el estado definitivo, ninfas y, lo que es más, un huevo recién introducido en el gusano.

Para tener la seguridad de que dichas formas pertenecen al himenóptero adulto, fue necesario encontrar ejemplares en la época de la muda, que permitiesen estudiar, a través de la anti-gua envoltura, la forma próxima. En estas condiciones observamos la joven larva dentro del huevo, la larva secundaria dentro la primaria y la ninfa (en la cual pueden estudiarse los caracteres del adulto) dentro de la forma larvaria definitiva.

El hecho de obtener una sola especie de himenóptero era ya indicio de que se trataba de una especie única.

La especie de himenóptero resultó ser una especie nueva: *Diachasma crawfordi*. El huevo de *Diachasma* como el de muchos otros himenópteros parásitos es alargado y está provisto de un largo pedúnculo que sobrepasa un poco la longitud del huevo.

Sobre la extremidad del huevo, opuesta al pedúnculo, se ve una especie de capuchón. A través de la membrana pueden observarse las mandíbulas de la joven larva como lo muestra la Figura N° 11.

Las larvas jóvenes no ocupan un lugar determinado en el gusano de la guayaba; sin embargo, se encuentran siempre en la región posterior y entre el tejido adiposo que forra la piel del gusano.

Antes de describir la larva, es importante que nos demos cuenta de su orientación, es decir, que determinemos cuál es su faz dorsal y cuál la ventral. Esta orientación es a veces difícil de

determinar en las larvas de himenópteros parásitos cuya morfología está tan especializada.

Vista de perfil, la larva aparece sensiblemente encorvada, presentando una faz convexa y otra cóncava. Como la boca se abre en la parte cóncava y que en esta parte del cuerpo encontramos apéndices parecidos a patas, nos parece a primera intención, que esta es la faz ventral. Un examen más minucioso nos muestra que el sistema nervioso sigue la faz convexa y el corazón la cóncava. Teniendo todos los insectos un sistema nervioso ventral y un corazón dorsal, forzoso nos es admitir que la faz dorsal es la cóncava y ventral la convexa.



FIGURA N° 10.—Huevo del himenóptero (1) y parte anterior del mismo (2).



*FIGURA Nº 11.—Larva de **Diachasma** vista de perfil.*

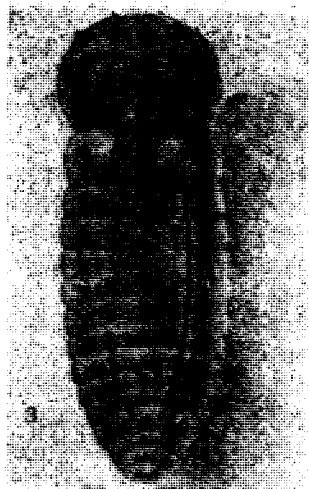


FIGURA Nº 12.—Larva vista por su faz dorsal.

El cuerpo de la larva está formado de dos partes bien distintas: la cabeza y el tronco.

La cabeza es achatada dorsoventralmente ancha, casi cuadrangular. Si se observa por su faz convexa, o ventral, sólo se nota una amplia superficie desprovista de órganos. El primer segmento torácico se prolonga hacia adelante por debajo de la cabeza. Sobre el borde anterior de la cabeza pueden notarse dos papilas sensorias equidistantes. De cada lado de la cabeza aparecen dos placas que corresponden a las llamadas pleurales en las otras larvas del grupo. El borde anterior de esta placa se articula con las mandíbulas que son visibles solamente por la faz dorsal. Viendo la cabeza de perfil se notan, también, un par de papilas salientes y tres pares de órganos sensorios que tienen la forma de un anillo quitinoso con un pequeño bastoncillo mediano.

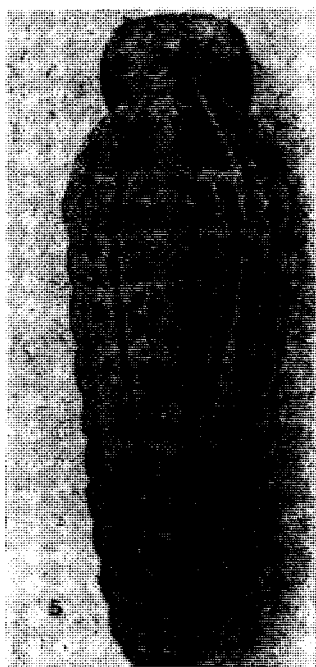


FIGURA N° 13.—Faz ventral de la larva.

Observando la cabeza por su faz dorsal, lo primero que nos llama la atención, son los ganchos mandibulares, muy quitinizados, de color de oro, su forma es la de un triángulo isósceles muy alargado, encorvado en su extremidad y achatado en el sentido horizontal. Las mandíbulas están movidas por músculos fuertes muy visibles que reúnen su base con la placa quitinosa (placa pleural) de la cabeza.

Para no continuar una descripción que, en sus finos detalles, solamente puede interesar a un especialista, nos contentaremos con hacer notar que la posición de los palpos maxilares (más hacia adelante que las antenas) obedece al gran crecimiento de la faz ventral de la cabeza.



FIGURA N° 14.—Parte anterior de la larva primaria de *Diachasma* vista por su faz dorsal.

pm) palpos maxilares; M) mandíbulas; cl) clipeus; pl) placa pleural; gs) glándula salival; o.s) abertura de las glándulas salivales; ph) faringe; gc) ganglios cerebroides; at) apéndices torácicos; im) intestino medio.

El cuerpo de la larva está constituido por 12 segmentos. Los segmentos torácicos son particularmente interesantes a causa de los apéndices que llevan y que son, probablemente, los órganos respiratorios de la larva.



FIGURA N° 15.—Apéndices torácicos de la larva de *Diachasma*.
6 apéndice posterior.—7 apéndice anterior.

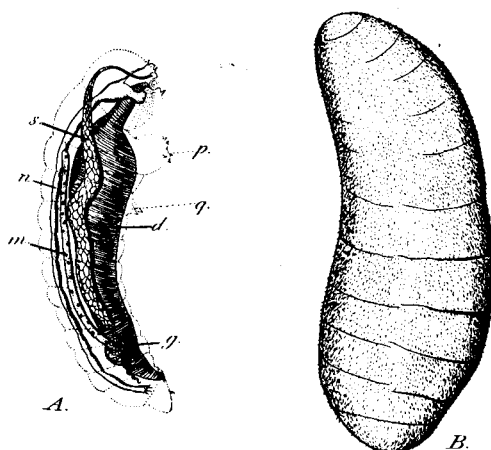


FIGURA N° 16.—A. Anatomía de la larva primaria de *Diachasma*.—B. Larva en tercer estado.

p) palpos anteriores; q) palpos posteriores; d) tubo digestivo; g) glándulas genitales; s) glándulas salivales; n) sistema nervioso; m) tubos de Malpighi.

En cuanto se refiere a la organización interna, nada diremos, bástenos la descripción de las figuras.

La larva definitiva está cubierta de pequeños y numerosos ganchitos quitinosos encorvados hacia atrás. La cabeza es muy reducida y permite ver los detalles de la armadura bucal.

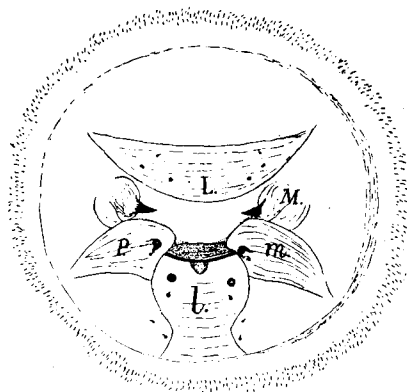


FIGURA Nº 17.—*Armadura bucal de la larva en tercer estado.*

L) labio superior; l) labio inferior; M) mandíbula; m) maxila; p) palpo maxilar

La ninfa, que encontramos encerrada en la piel de la larva, no presenta nada de particular. La relación de las mandíbulas y de las antenas son la misma que en el *Diachasma* adulto cuyos detalles se verán en las figuras.

La introducción de los huevos de *Diachasma* en el gusano de la guayaba no ha podido ser observada por nosotros. Es probable, sin embargo, que se lleve a cabo de la misma manera que en otras especies en las cuales sí se ha observado. La hembra comienza a palpar con las antenas el fruto y logra así determinar el lugar donde se encuentra un gusano; levanta luego el abdomen cuanto le es posible e introduce con relativa rapidez su largo ovopositor para alcanzar la larva e introducir en ella el huevo. Es casi seguro que muchos huevos sean perdidos. En todo caso, en los gusanos de la guayaba no se encuentra, en general, sino una sola larva del braconídeo parásito (una sola vez encontramos dos).

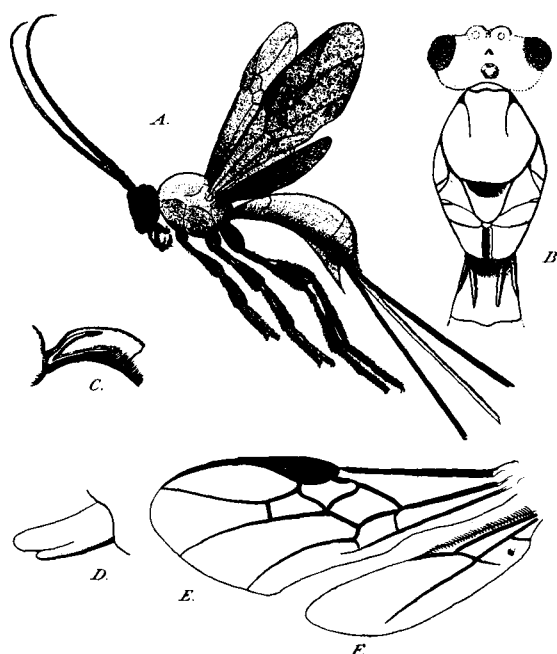


FIGURA N° 18.—*Diachasma crawfordi*.

A) hembra; B) tórax y primer anillo abdominal (faz dorsal); C) primer anillo abdominal de perfil; D) mandíbula; E) ala anterior; F) ala posterior.

LUCHA CONTRA LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS

Antes de considerar los medios de lucha que se han empleado en diversos países contra las moscas de las frutas es necesario hacer notar que algunos ejemplares de árboles frutales son indemnes y que sus frutos no están atacados por los gusanos. Este hecho ha sido señalado en Europa para ciertos olivos; en Costa Rica nosotros sabemos que de nuestras tres variedades de guayaba: colorada, blanca y amarilla, esta última es la que presenta mayor número de pies indemnes. El motivo de esta inmunidad natural es absolutamente desconocido.

En cuanto a muchos guayabos que crecen en el interior de las poblaciones y que dan frutas sanas; debemos recordar que



FIGURA N° 19.—Cabeza de *Diachasma* vista de frente.

éste no es un caso de inmunidad, sino que por el hecho de no vivir las moscas de guayaba en el centro de las poblaciones, los frutos escapan a la infección.

Como medidas generales para combatir estas moscas se ha recomendado:

1°. Recolección de las frutas antes de la maduración y cuando las larvas aún no han tenido tiempo de invadir el fruto.

Parece que las naranjas de España se libran de la infección, en muchos lugares, gracias a este medio de recolección.

2°. Recolección diaria de los frutos que caen del árbol con objeto de incinerarlos luego, antes de que salgan las larvas.

3°. Introducción en las plantaciones, de aves de corral con el objeto de que se coman las larvas y pupas.

4°. Irrigación de los árboles con varias soluciones, unas con objeto de alejar las moscas, otras con objeto de envenenarlas.

Finalmente se ha pensado en propagar los enemigos naturales de la mosca, principalmente los parásitos de sus larvas. Con tal objeto se han enviado por diversos países: Inglaterra, Italia, Estados Unidos, etc., diversos entomólogos con la tarea de encontrar y luego introducir los parásitos de las moscas de las frutas que se encuentran en otras localidades.

Para multiplicar, o más bien dicho, para aumentar el porcentaje de parásitos, hay métodos muy sencillos para algunos de ellos que son más pequeños que la mosca cuyas larvas parasitan; tal sucede por ejemplo con el braconido del gusano de la guayaba encontrado por nosotros.

Basta, en efecto, con echar las guayabas en un depósito tapado con un cedazo cuyas mallas permitan la salida de himenópteros pero no la de la mosca.

Además de los himenópteros que parasitan, ya sea las larvas o ya las ninfas, han sido encontrados ciertos coleópteros que se alimentan de otras larvas y que devoran gran número de gusanos de las frutas.

Conclusión

Para finalizar quiero presentar algunos problemas biológicos que puedan alguna vez tener gran importancia entre nosotros.

I— ¿Carecemos nosotros de las moscas que atacan las naranjas y el café?

Si es así, corremos el peligro de importarla y que ocasione grave daños.

II— Si existe entre nosotros esta especie, o ha existido aquí, debe haber motivos poderosos que impiden su desarrollo, ya sean parásitos numerosos o ya la presencia de frutas más propicias que las naranjas, café, etc. para su desarrollo.

III— Necesitando la mosca mejicana de las guayabas, lo mismo que nuestra especie, una sucesión de frutos maduros de diversas especies en que llevar a cabo ciclos alternos ¿no será la presencia de frutas preferidas, tales como jocotes u otras, las que salvan de la infección nuestras frutas más preciosas?

IV— Teniendo nosotros varias especies de moscas parásitas de los frutos, diferentes de la de la guayaba (en la anona, en el zapote, las guabas, etc. hemos encontrado otras especies) seguramente tendrán enemigos naturales que quizás impidan el desarrollo de especies más nocivas y cuya introducción en otros países fuese de gran utilidad.

Esta monografía ha sido patrocinada por el Colegio de Señoritas; presentamos nuestros agradecimientos al señor Director don J. Fidel Tristán, lo mismo que al señor Ministro de Instrucción Pública, don J. García Monge que la hizo imprimir en la Imprenta Nacional.

NUESTRA MICROBIOLOGIA DOMESTICA

I.- LABORATORIO Y COCINA

Todo laboratorio biológico tiene algo de cocina. La frase es reversible y puede asegurarse que toda cocina debe tener algo de laboratorio; en efecto, en los laboratorios, desecamos sustancias animales o vegetales, las salamos y cocemos más o menos con objeto de conservarlas. Allí preparamos caldos succulentos, compotas de frutas y gelatinas con azúcares variados o con extractos de carnes, para alimentar los microorganismos; y es bueno saber que estos seres, no por pequeños, ceden nada, en cuanto a alimentos se refiere, al más caprichoso gastrónomo del mundo. Para ellos, grano de sal de más o de menos, es cuestión de vida o muerte.

En toda cocina bien montada se necesitan también, instrumentos de laboratorio, tales como: balanza, termómetro y reloj, cuando menos.

En nuestra alimentación los microorganismos llevan a cabo un solo trabajo: *descomponer*. Pero como el hombre, llevado siempre por su antropocentrismo, y en la creencia egoísta de que todo existe para su bien o para su mal, considera a los microorganismos divididos en dos legiones: los buenos o amigos y los malos o enemigos. En estas líneas, como no se trata de filosofar, vamos también a considerarlos así: perjudiciales los unos, útiles los otros.

El deseo de conservar los alimentos no es ni siquiera patrimonio del hombre: varios animales guardan alimentos, ya sea para una próxima comida o lo que es más, para una próxima estación de carestía. La naturaleza misma enseñó al hombre

que la desecación es un factor importante en la conservación de los elementos naturales. La desecación es muy probablemente el único medio puesto en juego en la naturaleza para conservar los tejidos animales y vegetales sin ningún cambio esencial y aún con vida, a veces por tiempos muy prolongados. Es casi seguro que la primera observación que hizo el hombre prehistórico, en cuanto a conservación de sustancias alimenticias se refiere, fue la de las semillas; debe haber notado, a la primera observación, que las semillas verdes se pudren pero que las semillas secas se conservan. De cualquier manera, lo cierto es que todos los pueblos han empleado la desecación como el primer sistema de conservación de sus alimentos.

Otros pueblos notaron también que el frío conserva las sustancias orgánicas y que en el hielo pueden conservarse por espacio de mucho tiempo.

Si la desecación, aun con calor, y el frío, aún con humedad pueden, en ambos casos, conservar las sustancias animales o vegetales, fácil es colegir que para su descomposición se necesita *cierto calor y cierta humedad*. Para que esta adquisición de cocina fuese explicada por el laboratorio, fueron necesarios muchos siglos. Hoy hasta los escolares saben que cuando no hay cierta humedad y cierto calor, las bacterias que producen la putrefacción no prosperan. Añadamos, de una vez, que muchas de las que ya existían en los alimentos que se desecan o se someten al frío, soportan estas condiciones para reanudar su vida en cuanto el medio se vuelve favorable.

La desecación va, en ciertas ocasiones, acompañada de otras operaciones que ayudan a la conservación de los alimentos. A veces los salan o los ahúman. Estas dos operaciones son también antiquísimas y practicadas por casi todos los pueblos. La desecación ha sido universalmente empleada con las carnes que muy probablemente constituyeron las primeras conservas preparadas por el hombre.

Nuestros indígenas empleaban la desecación con alimentos vegetales: como resto de esta costumbre nos quedan aún los "pasados" o sea los plátanos desecados al sol hasta que su azúcar concentrado impida la putrefacción. Desgraciadamente vamos echando en olvido estos alimentos indígenas y pronto

nadie se acordará de ellos; nos referimos a los pejibayes ahumados y al *chilipinol*.

Los indios colocaban los pejibayes cocidos en redes que exponían al humo; de esta manera los frutos se desecaban poco a poco, el humo los cubría de una envoltura antiséptica a la vez que les daba lustre y color semejantes a los de la madera de cocobola; la calidad de la fruta mejoraba con los días. Hoy en cambio, los pejibayes que traen a los mercados, se ponen viscosos y llenos de moho a los dos días.

El *chilipinol* se prepara tostando y moliendo muy finamente maíz, semillas de chiverre y chile picante; el polvo así obtenido se conserva largo tiempo y anadido a la carne seca y asada era consumido por los indígenas. Este preparado espolvoreado sobre los alimentos más variados les comunica un aroma y un sabor muy agradables. Nosotros ahora introducimos hasta la salsa de soya preparada allá en el Japón por microorganismos que descomponen el arroz y que los nipones saben poner a contribución, pero nos olvidamos de nuestra gramínea: el maíz, de nuestra pimienta: el chile, y de una de nuestras almendras: la semilla de chiverre.

La desecación se emplea hoy en día para conservar carnes, legumbres, caldos, leche y huevos que se expenden en estado sólido, que se conservan largo tiempo y guardan sus propiedades nutritivas, pero también guardan, lo repetimos, las bacterias que antes contenían y las que recogen con el transcurso de los días.

II.— ESTERILIZACION POR EL CALOR

La esterilización por el calor puede efectuarse por vía seca, o por vía húmeda. En los laboratorios, la esterilización por vía seca se lleva a cabo por exposición directa a la llama o por medio de hornos en los cuales el aire calentado a cerca de 180° C destruye los microbios. La esterilización por vía húmeda se practica también de varias maneras: calentamiento en baño de maría a temperaturas diversas, calentamiento bajo presión a temperaturas superiores a 100° C. Además hay dos métodos de

esterilización conocidos con el nombre de sus autores y llamados *pasteurización* el uno y *tindallización* el otro.

La pasteurización consiste en calentar en baño de maría, durante muchas horas consecutivas el producto que queremos esterilizar. Se logra así matar los gérmenes con una temperatura muy inferior a la que sería necesaria si el calentamiento se llevara a cabo durante pocos minutos, obteniendo además la no alteración en la constitución de los cuerpos sometidos a la calefacción.

La tindallización consiste en calentar a intervalos regulares los materiales en esterilización. Así, por ejemplo, si calentamos cada día durante una media hora a 95°C y por espacio de 4 ó 5 días una sustancia contaminada con microbios capaces de resistir de una sola vez hasta 100°C , vemos que, con el calentamiento bajo, pero discontinuo y repetido, desaparecen. Sobra decir que tanto en ese método como en el anterior hay que guardarse de las contaminaciones que puedan ocurrir durante la operación.

En la conservación de alimentos se emplean todos estos métodos: los pasteles cocidos al horno se esterilizan por vía seca. El calentamiento bajo presión a temperaturas superiores a 100°C se emplea en la preparación de las conservas en latas, etc. La pasteurización, en la conservación de las leches, caldos y otros productos y la tindallización es de práctica corriente en todas nuestras cocinas y todo mundo sabe que hirviendo cada día los frijoles, pueden conservarse por muchos días en excelente estado.

La esterilización por el calor discontinuo puede emplearse para preparar en cada hogar conservas de legumbres y frutas que pueden servir en los tiempos en que éstas son escasas.

Vainicas, arvejas, tomates, fresas, moras, etc. pueden guardarse con suma facilidad durante muchos meses de la manera siguiente:

Las legumbres se cuecen en agua de sal un tiempo corto y de modo que queden aún duras y puedan soportar más cocción. Las frutas se cocerán en agua de azúcar. Se colocan luego en frascos de vidrio de los que tienen una tapa metálica de tornillo, tales como los de harina malteada, etc. El tapón debe quedar suficientemente flojo para permitir el escape de vapor. En una olla grande se ponen los frascos y se agrega agua hasta que llegue a

las tres cuartas partes de la altura de los frascos. Se tapa la olla y se pone a calentar hasta que hierva el agua; la ebullición se hace durar unos 20 minutos. Los tres o cuatro días que siguen se repite la operación, teniendo cuidado de añadir cierta cantidad de agua para reemplazar la pérdida por evaporación. Cuando se retiran los frascos se atornilla fuertemente el tapón y una vez fríos se recubren los tapones con parafina fundida.

Cuando no se dispone de esta clase de frascos en que el cierre es muy fácil, y cuando las conservas no se destinan a ser transportadas, puede emplearse aceite caliente vertido sobre la conserva caliente aún, de manera que forme un disco sobre esta última. Esta tapa de aceite impide a los gérmenes del aire llegar hasta la conserva subyacente. De esta manera se conservan los vinos en barriles cuando no han podido ser embotellados a su tiempo.

Durante la pasada guerra europea el problema de la conservación de los alimentos vegetales preocupó a los gobiernos de Europa y Norte América y con el objeto de vulgarizar los conocimientos sobre la materia, se editaron y distribuyeron millones de folletos y se prepararon frascos especiales para las conservas. Entre nosotros se ha dado el caso de que los tomates frescos valgan quizás cuatro veces más que las conservas importadas. Si en cada casa se hicieran conservas de legumbres y frutas en la época de su cosecha, se ahorraría dinero y se aumentaría la variedad en las comidas.

III.— CONSERVACION POR ANTISEPTICOS

A.—Siropes B.—Salmueras C.—Encurtidos

La conservación de las sustancias orgánicas por medio de antisépticos es excesivamente fácil cuando no se destinan a la alimentación; pero, si pensamos consumir las sustancias vegetales o animales conservadas por medio de antisépticos, el problema es que necesitamos emplear antisépticos que solo no sean perjudiciales a nuestra salud, sino que tampoco comuniquen mal gusto a los alimentos.

Puede decirse que la sal, el azúcar, el vinagre y el alcohol son las únicas sustancias que reúnen estas condiciones: la sal

para las carnes, el azúcar y el alcohol para las frutas y el vinagre para las legumbres.

A. Siropes

Hay un hecho muy interesante en la fabricación de los siropes y que debe ser tomado en cuenta por todo aquel que quiera evitar que se descompongan. Sabemos que cuando un sirope es muy ralo se fermenta; para evitarlo, hay que hacerlo más denso. Pudiera creerse, *a priori*, que no habría que hacer otra cosa que agregarle azúcar en exceso; sin embargo, si hacemos esto, sucede que a los pocos días el azúcar cristaliza, y lo malo es que al cristalizar deja un sirope que se fermenta. Así pues si hay poco azúcar, malo, y si hay mucho azúcar, también malo. Para que un sirope no fermente ni cristalice necesita tener una densidad de 31 grados Baumé.

Cuando se quiere conservar frutas en un sirope, se harán hervir en él un tiempo suficiente para que el azúcar penetre en la fruta, salga el agua que contiene y se mezcle con el sirope; el líquido de conserva deberá siempre tener los 31° B. de densidad.

B. Salmueras

Los vacíos de las carnes sometidas a la salazón deben ser llenados con una salmuera concentrada. Para prepararla se hierven 4 onzas de sal junto con 4 gramos de salitre en un litro de agua y se concentra hasta que un huevo puesto en ella no se sumerja. La cantidad de salitre puede doblarse.

Además de estas salmueras líquidas pueden prepararse carnes salitradas en seco. Una de las preparaciones más corrientes de esta clase es el *Corned-Beef*. Se prepara generalmente con punta de solomo. Se mezclan sal, salitre y azúcar en la proporción de una cucharada de sal, otra de azúcar y una cucharadita de salitre por cada libra de carne. Con la mezcla se frota bien la carne y se prensa en un recipiente adecuado. Para pequeñas cantidades puede servir una sopera en la cual se pone la carne, se prensa con un plato invertido sobre el cual se

coloca un cuerpo pesado. El plato debe descansar sobre la carne directamente y por consecuencia sus bordes no han de tocar la sopera. Se cubre todo con un lienzo que se amarra a la sopera y que tiene por objeto evitar las moscas. Cada día se le da vuelta a la carne en prensa, de manera que la parte que estaba en el fondo sea cubierta por la tapa.

Al cabo de 4 ó 5 días puede cocerse y caliente aún, desmenuzarse-sazonarse como se quiera y prensarse fuertemente un día más.

La conservación de carne por este procedimiento puede prestar grandes servicios a las personas que permanecen en lugares donde la carne fresca no se consigue sino de cuando en cuando; cada día puede tomarse de la carne en prensa la cantidad necesaria para el consumo y seguir prensado el resto.

En el caso del *Corned-Beef* vemos que actúan tres antisépticos: sal, azúcar y salitre. A veces las carnes salitradas se ahúman y aquí en Costa Rica hemos visto preparar de esta manera excelentes lomos de cerdo y lenguas de buey. La carne prensada y previamente frotada con sal, azúcar y salitre, en las proporciones antes indicadas y en tiempo igual al del *Corned-Beef*, se envuelve bien en una tela que se amarra fuertemente por medio de una espiral *apretada* de cáñamo. Se expone al humo por espacio de un mes, se saca de la tela y se cuece en agua hirviendo. El lomo de cerdo, antes de ser prensado en la salmuera es condimentado con ajos y pimienta. Su sabor es semejante al del *jambonneau*. Las lenguas ahumadas como hemos dicho tienen un sabor muy parecido al de las lenguas escarlata que tanto consumen los ingleses.

C. Encurtidos

Los encurtidos consisten en legumbres conservadas en vinagre. Los que se preparan y expenden en el país son de calidad detestable: tienen mal sabor y apenas se abren se descomponen.

Es sin embargo, muy fácil preparar buenos encurtidos. Tomaremos como ejemplo el de cebollas precisamente por ser uno de los que más mal se hacen en el país.

Para evitar que las cebollas se pongan negras se cuecen en agua de sal *sin pelar*. De tiempo en tiempo se partirá una para

ver si el centro está ya cocido. En el momento en que la cocción llegue al centro se sacan del agua, una vez frías se les quitarán las capas que no sirven y se van poniendo en agua limpia y bien salada. Se pondrán luego en vinagre arreglado con sal y algo de chile; por cada frasco de los corrientes de encurtido se pondrá una o dos hojas de orégano. Al cabo de cuatro días es bueno cambiar de vinagre por otro preparado de la misma manera. El objetivo del cambio de vinagre es el siguiente: las legumbres tienen en sus tejidos gran cantidad de agua que con los días va mezclándose con el vinagre y rebajando su acidez; por este motivo, y la falta de sal es que los encurtidos se descomponen una vez abiertos. La adición de orégano perfuma el vinagre y sirve como antiséptico por el timol que contiene. El vinagre que se emplee debe ser muy ácido y puede de antemano haberse condimentado.

Con palmito asado o salcochado se preparan muy buenos encurtidos que pueden consumirse recién preparados —24 a 48 horas son suficientes.

Hasta ahora nos hemos ocupado de la destrucción de los microorganismos que inutilizan nuestros alimentos. Veamos ahora algunos cuyo trabajo puede ponerse a contribución por el hombre para preparar alimentos nuevos: el vino, el vinagre, el pan, la cerveza, muchos quesos, etc. son preparados por uno o por varios microorganismos que se suceden unos a otros con tal precisión que si por un motivo cualquiera interviene algún ser extraño, o deja de llegar a tiempo el sucesor natural, el equilibrio se pierde y el producto en vía de formación queda perdido para el consumo humano.

IV.— BEBIDAS FERMENTADAS

A. Chicha

Nos ocuparemos de esta bebida en primer término por ser la bebida fermentada indígena del país, y en segundo lugar, por ser aún bastante consumida.

Nuestros antepasados los indios fabricaban chicha de maíz, yuca, plátano y pejibaye; lo más corriente era una mezcla de algunos de estos elementos.

Necesitando azúcar como materia prima, que pudiese fermentar y transformarse en alcohol y anhídrido carbónico y como ni en la yuca, maíz y pejibaye existe en cantidades apreciables, sometían los indios estos productos a previa masticación con el objeto de que la diastasa de la saliva transformase el almidón de azúcar. La pasta mascada se ponía en recipientes de arcilla y allí se dejaban con mayor o menor adición de agua para que se convirtiera en chicha. Con tal sistema se comprende que los microbios no pecarían por ausencia y que hasta los bacilos de tuberculosis sufrieran un remojo en chicha para luego proseguir su vida en nueva víctima.

Las chichas del tiempo presente deben su "civilización" al dulce de caña que figura en toda chicha. La fermentación del dulce de caña se lleva a cabo por hongos unicelulares o levaduras que son las que forman esa especie de arenilla que va cayendo al fondo de los recipientes y que sirve para activar nuestras chichas.

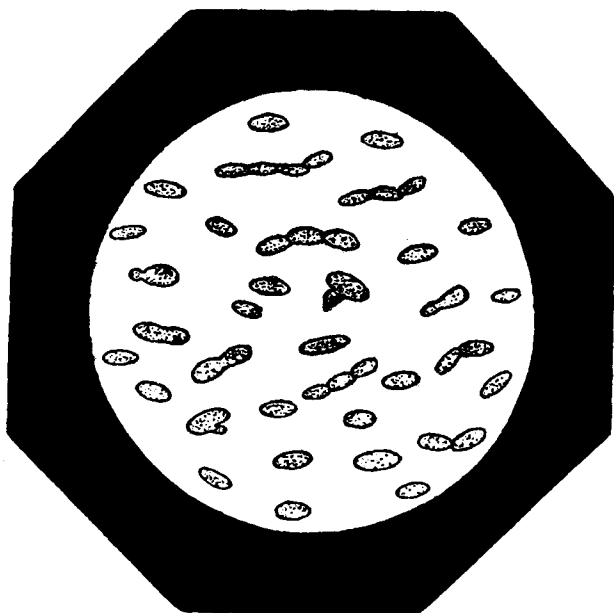


FIGURA Nº 1.—Levadura de la fermentación alcohólica.

Con el sistema de añadir a un poco de agua de dulce, algunas frutas aromáticas, maíz nacido etc. y dejar el todo fermentar espontáneamente, comprendemos que cada cual pueda preparar un líquido fermentable conforme sea su gusto y que luego la suerte hará crecer allí unas u otras levaduras, unos u otros microbios... todo es chicha.

Un paso más dado en la confección de nuestras chichas consiste en hervir el líquido que se va a fermentar y cuando frío, introducirle un pedazo de caña de azúcar, pedazos de madera que estuvieron en antiguas chichas, o emplear recipientes que sirven sólo para fabricar chichas y que a veces limpian con esmero cada vez que su contenido se ha gastado.

Con el calor matan así muchos de los gérmenes contenidos en el mosto fermentable y luego el cabo de caña, el pedazo de madera o el recipiente "curado", aportan las levaduras necesarias a la fermentación.

De todos modos estas chichas pueden contener microbios patógenos capaces de causar la muerte.

Nada más fácil, sin embargo, que obtener estas chichas en forma tan potable como la cerveza o la cidra; basta para ello poner en el mosto hervido y frío un poco de levadura pura.

B. Chinchiví

Esta bebida fue muy consumida entre nosotros antes de que se estableciese en el país la fabricación de la cerveza. Sin que sepamos por qué los viejos fabricantes del chinchiví decían necesitar al menos nueve componentes para que la bebida fuera a la vez "fresco y medicina". Se componía de: agua, jengibre, zarzaparrilla, canchalagua, culantrillo, doradilla, maíz, caña y dulce.

El oficio de cada componente suponemos que fuera el siguiente: dulce,—materia prima fermentable; maíz nacido,—azúcar fermentable y sabor de los gérmenes; caña,—llevar las levaduras; jengibre,—sabor picante; zarza,—sabor particular y propiedades medicinales, canchalagua,—perfume de la raíz (únicamente la raíz se emplea)—En cuanto al culantrillo que es un helecho y a la doradilla que es una selaginela, no sabemos si además de las supuestas cualidades medicinales tengan en rea-

lidad un papel efectivo, pues en Europa emplean los rizomas de un helecho en la confección de ciertas cervezas.

De todas maneras el chinchiví bien preparado tiene excelente sabor y puede prepararse una bebida semejante haciendo hervir en agua dulce, jengibre y zarzaparrilla; dejar enfriar el mosto aromatizarlo con trazas de salicilato de metilo (que es el olor de la raíz de la canchalagua.—*Polygala* sp.). Añadir un poco de levadura pura y dejar fermentar.

C. Cerveza de maíz

Se lava bien y se pone a nacer en un lugar húmedo medio cuartillo de maíz; al cabo de tres días se *medio muele* y se pone en doce botellas de agua; el todo se deja sobre una cocina, de manera que vaya calentándose muy poco a poco durante tres o cuatro horas; (el efecto de esta calefacción es el que sigue: la diastasa desarrollada durante la germinación, ataca el almidón del grano, transformándolo en azúcar).—Al cabo de las cuatro horas de calefacción lenta pero continua se añaden cuatro libras de dulce y cuatro onzas de lúpulo. Se hierva durante unos 15 ó 20 minutos; se cuela, se añade agua caliente hasta completar 14 botellas, se deja enfriar y se le añade un poco de levadura fresca de cerveza. Si se quiere negra, se le añade caramelo de dulce quemado.

La cerveza aquí en San José está a punto al cabo de 24 horas generalmente. Si se quiere más espumante se embotellará y tapará con corchos que se amarran conforme muestra la Figura N° 2. Las botellas permanecerán acostadas algunas horas (si se dejan mucho tiempo pueden reventar).

Esta cerveza casera puede prepararse en los campos y su precio es muy bajo. El inconveniente que tiene es el sabor que le comunican los gérmenes del maíz y que cuesta mucho quitar.

Estas bebidas frescas son turbias y no pueden conservarse largo tiempo. La turbidez es causada en gran parte por levaduras en suspensión, pero como las levaduras cuentan entre los cuerpos que contienen gran cantidad de vitaminas (sustancias útiles al organismo animal y que tienen la propiedad de actuar en cantidades muy pequeñas pero cuya carencia absoluta acarrea graves trastornos al organismo) es preferible consumir la bebida

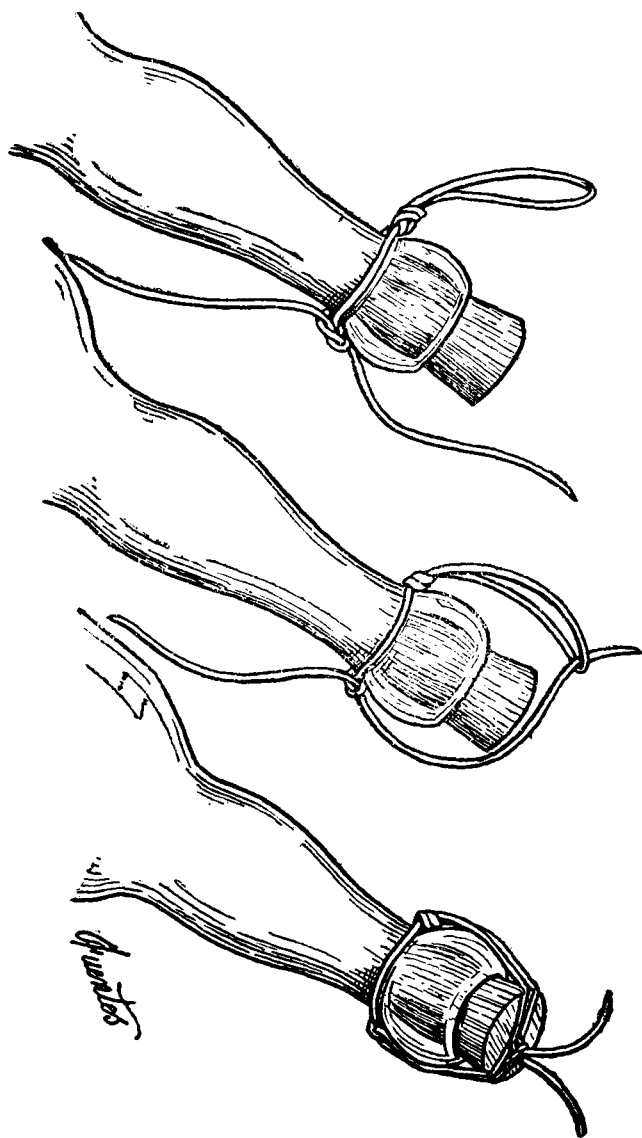


FIGURA N° 2.—Forma de amarrar el corcho de las botellas de cerveza.

junto con las levaduras. Bien sabido es, por otra parte que en los casos de furunculosis, espinillas y otras enfermedades de la piel, muchos médicos han siempre aconsejado el empleo de la levadura de cerveza y bien pudiera ser que su utilidad sea debida a las vitaminas que contiene.

Para no tratar aquí sino de bebidas de origen vegetal dejamos el Koumiss y el Kefir para hacerlo con oportunidad al ocuparnos de la leche. Del vino y cidra no nos ocuparemos por no ser práctico para nosotros.

Antes de concluir queremos sí decir que el *Sake* japonés y el *Arack* de Java, que provienen del arroz fermentado, deben la transformación del almidón en azúcar, no a la saliva como la chicha mascada de nuestros indios sino a un hongo (*Aspergillus orizae*) que prepara el terreno a las levaduras que producen luego la fermentación alcohólica.

V.- PAN

Todo mundo sabe que para hacer pan es necesario tener "levadura". En el comercio existen pastillas de levaduras más o menos comprimidas que conservan su vitalidad por mucho tiempo. Entre nosotros es más usual el empleo de la levadura de cerveza. Digamos desde ahora que las mejores levaduras para hacer pan no son aquellas levaduras que se muestran más eficaces en la preparación de bebidas fermentadas y que, por consecuencia, siempre será preferible si fuere posible, obtener levaduras que hayan sido seleccionadas con el exclusivo objeto de obtener una buena panificación.

El efecto de la levadura en la harina amasada es el de fermentar los azúcares que tienen naturalmente las harinas; éstas contienen además, pequeñas cantidades de diastasas capaces de dar pequeñas cantidades de azúcar fermentable a expensas del almidón. Cuando la levadura descompone el azúcar en alcohol y anhídrico carbónico, este "hace crecer" las masas y las burbujas son retenidas por el gluten que, por efecto de la cocción, llega a constituir una especie de esponja que guarda forma propia. La falta de gluten es lo que hace imposible la fabricación de pan de maíz, banano, etc.

Durante la fermentación producida por la levadura, en el seno de la masa, se lleva a cabo el crecimiento de varias bacterias: unas de ellas producen cierta cantidad de ácido láctico y su crecimiento es más bien provechoso pues impide el desarrollo de las bacterias nocivas.

Cuando se deja mucho tiempo creciendo la masa, se desarrollan bacterias ácido-generadoras en gran cantidad y el pan que se obtiene es agrio: otro tanto sucede si se deja la masa en un lugar de temperatura bastante alta mientras crece.

Algunas aunque raras veces, se obtiene un pan, bueno al parecer, pero, si se parte algunas horas después de cocido, se encuentra que la miga se está transformando en una sustancia viscosa que pronto echa a perder el pan. Este perjuicio está causado por ciertas bacterias que han contaminado la masa. Se recomienda una pequeña adición de ácido láctico para combatir la enfermedad.

VI.— VINAGRE

Los europeos creen que el buen vinagre proviene exclusivamente del vino: en Norte América admiten ya, que de la cidra se fabrica buen vinagre. Nosotros no tenemos ni vinos que se agrien natural o artificialmente, ni cidras que den vinagre de una manera más o menos forzada. El vinagre que consumimos es en su mayor parte importado; cuando bueno es muy caro y cuando barato a menudo falsificado. Nuestro vinagre nacional es el de guineo: desgraciadamente casi siempre es preparado en condiciones higiénicas detestables y se expende en forma de un líquido turbio más o menos ácido, con más o menos alcohol y azúcar y que tiene en su contra todas las condenatorias que caen sobre las chichas cuya flora microbiana y viva depende de la suerte.

Nuestros guineos dan un vinagre excelente que puede figurar en cualquier mesa, su preparación es fácil, poco dispendiosa y puede consumirse en cada casa un producto higiénico y sabroso con poco empeño que se ponga en ello. Comprando actualmente guineos en San José el costo es de ₡ 0,20 por botella.

Cuando se quiera preparar vinagre de guineo habrá, primero que nada, que escoger frutas muy maduras; sabido es que las frutas verdes contienen poco o ningún azúcar pero que las diástasas formadas durante la maduración, van paulatinamente cambiando el almidón y otros cuerpos similares en azúcares que serán la materia a expensas de la cual se producirá el vinagre.

Partiendo de los guineos como materia prima y única pueden prepararse dos clases de vinagre:

1°. Vinagre oscuro

La manera más práctica y limpia para la preparación de pequeñas cantidades es la siguiente:

Los guineos bien lavados y secos se colocan en un canasto cuya base sea del mismo diámetro que un lebrillo subyacente; es decir, que el canasto pueda servir de tapa al lebrillo pero *sin desborden*. Sobre los guineos se coloca un disco de madera y sobre

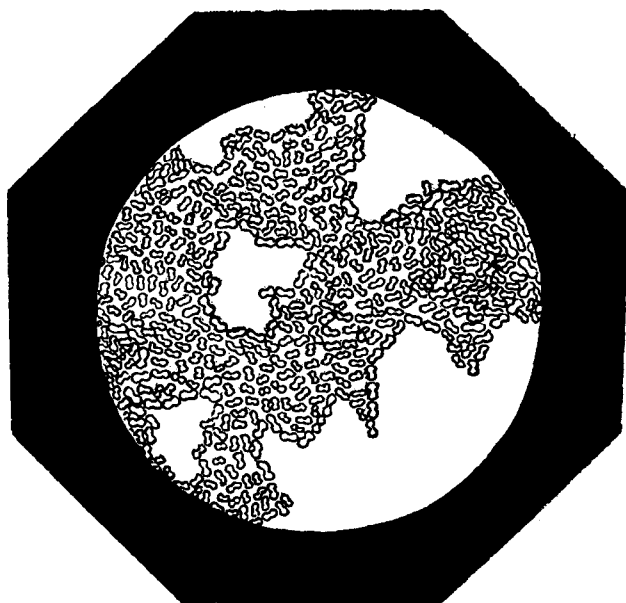


FIGURA N° 3.—Miconderma del vinagre de guineo.

éste un cuerpo pesado (una piedra por ejemplo). El todo se cubre con un saco de tela cuyo objeto es impedir la llegada de las moscas. Al cabo de unos días (4 a 15) cuando los guineos están ya casi secos se encuentra en el lebrillo un líquido que contiene fermento alcohólico y acético que basta colar con objeto de limpiarlo de impurezas y abandonarlo a sí mismo por espacio de unos días. El fermento acético comienza poco a poco a suplantar las levaduras primitivas y a constituir un velo que se extiende sobre la superficie del líquido como si fuera una piel (Figura N° 3). Los microbios que forman este velo son del mismo grupo que Pasteur designó con el nombre de *Mycoderma aceti*. Cuando el líquido tiene ya el olor y sabor apetecidos se cuele y se hierve breves instantes con un poco de sal. Se cuele por segunda vez, se deja enfriar y se embotella: al cabo de algunos días cuando ya está límpido puede decantarse—con el tiempo mejora. Este vinagre tiene el color de vino de madera y olor y sabor a los cuales pronto se toma gusto y afición.

2°. Vinagre blanco

Se pelan y machacan los guineos bien maduros, se les añaden un poco de levadura o vinagre de guineo en vía de fermentación, se remueve la masa de cuando en cuando y el tercer día se cuele a través de una tela comprimiendo la pasta para extraer el mayor jugo posible. Cuando la fermentación alcohólica ha concluído, es decir cuando ya no hay más desprendimiento de burbujas de anhídrido carbónico es bueno agregar un fragmento de velo de *Mycoderma* proveniente de un vinagre anterior. Luego se hierve y trata como hemos dicho anteriormente.

Hagamos notar que cuando se emplean guineos con cáscara es casi inútil el empleo de levaduras y fermento acético provenientes de fermentaciones anteriores; esto se debe al hecho de que en la corteza de casi todas las frutas maduras se encuentran levaduras capaces de fermentar los azúcares desarrollados en las mismas frutas. Estas levaduras son llevadas por las moscas de fruta en fruta la mayoría de las veces, otras ocasiones pasan un tiempo en el néctar de las flores y, finalmente, algunas de ellas tales como la levadura del vino pueden pasar en la tierra todo el invierno en estado latente y luego ser llevadas por los insectos a las frutas de otra nueva cosecha. En cuanto al transporte del fermento

acético, hay un grupo de moscas del género *Drosophila* que parecen ser los testigos constantes de la fermentación acética. A los pocos minutos de exponer un cuerpo que desprende vapores acéticos aparece sin falta esta mosquita.

VII.— MAZAMORRA

Se medio-muelen los granos de elotes que estén ya bastante duros, pero que tengan aún sabor azucarado. A la pasta grosera formada por los granos despedazados se le añade un volumen igual de agua hervida pero fría; debe cuidarse que toda la pasta quede sumergida.

Se pone en un recipiente esmaltado o de vidrio y se deja en un lugar fresco de 24 a 48 horas. En el transcurso de este tiempo, un fermento, un diplo-bacilo (Figura N° 4) ataca el azúcar del maíz tierno, liberando poco a poco ácidos que comunican al líquido en fermentación, un sabor y aroma peculiares. Una vez fermentada

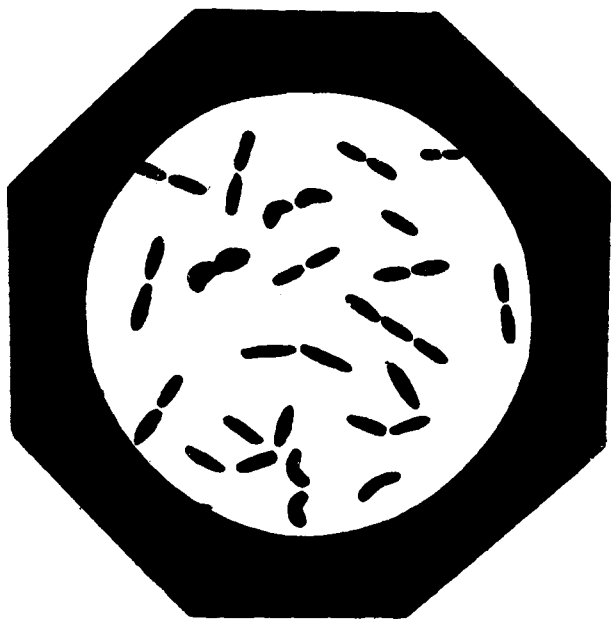


FIGURA N° 4.—Microbios de la mazamorra.

se muele finamente toda la pasta y se cuela a través de un lienzo *ralo* que deje pasar el almidón y sustancias solubles, pero que retenga la envoltura de los granos. El líquido tamizado se pone a hervir. Se le añade azúcar o dulce y trazas de sal; mientras se cuece y condensa hay que removerlo constantemente. Al enfriarse se coagula en forma de una pasta semigelatinosa de sabor agrio *sui generis*. Es de notarse que las bacterias que originan la fermentación de la mazamorra, al ser cultivadas en agar glucosado, despiden siempre el mismo olor agrio característico del elote fermentado.

Las colonias aisladas en agar glucosado son de dos clases: unas opacas y grandes y otras transparentes y pequeñas. Las colonias opacas están formadas por un diplococobacilo y las pequeñas por un diplococo más pequeño.

N.B. Si el agua no cubre bien la pasta, se desarrollan pronto los microbios de la fermentación pútrida.

VIII.- TABASCO

Se designan con este nombre las salsas hechas a base de chile picante. Varios procedimientos pueden emplearse pero uno de los más económicos y eficaces es el llevado a cabo por la fermentación; los chiles, en efecto, contienen bastante azúcar y podemos encontrar en las diversas especies o variedades de chile una graduación completa desde el chile dulce que carece de picante hasta los chiles en que es imposible distinguir el sabor dulce a causa de su picante excesivo.

El picante moderado del chile sirve como estimulante de las glándulas digestivas y en medicina se emplea con tal objeto.

La preparación del tabasco por medio de la fermentación, puede llevarse a cabo de la manera siguiente: en un frasco de vidrio de boca ancha se introducen y machacan con ayuda de una varilla de madera los chiles *sin pedúnculo* (éste da un sabor amargo); se vierte sobre la pasta así formada un poco de agua con dulce (hervida y fría) hasta que llegue a cubrir la pasta. Se tapa la boca del frasco con un lienzo *ralo* y se abandona por 48 horas. En este tiempo se producen burbujas y comienza a depo-

sitarse el líquido en el fondo del frasco. Si se examina al microscopio el líquido en fermentación, encontramos que ésta está producida por un diplococobacilo bastante redondeado y de tamaño más grande que el de las bacterias de la mazamorra (Figura N° 5). Si aislamos estos gérmenes en cajas de Petri con agar glucosado, obtenemos como en el caso del elote dos especies de microbios: unos que dan grandes colonias opacas formadas por elementos ovalados, casi esféricos y otras colonias más pequeñas y transparentes formadas por elementos alargados o bacilos. Estas colonias no despiden ningún olor particular; las cajas en que se ha hecho el cultivo, recuerdan las siembras hechas con colibacilos mezclados con bacilos tíficos.

Al cabo de las 48 horas de fermentación invertimos el frasco sobre un vaso. El anhídrido carbónico producido por la fermentación se acumula en la parte superior y hace presión al líquido que colándose a través del lienzo que tapa la boca del frasco cae en el vaso. Al cabo de 24 horas de tener el frasco invertido, el líquido útil ha pasado. Se le añade entonces un tercio de su vo-

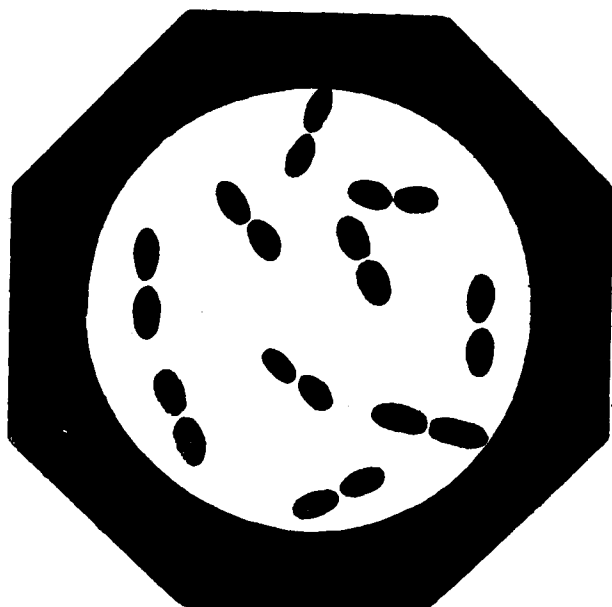


FIGURA N° 5.—Microbios del tabasco.

lumen de vinagre fuerte y por cada cuarto de botella una cucharada de sal. Se calienta hasta primer hervor, se deja enfriar y se embotella. Si se quiere evitar la sedimentación, se agrega un poco de goma arábiga con el objeto de mantener en suspensión, las pequeñas partículas de chile arrastradas con el líquido.

Con ¢ 0,35 puede obtenerse un cuarto de botella que en el comercio costará por lo menos ¢ 2,00.

IX.- CHOUCROUTE

El repollo fermentado se consume en cantidades enormes, sobre todo en Alemania; su empleo es, sin embargo, corriente en Francia, Inglaterra, Polonia, Estados Unidos, etc. Entre nosotros, casi solamente consumimos el que se importa. Su preparación es bastante fácil y puede hacerse en cada hogar con poco costo y obtenerse un alimento de fácil digestión, pues los microbios han llevado a cabo gran parte de ella y además higiénico por el ácido láctico que contiene. En pequeñas cantidades puede prepararse de la manera siguiente:

Las hojas de repollo *lavadas y secas* son cortadas en filamentos largos y finos pero que no lleven la vena o nervadura central. El repollo en filamentos se dispone en un barrilito en que debe prensarse. La mejor manera de operar consiste en poner una pequeña cantidad en el fondo, se espolvorea con sal y se machaca con un mazo de madera; luego se pone otra capa de repollo en hebras que se espolvorea con sal, se machaca, a su vez y así sucesivamente. Sobre la última capa se coloca la tapa del barrilito. Como la tapa no pasaría por la boca del barril, se parte en dos y se arma en el interior. Sobre la tapa se colocan bastantes papeles (periódicos pueden servir), luego unos ladrillos de construcción, ojalá nuevos para que absorban el líquido que saldrá por compresión de las hojas. Estos ladrillos deben sobresalir de la boca del barril y si su altura no es suficiente se añadirán otros o pedazos de otros. Se envuelve todo en un lienzo que se amarra alrededor del barril y que tiene por objeto impedir que lleguen las moscas a poner sus huevos en el repollo; el cual, sin este requisito

pronto se llena de gusanos. Finalmente se coloca sobre todo una piedra bastante pesada. Al cabo de 17 a 20 días se obtiene en *San José* una fermentación a su punto.

La fermentación del repollo es también de origen microbiano pero doble: a expensas de las sustancias azucaradas contenidas en las hojas, los microbios y levaduras (Figura N° 7) elaboran ácido acético y a la vez ácido láctico y quizá otros ácidos y éteres.

Al cabo de los 17 o 20 días de fermentación se extrae la choucroute, se recortan las partes amarillentas, se desmenuza para separar los filamentos que salen en forma de discos compactos. Se cocina con poca agua pero bien tapada, se arregla la cantidad de sal, se pone agua, pimienta y mantequilla, se

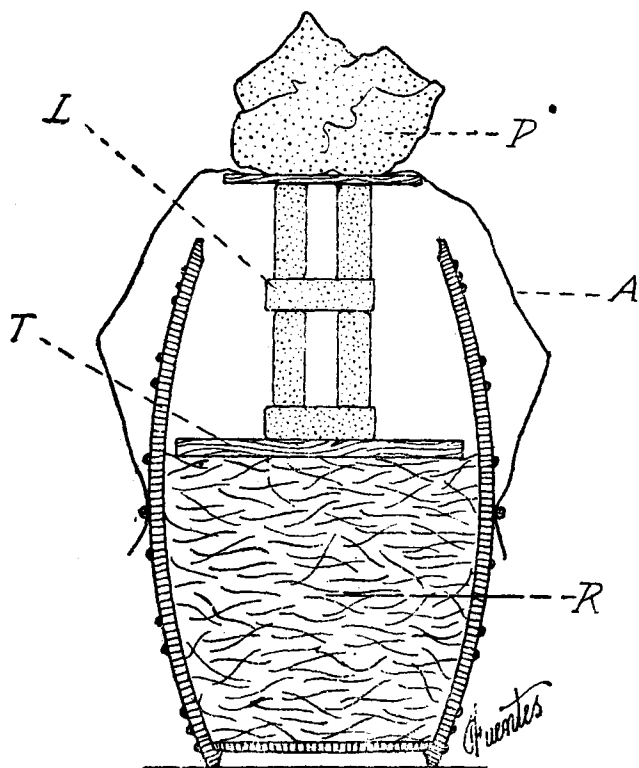


FIGURA N° 6.—Dispositivo para preparar la choucroute: P.—Piedra. L.—Ladrillos. T.—Tapa. R.—Repollo. A.—Lienzo.

continúa la cocción hasta que esté suave. Los europeos la sirven con salchichas de Viena o jamón y con papas cocidas junto con el repollo agrio.

No es necesario decir que en lugares cuya temperatura no sea la misma que en San José, el tiempo de fermentación ha de variar. Haremos notar que en otras partes y cuando se preparan grandes cantidades de repollo, hay necesidad de vaciar de cuando en cuando el agua que trasudan las hojas prensadas. Para preparar pequeñas cantidades bastan los papeles y ladrillos de que hemos hecho mención. En un barrilito de 40 x 20 centímetros, pueden caber de 8 a 10 repollos grandes. De todas maneras vaciar cada uno de los primeros días el agua que trasuda no hará sino mejorar las condiciones de fermentación.

Con ¢ 1,50 puede obtenerse lo que importado en latas valdría al menos ¢ 10,00.

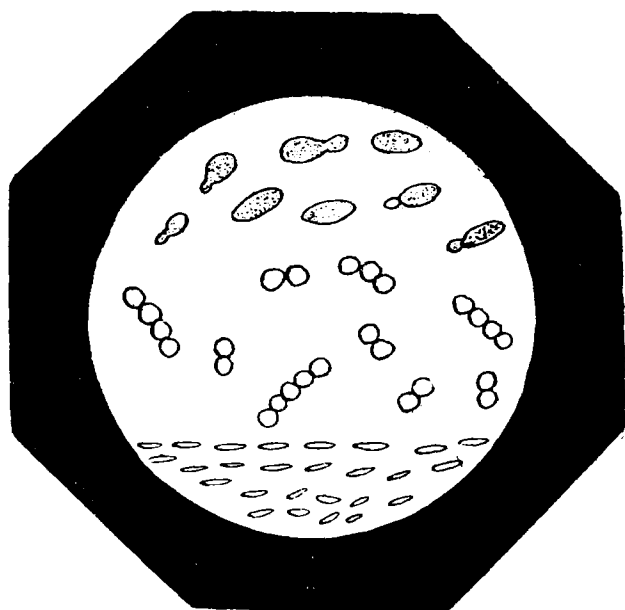


FIGURA N° 7.—Bacterias y levaduras de la choucroute.

X.— LECHE AGRIA

Durante mucho tiempo se creyó que la leche se cuajaba debido a sustancias contenidas en la leche misma y que tal fenómeno era comparable a la coagulación de la sangre. La leche no contiene, sin embargo, fermentos que produzcan su coagulación espontánea y la leche esterilizada por uno de los métodos eficaces: pasteurización, tindallización, luz ultravioleta, etc., lo mismo que la leche a la cual se añaden antisépticos que no perjudiquen las diataseas, no se cuaja por sí misma. Todo lo contrario sucede si añadimos a la leche un ácido cualquiera pues entonces la coagulación se produce inmediatamente.

La leche contiene normalmente ciertas especies de bacterias que tienen propiedad de atacar el azúcar contenido en la leche, o lactosa, dando lugar a la formación de ácido láctico; cuando la cantidad de este ácido llega a unos 8 por mil, la coagulación se produce. Por este motivo es que la adición de bicarbonato de sodio a la leche retarda su coagulación: el bicarbonato neutraliza el ácido láctico que va formándose. El ácido láctico formado preserva a la leche de la putrefacción y así vemos que mientras la leche abandonada se cuaja sin que se pudra, los caldos y las carnes, lo mismo que los otros albuminóideos entran en putrefacción en poquísimos tiempo.

Entre las bacterias que producen la coagulación de la leche, figuran dos especies que tienen igual forma (Figura N° 8) pero que se portan de manera diferente: una de estas especies es la que produce en los quesos esa serie de oquedades que le dan el aspecto de esponja y que muchas veces hacen que se pierdan.

Hay además un bacilo, el *Bacillus bulgaricus* (Figura N° 9) mucho más activo que los microbios citados anteriormente y que al desarrollarse en una leche impide el crecimiento de las otras bacterias; este bacilo produce doble cantidad de ácido láctico que las bacterias corrientes que cuajan la leche; esta especie es la que emplean desde hace algunos años algunos pueblos de la Europa oriental para preparar su leche agria. Esta leche agria o yoghourt es empleada actualmente en casi todo el mundo para combatir las autointoxicaciones de origen intestinal.

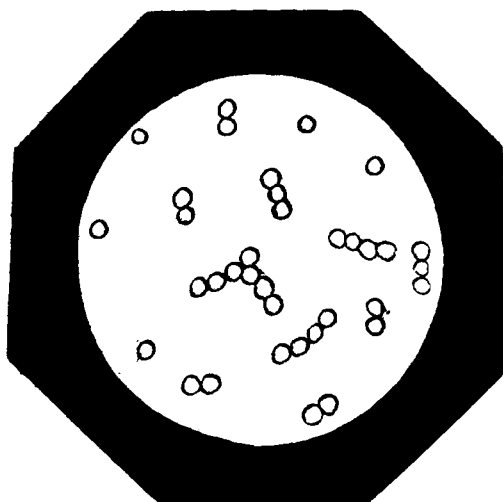


FIGURA N° 8.—Microbios normales de la leche que producen su coagulación.

Hemos mencionado las bacterias que normalmente producen la coagulación de la leche: apresurémonos sin embargo, a añadir que además de estas bacterias que producen las buenas cuajadas, hay sin número de otras, que causan su coagulación y que muchas de éstas pueden ocasionar graves enfermedades en el hombre; por consecuencia, el hecho de que la leche agria sea un excelente e higiénico alimento, no quiere decir que toda leche agria lo sea.

Para preparar una leche agria que sea eficaz para combatir los microbios intestinales debe operarse de la manera siguiente:

A la leche fresca y limpia que se destine para el yoghourt se le añadirán los bacilos búlgaros que se expenden en el comercio. Cuanto más fresca sea la leche habrá menos probabilidades de que se contagie con bacterias del aire y una vez que el bacilo búlgaro ha sentado plaza, impide el desarrollo de las otras bacterias. La primera cuajada hecha con estas bacterias, puede servir para continuar el cultivo de la especie: basta en efecto, añadir a la nueva leche, un poquito de la cuajada anterior.

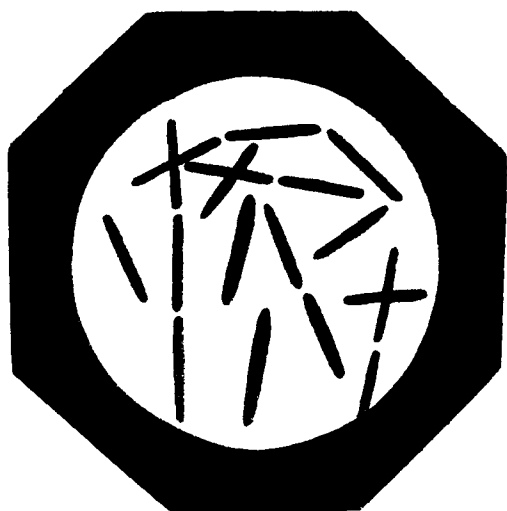


FIGURA N° 9.—Bacilos búlgaros.

El efecto saludable de los bacilos lácticos se comprende fácilmente si recordamos que en el intestino normal del hombre se producen diariamente unos ciento veintiocho mil millones de microbios; que muchos de ellos producen las putrefacciones intestinales que envenenan nuestro organismo ocasionándonos entre otras cosas, la vejez prematura, pero que si se aclimatan en el intestino los bacilos lácticos, éstos no solamente contrarrestan el desarrollo de muchos microbios nocivos sino que también impiden que formen muchos productos venenosos.

XI.— KOUMISS

Desde tiempos muy remotos preparaban los árabes una bebida gaseosa y alcohólica con leche de yegua designada con el nombre de koumiss. La leche de vaca no da normalmente ninguna fermentación de esta naturaleza, pero si se añaden otros azúcares y fermentos apropiados se obtienen bebidas gaseosas y algo alcohólicas que son conocidas con el mismo nombre. Hay gran nú-

mero de fórmulas para preparar estas bebidas que se emplean como alimento para enfermos y convalecientes; la fórmula que damos a continuación permite preparar con facilidad un koumiss nutritivo bastante agradable al paladar:

Suero fresco de leche, una botella
Azúcar de leche, media onza
Azúcar de caña, dos onzas
Pasas, una y media onza
Bicarbonato de sodio, media cucharadita

Se hierve todo habiendo tenido cuidado de romper las pasas. Se cuela, se deja enfriar. Se añade un poco de levadura de cerveza. Se deja fermentar en un recipiente de boca ancha (una olla enlozada por ejemplo) cubierto con un lienzo por espacio de 24 horas; al cabo de este tiempo se envasa en botellas fuertes muy bien tapadas. (Las de Apollinaris son muy buenas para el caso). Los tapones se sujetan con un cáñamo para impedir que salten. Se dejan las botellas *acostadas* en un lugar fresco por 10 horas. Durante este tiempo la bebida se satura de gas carbónico que produce suficiente presión para hacer saltar los tapones, una vez suelta la amarra, y derramar el líquido fuera de la botella como si se tratase de un vino espumante.

Se sobrentiende que los tiempos de que hemos hecho mención, se refieren a San José y en otros lugares deberán variarse de acuerdo con la temperatura.

Esta bebida no se conserva y debe ser preparada cada vez con unas 30 horas de anticipación: 24 para la fermentación al aire y unas 6 o más en botella.

XII.— KEFIR

Esta bebida es producida por la fermentación alcohólica de la leche. La fermentación se lleva a cabo por unos granitos cuyo origen es desconocido, que a veces se encuentran en el comercio, pero que comúnmente pasan como préstamo u obsequio de casa

en casa. Estos granitos, de superficie rugosa como una semilla vieja, están constituidos por tres especies de bacterias; ya hemos dicho que la fermentación alcohólica de la leche no es un fenómeno común, sin embargo, estos granos logran, quizás por la asociación de las otras bacterias, llevar a cabo tal fermentación.

Los granos de kefir se reblandecen en agua tibia, luego se ponen en leche y al cabo de cierto tiempo comienzan a moverse, debido a que son suspendidos a medias por las burbujas de anhídrido carbónico que producen. La leche en fermentación puede embotellarse como el koumiss y obtener así una bebida espumante. La dificultad consiste en procurarse los granos de kefir: la ventaja consiste en que la leche fermenta sin la adición de ningún elemento.

Los granos de kefir crecen en la leche, pueden dividirse en pedacitos y de cada uno de ellos obtener un nuevo grano. Hay que tener cuidado de lavarlos muy bien cada vez. Pueden conservarse durante mucho tiempo una vez que están suficientemente desecados.

XIII.— QUESO

En la constitución de los quesos, las bacterias y a veces los hongos, tienen un papel primordial. El sabor y el perfume, lo mismo que la constitución del queso dependen de la evolución de los microorganismos. En todos los quesos al principio, al menos, se encuentran las bacterias lácticas aportadas por la leche misma; en los primeros días se multiplican rápidamente pero luego van desapareciendo poco a poco; así por ejemplo: el queso acabado de ser separado del suero, contiene 6 000 000 de bacterias lácticas por gramo; al cabo de 4 días, 51 000 000 por gramo, pero, al cabo de 4 meses no se encuentra sino 1 000 000.

Las bacterias producen, además, en el queso, diastasas que digieren, más o menos, la caseína.

Entre nosotros la industria de los quesos está en un estado rudimentario y hace pocos años, apenas, que aún empleaban para cortar la leche, pedazos de cuajar sucios, llenos de estiércol, hediondos y casi completamente putrefactos. Felizmente el empleo

de las pastillas de cuajo del comercio han venido a sustituir esta práctica nauseabunda. Desgraciadamente, aún en los tiempos que corremos todavía, en nuestra frontera del norte tienen la asquerosa costumbre de envolver los quesos en estiércol.

En cambio, hemos visto aquí felices éxitos en la preparación del queso *Camembert* que ha sido expendido en San José. El camembert es un queso que se consume en estado de madurez, es decir cuando está "derritiéndose". Su preparación es dificultosa y todo un proceso biológico se efectúa en él hasta el momento del consumo.

La leche cuajada a baja temperatura se coloca en pequeños moldes de unos 10 cm de diámetro por 2 de alto; el suero debe salir por el propio peso de la cuajada, la cual no debe prensarse; todo lo más que puede hacerse es apretarla suavemente, de cuando en cuando, para ayudar a la separación del suero. Debe dejarse así unas 5 a 8 semanas, según la temperatura de los cuartos. Las primeras bacterias que actúan son las lácticas, pero si su desarrollo toma gran incremento, el queso se pierde. Luego aparece, en la superficie un hongo denominado *Penicillium camembertii*. Este hongo es blanco, al principio, pero una vez que comienza a esporular (Figura N° 10) toma un color gris de acero a diferencia de los *Penicillium* de las contaminaciones corrientes cuyo color es verde más o menos azulado. El hongo del camembert es muy abundante en ciertos lugares de Europa donde aparece espontáneamente sobre los quesos; aquí hay que traerlo en cultivos y sembrar con ellos los quesos.

Al cabo de unos 15 días el hongo ha concluido su desarrollo *sin penetrar en el interior del queso*; entonces se deseca y forma una costra en forma de delgada película. El hongo produce en el queso los dos efectos siguientes:

1° Alcaliniza ligeramente la superficie;

2° Produce una diastasa que ataca la caseína sólida de la superficie hacia el centro dándole una consistencia semi-fluida, parecida a la de la leche condensada, y el olor característico de este queso. Notemos que este olor es debido a los últimos cuerpos que resultan de la digestión

de la caseína y que quizá nuevas bacterias toman parte en la producción del olor del camembert.

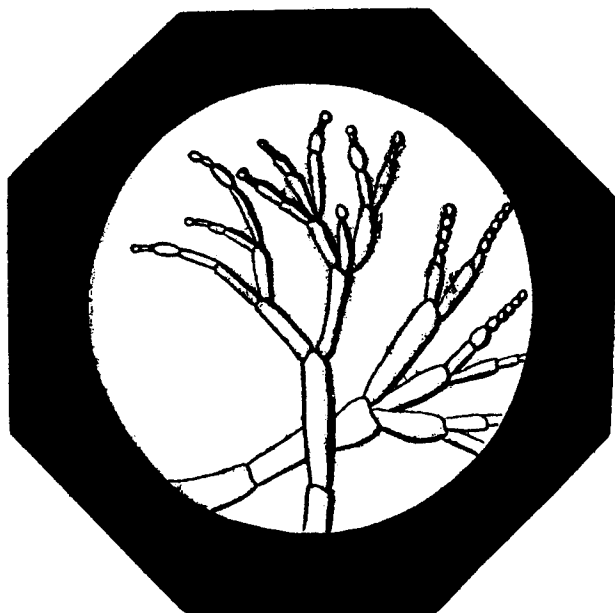


FIGURA N° 10.—Hongos del queso Camembert.

Al terminar doy las gracias al señor Director del Colegio de Señoritas don J. Fidel Tristán que patrocinó esta publicación y al señor Ministro de Instrucción Pública don Miguel Obregón que ordenó su impresión por cuenta del Estado. Doy también las gracias al señor Fuentes, preparador del Liceo, quien hizo los dibujos para este trabajo.

Picado Twilight, Clodomiro. *Les bacteries des latex*. Nota presentada por E. L. Bouvier. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 84 : 552, 1921.

LAS BACTERIAS DE LOS LATEX

Investigando en Costa Rica sobre flagelados en algunas euforbiáceas, observé en el látex del *Pedilanthus tithimaloides* Poit., numerosas bacterias. Me pregunté entonces si no se trataba de un caso patológico, sin embargo hallé el mismo corpúsculo en todos los demás ejemplares de la misma planta que examiné e incluso también en las *Jatropha*, las *Manihot*, las *Ficus*, y las *Carica*. Esta observación nos lleva a hacernos varias preguntas: especialmente, la de si estos microbios no juegan un importante papel en la producción de la diastasa de los látex. Por otro lado, habría que investigar si sería posible modificar un caucho inoculando bacterias apropiadas.

(Hospital San Juan de Dios, Costa Rica)

ANTICUERPOS EXPERIMENTALES EN LOS VEGETALES

¿Pueden los vegetales producir anticuerpos luego de inoculaciones de antígenos apropiados?

Según Noël Bernard¹ las orquídeas producirían en sus bulbos anticuerpos para los hongos endófitos de la raíz; esos anticuerpos contribuirían a aislar el hongo en las raíces y le impedirían invadir el resto de la planta; esto, por supuesto, únicamente como coadyuvante de la función fagocitaria de ciertas células de las raíces. Para apoyar esta interpretación, Noël Bernard cita el siguiente experimento: si se introduce, en el agar de cultivo, pequeños pedazos del bulbo de la orquídea, y si se siembra entonces el hongo endófito en esos tubos, se observa el micelio detenerse antes de llegar a los pedazos de bulbo, como si estos segregaran, en aureola, sustancias antagonistas, que se podrían comparar con los anticuerpos de los animales.

Pero jamás se ha logrado producir anticuerpos experimentales en los vegetales, y no sé si alguna vez se ha intentado.

Con el fin de establecer si hay producción de anticuerpos en los vegetales, instituí una serie de experimentos cuyos resultados expongo a continuación.

Como sujeto de experimentación escogí una cactácea del género *Opuntia*; las ramas, en forma de raqueta, medían de 20 a 30 centímetros de largo, de 10 a 15 centímetros de ancho y de 1 a 3 centímetros de espesor. Uno de esos cladodios puede vivir largo tiempo, y hasta brotar en cualquier lugar. Su consistencia grasa se presta perfectamente a la inyección con ayuda de una jeringa ordinaria (Figura Nº 1).



FIGURA N° 1.—Penca de *Opuntia* inyectada con 10 centímetros cúbicos de líquido. La línea marca la zona interesada por la inyección. Abajo, regla de 30 centímetros.

Además, es muy fácil extraer por presión cantidad suficiente (algunos centímetros cúbicos) de líquido.

Siendo un hecho que la hemólisis es uno de los fenómenos más fáciles de seguir, inyectamos glóbulos de conejo lavados en agua glucosada al 3,5 por ciento (pues el NaCl sería tóxico para la planta). Al cabo de ocho horas obtuvimos, por presión, el líquido de las zonas sanas que limitaban con las partes inyectadas. No obtuvimos nada. En otro experimento, inyectamos durante cinco semanas (una inyección por semana) otra penca de *Opuntia*: el mismo resultado negativo.

Nos propusimos entonces ver si empleando como antígeno células vegetales se podría obtener un resultado positivo. El primer experimento fue hecho inoculando levadura, pero los resultados fueron aún negativos; la levadura continuó viviendo en el interior de los tejidos de *Opuntia*. Si se mezclaba *in vitro* el jugo de *Opuntia* inyectada con una emulsión de levadura, ésta no cambiaba en nada, se comportaba como una emulsión testigo tratada por el jugo de *Opuntia* nueva. Si se cultivan estas leva-

duras (después de un contacto de veinticuatro horas con el jugo de la planta), en agar glucosado, el desarrollo se logra normalmente.

Había que encontrar entonces células vegetativas vivientes pero que no se reprodujesen. Fue entonces que pensamos en el polen. Como era época de floración del maíz y como esta especie se presta para una recolecta abundante y fácil de polen, la escogimos para el experimento.

Hicimos una suspensión, en agua estéril, con granos de polen de maíz (al contacto con el agua se revientan); con esta emulsión se inyectó todo el contorno de una penca de *Opuntia*. Ocho días después, los tejidos inyectados se volvieron amarillos y se desmenuzaban fácilmente. Se extrajo el jugo presionando los pedazos entre los dedos o metiendo los pedazos en un lino y presionando enseguida; se filtró sobre algodón y se centrifugó. Se preparó de la misma manera, y para servir como testigo, jugo de *Opuntia* nueva. Por otra parte, preparamos una emulsión de polen de maíz en agua glucosada al 10 por ciento. Esta concentración es tres veces más fuerte que la soportada por los granos de polen. En dos recipientes de cristalización se pone la emulsión de polen de maíz (1 centímetro cúbico de polen en 20 centímetros cúbicos de agua glucosada al 10 por ciento) a razón de 5 gotas de emulsión por cada recipiente de cristalización. En el primero, se agregan 5 gotas de jugo de *Opuntia* inyectada; en el otro jugo de *Opuntia* nueva; se agita y al término de algún tiempo, una o dos horas generalmente, se observa lo que se muestra como Figura N° 2: el polen tratado por el jugo de la planta inyectada es lisado y aglutinado a la vez. El aspecto macroscópico recuerda mucho una reacción de Widal extremadamente positiva.

Si se pone entre lámina y laminilla una gota de las mezclas de cada recipiente de cristalización, se puede presenciar la lisis de los granos de polen. En un caso observamos una lisis de 12 por ciento para el polen tratado por el jugo de la planta inoculada, mientras que en el polen tratado por el jugo de la planta nueva había apenas un 1 por ciento de granos que reventaban.

Para tener una primera idea de la fuerza lítica y aglutinante, preparamos una penca de *Opuntia* con polen de maíz. Esta

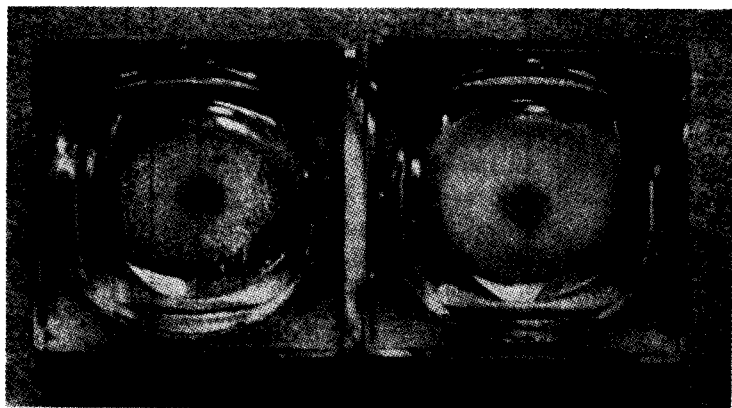


FIGURA N° 2.—Acción del jugo "*Opuntia anti-maíz*" sobre el polen de maíz. A la derecha, testigo tratado por jugo nuevo.

vez hicimos la suspensión, no en agua pura, sino en agua glucosada al 10 por ciento y previamente esterilizada. Esto con el fin de evitar la posible lisis del polen, resultante de dilución muy grande del jugo de la planta inoculada. Una semana después, se ponen en varios recipientes de cristalización 8 gotas de una suspensión de polen en la misma agua glucosada al 10 por ciento. En el primero, se agregan 8 gotas de zumo de la planta tratada, en el otro 4 gotas, y en el tercero, solamente 2 gotas. Se establece un testigo con 8 gotas de planta nueva. Al término de una hora y media tenemos una lisis y aglutinación muy marcada con 8 gotas. Se le ve muy bien con 4, pero con 2 es apenas perceptible. En el recipiente testigo, el polen queda intacto.

Para saber si un traumatismo cualquiera sería capaz de desarrollar esta propiedad lítica y aglutinante frente al polen de maíz, inoculamos varias pencas de *Opuntia* con diversos productos: levaduras, microbios, sueros, etc. Los jugos de las plantas así tratadas no muestran acción sobre el polen de maíz².

En otro experimento estudiamos la especificidad de esas aglutininas y citolisinas que denominaremos *polenolisinas*. El jugo de planta inoculada con el polen de maíz es puesto en contacto con los pólenes de otras especies. Constatamos entonces

que mientras que el jugo es inactivo frente al polen de especies alejadas, como el lirio, por ejemplo, sí aglutina fuertemente y lisa el polen de otras gramíneas; la Figura N° 3 nos muestra arriba la citólisis y la aglutinación del polen de maíz (a la derecha, el testigo); en el medio, polen de *Coix lacrymajobi*, y abajo polen

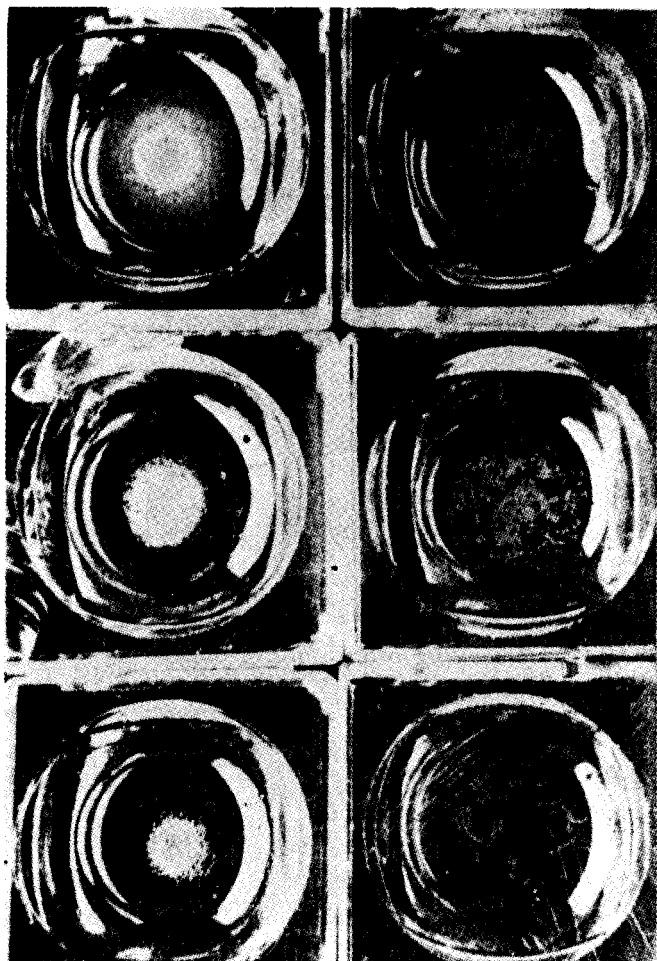


FIGURA N° 3.—Acción del jugo "*Opuntia anti-maíz*" sobre diversos pólenes: arriba, maíz; al centro, *Coix*; abajo, sorgo. A la derecha, testigos tratados por jugo nuevo.

de una especie de sorgo (los granos de polen de esas últimas dos especies son mucho más pequeños; los granos de polen de maíz miden 1/10 de milímetro de diámetro, mientras que esas otras especies llegan apenas a la mitad).

Si se examinan en el microscopio esos diversos recipientes de cristalización, se observa que los fenómenos no son absolutamente superponibles. Mientras que con el polen de maíz se da a la vez lisis y aglutinación bien marcadas, con el de *Coix*, de granos mucho más pequeños, hay una fuerte aglutinación y una lisis apenas marcada; con el polen de sorgo, de granos un poco más pequeños, se ve solamente aglutinación, con una lisis nula.

Estos hechos deben ser retenidos, pues nos servirán, no solamente para seguir la especificidad de estos anticuerpos, sino también para explicar otros fenómenos.

Por el momento retendremos que la citólisis es más específica que la aglutinación.

Este experimento fue realizado con jugo de planta inyectada seis días antes, y en una hora.

Las polenolisinas pueden ser descubiertas el cuarto día después de la inoculación. Si se calienta el jugo polenolítico, una media hora a 56°C, se ve que las polenolisinas han desaparecido. Para darnos cuenta de la termolabilidad de esos anticuerpos y al mismo tiempo para saber si había una alexina, instituimos el siguiente experimento:

Recipiente de cristalización N°

1. Recibe 5 gotas de una emulsión de polen lavado en agua glucosada al 10 por ciento y 10 gotas de jugo de *Opuntia* inyectada, pero calentado treinta minutos a 56°C.
2. Recibe la misma cantidad de emulsión de polen, 5 gotas de jugo inactivado a 56°C y 5 gotas de jugo de *Opuntia* nueva.
3. Como el N° 1, pero el calentamiento a 56°C es solamente por 15 minutos.
4. Como el N° 2, pero la inactivación es solamente de 15 minutos.
5. Como el N° 1 pero la inactivación es de 30 minutos a 45°C.

6. Como el N° 2, pero inactivado treinta minutos a 45°C.
7. Como el N° 1, pero la inactivación es de 15 minutos a 45°C.
8. Como el N° 2, pero la inactivación es de 15 minutos a 45°C.
9. Recibe también las mismas 5 gotas de emulsión de polen, pero 10 gotas de jugo de *Opuntia* inyectada sin ser previamente inactivada.
10. Como el N° 9, pero con 10 gotas de jugo de planta nueva.

Al término de cuarenta y cinco minutos, el recipiente de cristalización N° 9 presenta ya lisis y aglutinación. No se produce nada en los otros. Al término de dos horas no se percibe aún ninguna modificación.

Se deja en reposo hasta el día siguiente, al término de 18 horas se observan los siguientes resultados:

Los recipientes de cristalización que recibieron jugo que había sido inactivado durante media hora a 56°C (N° 1 y 2) no muestran ninguna modificación, aunque ese jugo esté en presencia de jugo de planta nueva.

El jugo inactivado quince minutos a 56°C no produce polenolisis (N° 3), pero ese mismo jugo, en presencia de jugo de planta nueva (N° 4), comienza a producir la lisis, la cual es apenas perceptible a simple vista, pero en el microscopio se distinguen muy bien la lisis y la aglutinación.

El recipiente (N° 6) que recibió la mezcla de partes iguales de jugo inactivado una media hora a 45° y de jugo nuevo, se comporta como la mezcla de partes iguales de jugo inactivado quince minutos a 56° y de jugo nuevo (N° 4).

El calentamiento a 45° durante quince minutos, no hace sino retardar el efecto de las polenolisinas sin destruirlas, ya que al término de 18 horas estas manifiestan su actividad (recipientes 7 y 8).

El Cuadro N° 1 resume este experimento.

Al examinar dicho cuadro se puede suponer que existe una aglutinina termolábil, pero que puede reaparecer en presencia del jugo de *Opuntia* nueva, la que cumpliría aquí el papel de una alexina. Lo que pasa en realidad es que los granos de polen de maíz son muy grandes para ser aglutinados sin estar previamente lisados. Recordemos que los pequeños granos de polen de *Coix* y de sorgo pueden ser aglutinados sin estar lisados. Para el

CUADRO Nº 1.—Influencia sobre el polen del maíz del jugo de *Opuntia* inoculada y de *Opuntia* nueva.

Recipiente de cristali- zación Nº	Polen a 5 % (gotas)	Jugo preparado activo	Jugo nuevo (gotas)	Jugo inactivado a	Lisis al cabo de 2 horas	Agglutinación al cabo de 2 horas	Lisis al cabo de 18 horas	Agglutinación al cabo de 18 horas
1	5	0	0	56°-30 min. 10 gotas	—	—	—	—
2	5	0	5	56°-30 min. 5 gotas	—	—	—	—
3	5	0	0	56°-15 min. 10 gotas	—	—	—	—
4	5	0	5	56°-15 min. 5 gotas	—	—	Comienza	Nítida al microscopio
5	5	0	0	45°-30 min. 10 gotas	—	—	—	—
6	5	0	5	45°-30 min. 5 gotas	—	—	Comienza	Nítida al microscopio
7	5	0	0	45°-15 min. 10 gotas	—	—	Presente	Presente
8	5	0	5	45°-15 min. 5 gotas	—	—	Presente	Presente
9	5	10	0	45°-15 min. 5 gotas	Muy nítida	Muy nítida	Muy nítida	Muy nítida
10	5	10	10	45°-15 min. 5 gotas	—	—	—	—

caso del polen de maíz, son los leucitos, puestos en libertad después de la lisis, los que son aglutinados.

Inoculamos varias veces polen de lirio a las pencas de *Opuntia*. Generalmente se obtiene el reblandecimiento de los tejidos, que pronto son invadidos por microbios. El polen de lirio no se presta entonces para estos experimentos, ya que es muy tóxico para la *Opuntia*. En raras ocasiones obtuvimos al cabo de cuatro días un jugo que lisaba el polen de lirio, y que permanecía inactivo frente al polen de otras liláceas, *Agapanthus*, y otras especies silvestres no determinadas. Este jugo inclusive es inactivo para el polen de *Polianthes tuberosa* (amarilídea), pero, cosa curiosa, activo frente al polen de *Gladiolus* (irídea). No existe, entonces, en el caso de inoculación de polen de lirio, producción de polenolisinas específicas para la familia, como parece ser el caso para los anticuerpos producidos luego de la inoculación de polen de maíz.

CONCLUSIONES

De los hechos que acabamos de relatar podemos sacar las siguientes conclusiones:

1. Por inoculación de antígenos apropiados, se puede provocar, en los vegetales, la producción de anticuerpos.
2. La inoculación de polen puede provocar, a la vez, formación de citolisinas y de aglutininas;
3. Las propiedades citolíticas se pierden por calentamiento de una media hora a 45°, pero reaparecen por adición de jugo de la planta nueva que juega el papel de una alexina;
4. Las citolisinas y las aglutininas no son específicas, son "de grupo";
5. Las polenolisinas experimentales parecen gozar de una especificidad relativa más marcada que la de las poleno-aglutininas.

(Trabajo del laboratorio del hospital San José, Costa Rica)

NOTAS

1. Bernard, Noël. *Sur la fonction fungicide des bulbes d'Orchydées*. Ann. Sc. nat. Bot., 9^a série, 14, 1911, p. 223.
2. Hay que anotar que el jugo nuevo aglutina varias especies bacterianas.

Picado Twhight, Clodomiro y Vicente, Elías. **Nuestro mineral de manganeso como abono catalítico; investigaciones practicadas en el Liceo de Costa Rica.** San José : Imprenta Alsina, 1922 (Liceo de Costa Rica, Publicaciones Nº 8).

NUESTRO MINERAL DE MANGANESO COMO ABONO CATALITICO

Investigaciones practicadas en el
Liceo de Costa Rica*

Clodomiro Picado T.
Elías Vicente

*"Aumentando la producción de
la tierra se contribuye a liberar
la inteligencia."*

Gabriel Bertrand.

I. INTRODUCCION

La evolución de nuestros conocimientos, en cuanto se refiere a la nutrición mineral de las plantas, puede dividirse en un cierto número de «épocas» que son las que marcan la orientación de los estudios agrícolas sobre los abonos.

La primera época, que podría denominarse «*época del humus*», se caracteriza por la creencia de que los únicos elementos fertilizantes de la tierra provienen de la *sustancia orgánica*, de los detritus que forman el humus; éste, arrastrado por el agua de las lluvias era luego absorbido por las raíces; las plantas, no diferían, pues, de los animales en su manera de nutrirse: su alimento era alimento orgánico. Bien se sabía que las plantas contienen sustancias minerales, pero estas sustancias no se consideraban como parte integrante de la sustancia vegetal sino como «simples impurezas».

* En octubre de 1923 se publicó, en los Annales de l' Institut Pasteur el artículo "Recherches sur le ferro-manganèse naturel comme engrais catalytique" que no reproducimos por tener un contenido muy similar a éste.

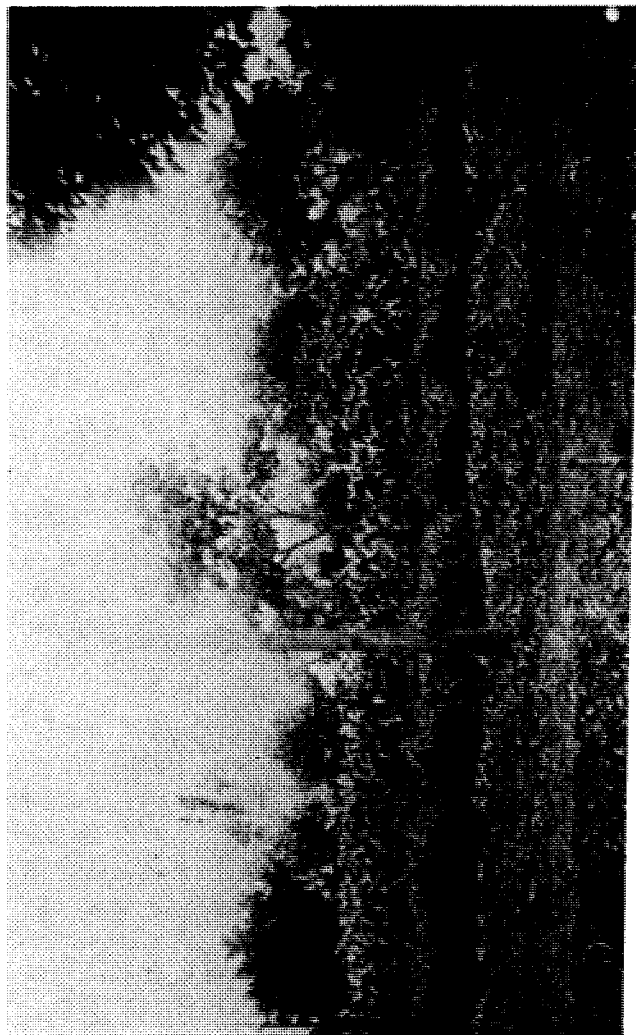


FIGURA Nº 1.— *Vista general del campo de experiencia.*
A la izquierda, dosis favorables de manganeso.
A la derecha, dosis nocivas. El hombre está indicando los testigos.

No sabemos cuándo comienza esta época, pero es muy probable que naciera a las márgenes del Nilo abonadas por su cieno; lo cierto es que el año 1840 es el último de su vida y que el químico alemán Liebig le da el golpe de gracia.

El segundo peldaño de esta escala es la «*época mineral*», la cual significa una verdadera revolución en las prácticas agrícolas, pues pone en evidencia la utilidad de los abonos minerales de empleo tan corriente hoy en día, pero de utilidad no sospechada antes de que Liebig hubiera llevado a cabo sus célebres experiencias que él mismo resume como sigue:

«Los alimentos de todas las plantas son sustancias inorgánicas y minerales. La planta vive de ácido carbónico, de amoníaco, de agua, de ácido fosfórico, de sílice, de cal, de magnesio, de potasa y de hierro; algunas reclaman sal marina.

Entre todos los elementos de la tierra, del agua y del aire que toman parte en la vida de la planta, existe una solidaridad tal, que si, en toda la cadena de causas que determinan la transformación de la materia inorgánica en sustancia capaz de una actividad orgánica, viniera a faltar un solo eslabón, la planta y el animal no podrían existir».

La era iniciada por Liebig es fecunda en adquisiciones de fisiología vegetal, de las cuales la agricultura saca inmenso provecho, que puede sintetizarse en esta verdad adquirida: es necesario restituir a la tierra los elementos minerales que se llevan las cosechas.

La «*época tercera*» se inicia claramente con los célebres trabajos de Raulin, en 1870, que muestran que cantidades infinitesimales de zinc aumentan, de manera inesperada, la cosecha del *Aspergillus*, hongo estudiado por él. Esta época no adquiere su esplendor sino a partir de 1900 en que Bertrand pone en relieve el valor de los «*elementos químicos infinitamente pequeños*» en la vida de las plantas; así se inicia el estudio de los micro-abonos conocidos hoy en día por **abonos catalíticos**.

No titubeamos en considerar como una de estas épocas la que llamaríamos «*época del agua*»; se caracteriza por el

descubrimiento de Mazé en 1912 de que el agua no es sólo un vehículo de sustancias químicas, sino un alimento mineral en sí misma.

En los días que corren se estudian no solamente los abonos catalíticos, sino también los estimulantes de otro orden, tales los radioactivos. La tierra, por otra parte, es considerada como una pululación de gérmenes vivientes del reino vegetal y del reino animal en que hay seres útiles al agricultor —infinidad de bacterias, cuya multiplicación significa beneficio— y seres nocivos —protozoarios, quizás también ultramicrobios—, que debemos tratar de destruir.

II. ORIGEN DE LOS ABONOS CATALITICOS

La historia de los abonos catalíticos está íntimamente ligada a la historia de una diastasa oxidante: la lacasa.

La laca, usada en Extremo Oriente como barniz, proviene del látex de varias plantas; este látex, blancuzco al salir de la planta, se colora al contacto del aire hasta adquirir un bello negro de ébano; esta coloración se debe a la oxidación del látex llevada a cabo por la lacasa, estudiada por Gabriel Bertrand; él demuestra que esta diastasa, que sirve de intermediario entre el oxígeno del aire y las sustancias contenidas en las células vegetales, está repartida en todo el reino vegetal en el cual preside las oxidaciones. Bertrand encuentra que la lacasa es un compuesto del manganeso; si se suprime este metal, las oxidaciones no se llevan a cabo. En las reacciones de oxidación en que interviene el manganeso en forma de lacasa el metal no se gasta; interviene formando combinaciones inestables que ceden oxígeno a los tejidos de la planta para volver instantáneamente a su constitución química primitiva, es decir, que actúa como catalítico. Bertrand establece el raciocinio siguiente:

«Por una parte los vegetales no pueden pasar sin oxígeno para llevar a cabo ciertas transformaciones químicas, utilizan la lacasa como intermediaria en estas transformaciones; por otra parte la lacasa es una combinación de manganeso. Los vegetales tienen, pues, necesidad de manganeso».

Esta proposición formulada en 1903 por Bertrand, ha sido confirmada plenamente por el mismo Bertrand, que encuentra el año pasado, gracias a las nuevas técnicas de la química analítica, la presencia del manganeso en todas las plantas sin excepción.

Si en las investigaciones anteriores se había creído cultivar plantas en ausencia de manganeso, el hecho se debe a que los cuerpos empleados no eran como se decía enfáticamente «químicamente puros», sino que llevan muchas impurezas, entre ellas, compuestos del manganeso. En los catálogos de las casas fabricantes de productos químicos el «químicamente puro» ha sido puesto fuera de uso.

Es justamente en este año 1922 que J. S. Mc Hargue, de la estación experimental agrícola de Kentucky, prueba que en ausencia de manganeso las plantas no viven más allá de seis semanas. A los diez elementos químicos, conocidos como indispensables para la vida de las plantas, hay, pues, que añadir el manganeso.

Solamente las cantidades de manganeso requeridas por los vegetales son en extremo pequeñas. Nos parece éste el lugar más propicio para indicar que nuestras experiencias parecen demostrar que el arsénico debe figurar al lado del manganeso como cuerpo necesario a las plantas aunque en estado de trazas.

Javiller, colaborador de Bertrand estudia la influencia del zinc y prueba que pequeñísimas cantidades aumentan la cosecha de los hongos del género *Aspergillus* y que el zinc no actúa de manera indirecta sirviendo como antiséptico, sino directa, tomando parte en su constitución y que así actúa también con las plantas superiores.

Agulhon estudia la influencia al estado de trazas de un metaloide: el boro, que él encuentra y dosa en las diversas plantas que examina.

Estos estudios muestran que si bien es cierto que los diez elementos considerados como indispensables dan un total de 99,9, en lo que falta para 100 hay elementos al estado de trazas, pero cuyo papel en la vida de las plantas puede ser tan indispensable como el del carbón o el nitrógeno. Así fue como se inició el estudio de los abonos catalíticos.

III. EXPERIENCIAS AGRICOLAS

La experimentación de laboratorio es pronto continuada por la experimentación agrícola. Bertrand y Thomassin establecen una experiencia con avena: cada parcela mide 2000 metros cuadrados, ambas reciben igual cantidad de abono, pero una de ellas recibe además, una cantidad de sulfato de manganeso equivalente a 50 kilos por hectárea. La avena cultivada en presencia del manganeso, da una cosecha que aventaja en 22,5 por ciento a la cultivada sin manganeso.

Los primeros ensayos en gran escala fueron llevados a cabo por Loew y Nagaoka, del colegio imperial agrícola de Tokio. En nuestro **Boletín de Fomento** (Año I – N° 9 – 1911 – páginas 656-658) hay publicado un relato de los resultados obtenidos en Japón y el lector podrá allí encontrar detalles. En todo caso, encontraron aumentos muy notables de cosecha en las tierras que recibieron las sales de manganeso. Así por ejemplo el arroz dio con la cantidad de 50 kilos de sulfato de manganeso por hectárea, un aumento de 37 por ciento sobre el testigo. El té, el tabaco y el lino abonados con sales de manganeso —sulfato y cloruro— dieron siempre un aumento de cosecha.

Van Steyn y Burgers en Holanda, Saulnier en Italia, Molinari en Bélgica, Stoklasa en Bohemia, Boullanger en Francia, confirmaron los hechos.

Cuando se añade manganeso a la tierra, no siempre se obtiene igual aumento: si la tierra es pobre, el aumento es escaso; pero si la tierra es rica, el aumento es muy notable. Esto nos hará comprender perfectamente que no basta añadir solamente manganeso para obtener aumento de cosecha, que el manganeso es a los abonos, lo que la sal a nuestra comida; en tierras fértiles dará resultado, en tierras muy pobres los resultados serán nulos. Esto mismo podemos decir con respecto al aluminio, el zinc, el litio, el flúor y el boro, que han sido empleados con éxito en calidad de abonos complementarios o abonos catalíticos.

No todos los cultivos, como era de esperarse, se benefician igualmente con el empleo de un abono catalítico dado. Cada especie de planta necesita determinado mineral. A veces

sucede que cierto compuesto, excelente para una especie, es indiferente o nocivo para otra especie. En todo caso es necesario saber que hay que ser prudentes con el empleo de los abonos catalíticos y que si se sobrepasa cierto límite, todos son nocivos. Es bueno también recordar que el efecto de estos abonos se hace a veces sentir no solamente el año en que se puso, sino también el año siguiente. Esto nos enseña que no debemos emplear año tras año igual cantidad de estos minerales pues corremos el riesgo de echar a perder el terreno.

Para terminar, retengamos el hecho de que hay abonos catalíticos que se ayudan unos a otros, así por ejemplo, el zinc y el manganeso juntos, actúan mejor que cada uno por separado. Otros de estos cuerpos se neutralizan unos a otros y no pueden, por consecuencia, emplearse juntos.

IV. NUESTRO MINERAL DE MANGANESO COMO ABONO CATALITICO

En todas las experiencias anteriores los resultados benéficos fueron siempre obtenidos con sales solubles de manganeso; cuando se quiso emplear el bióxido o el sexquióxido de manganeso, se formó sobre la tierra «una capa dura, poco permeable y los resultados fueron negativos». Parecía pues, vano todo intento de empleo de estos minerales como abono catalítico. A pesar de que *a priori* debíamos obtener resultados negativos, quisimos ensayar nuestro mineral natural de manganeso por dos motivos:

1. Es sabido que son preferibles los abonos insolubles siempre que la planta pueda irlos solubilizando a medida de sus necesidades, así se evita el lavado por las lluvias y a la vez la acción nefasta de las soluciones hipertónicas o tóxicas por muy concentradas.
2. Nuestros yacimientos de manganeso podrían suministrar cantidades inagotables, por así decir, de abono catalítico.

La técnica empleada consistió simplemente en pulverizar lo más finamente posible el mineral natural y luego incorporarlo a la tierra lo más homogéneamente posible.



*FIGURA N° 2.—Rábanos.
Los números de la parte superior indican el peso en gramos.*

El mineral empleado fue bondadosamente analizado por el doctor don Gustavo Michaud, a quien damos por ello cordiales agradecimientos. El examen dio el resultado siguiente:

Agua	1,51 %
Sílice. Silicatos de aluminio, calcio, magnesio, potasio y hierro	15,86 %
Manganeso dosificado directamente por el permanganato	38,47 %
Manganeso dosificado indirectamente por clorometría	37,08 %
Hierro total	11,10 %
Fósforo	0,01 %
Azufre	Trazas.

Nuestro campo de experiencia fue dividido en 10 parcelas para cada uno de los cultivos siguientes: zanahorias, rábanos, avena, frijoles, papas y maíz. La primera parcela recibe una cantidad de mineral que corresponde a dos kilos por hectárea, la segunda 4 kilos, la tercera 8 y así sucesivamente en progresión geométrica hasta llegar a 512 kilos por hectárea. La parcela N° 7 no recibe nada de manganeso y queda como testigo. La siembra se efectuó a fines de mayo y la cosecha se obtuvo a fines de agosto y principios de setiembre. Los cuadros siguientes expresan los resultados:

1°-ZANAHORIAS

Parcela N°	Cantidad de mineral (kilos/hectárea)	Peso en gramos por 100 plantas
1	2	5263
2	4	6666
3	8	4230
4	16	5263
5	32	5937
6	64	4477
7	Testigo	5763
8	128	5162
9	256	6166
10	512	4000

La era N° 2 da 15% sobre el testigo, mientras que en la era N° 10 se nota ya la influencia nociva del exceso de manganeso.

2°-RABANOS

Parcela Nº	Cantidad de mineral (kilos/hectárea)	Peso en gramos del mayor ejemplar	Peso en gramos por 100 plantas
1	2	105	2894
2	4	149	2703
3	8	136	3457
4	16	107	2125
5	32	138	1870
6	64	139	2033
7	Testigo	97	3538
8	128	160	2663
9	256	163	3567
10	512	75	3279

En los rábanos, lo mismo que en otras experiencias llevadas a cabo con mostazas, no es visible ninguna influencia auxiliar por parte del manganeso. Pareciera sí que favorece el mayor desarrollo de algunos ejemplares (véase fotografía). Notemos además, que la parcela Nº 9 dio a la vez el ejemplar de mayor peso y el mayor rendimiento en 100 plantas.

3°-AVENA

Parcela Nº	Cantidad de mineral (kilos/hectárea)	Peso en gramos de cada surco de 1 metro
1	2	1485
2	4	2135
3	8	2165
4	16	1819
5	32	1672
6	64	1982
7	Testigo	1287
8	128	1779
9	256	1673
10	512	1547

Esta experiencia es la más demostrativa de todas, pues vemos que el peso de la cosecha de todas las parcelas que

recibieron manganeso, es mayor que la del testigo. La parcela N° 3 da un aumento de 68% sobre el testigo. La influencia benéfica del manganeso se notó desde un principio (Figura N° 3). Es de notarse que el aumento sobrepasa los rendimientos obtenidos en la avena con las sales solubles de manganeso.

4°-FRIJOLES

Parcela N°	Cantidad de mineral (kilos/hectárea)	Peso total de las plantas por hectárea en kilos	Peso del grano por hectárea/kilos
1	2	3500	1045
2	4	3775	1085
3	8	3970	1217
4	16	3375	1050
5	32	3905	1276
6	64	3500	1095
7	Testigo	3750	1120
8	128	2910	1027
9	256	2850	980
10	512	3250	800

La parcela N° 5 dio un rendimiento en grano de 13,92% sobre el testigo.

5°-PAPAS

Parcela N°	Cantidad de mineral (kilos/hectárea)	Peso de la cosecha en kilos/hectárea
1	2	13 500
2	4	15 500
3	8	14 000
4	16	18 500
5	32	17 000
6	64	15 250
7	Testigo	13 500
8	128	11 625
9	256	11 000
10	512	14 500



FIGURA N° 3.—Avena de 5 semanas cultivada con mineral de manganeso (8 kilos por hectárea).

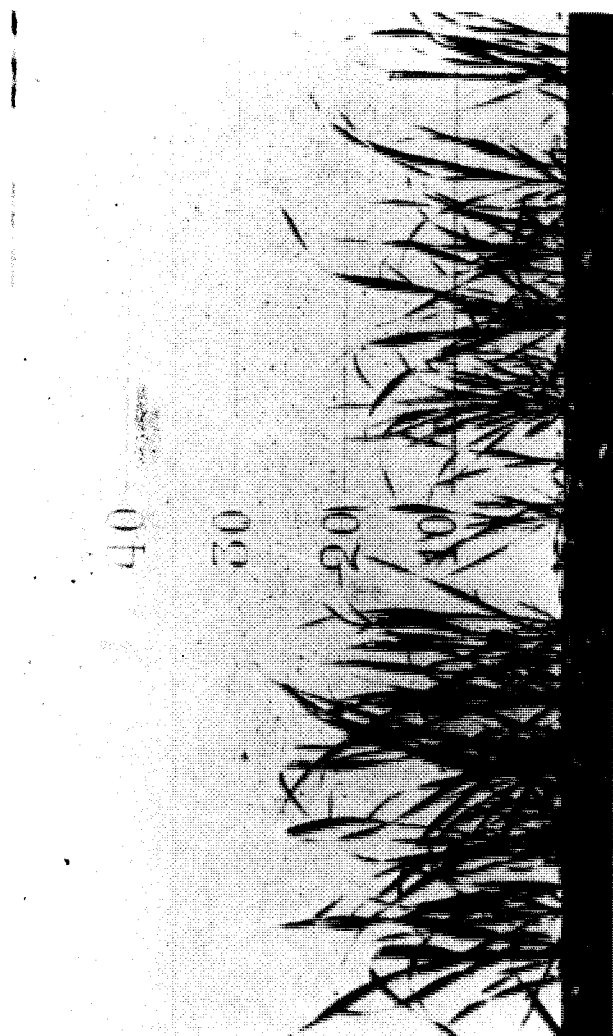


FIGURA N° 4.—Avena de 5 semanas sin manganeso.

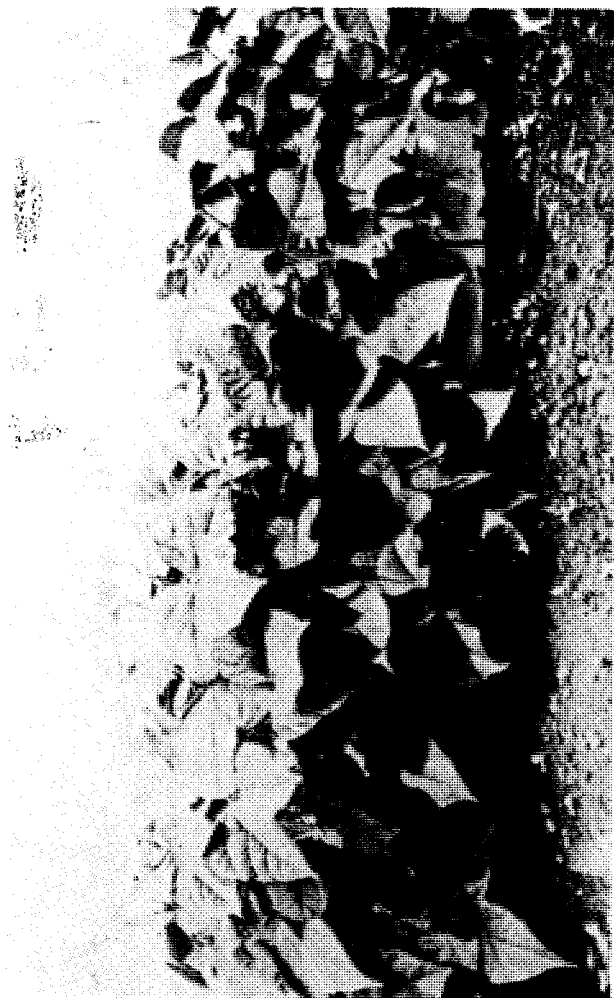


FIGURA N° 5.—Frijoles de 8 semanas cultivados con mineral de manganeso (32 kilos por hectárea). Aumento sobre el testigo.



FIGURA N° 6.-Frijoles de 8 semanas con exceso de mineral. Disminución con respecto al testigo.



FIGURA Nº 7.—Maíz de 8 semanas. Dosis de mineral favorables.



FIGURA N° 8. —Maíz de 8 semanas. Dosis de mineral perjudiciales.

La parcela N° 4 dio un rendimiento de 37% sobre el testigo. Las dosis comprendidas entre 4 a 64 kilos de mineral por hectárea, aumentaron la cosecha.

6°-MAIZ

Parcela N°	Cantidad de mineral (kilos/hectárea)	Peso en gramos de mazorcas por 100 plantas
1	2	16 363
2	4	15 909
3	8	13 333
4	16	13 750
5	32	15 000
6	64	10 454
7	Testigo	14 536
8	128	12 777
9	256	7 777
10	512	10 500

La parcela N° 1 da sobre el testigo un aumento de 12,56% en mazorcas sin tuza. El peso total de las plantas dio sobre el testigo un aumento de 31%. Es decir, que si bien es cierto que con el manganeso no se aumenta el número de mazorcas de cada planta, sí se aumenta su vigorosidad y peso.

7°-RENDIMIENTO COMPARADO

Cultivo	Cantidad óptima de mineral por hectárea	Aumento de producción sobre el testigo
Zanahoria	4 kilos	15% (Planta completa)
Rábanos	Inseguro	Inseguro
Avena	8 kilos	68% (Forraje)
Frijoles	32 kilos	13,92% (Grano)
Papas	64 kilos	37% (Tubérculos)
Maíz	2 kilos	12,56% (Mazorcas sin tuza)

Del examen de este cuadro se saca la conclusión de que nuestro mineral de manganeso es útil en pequeñas dosis a los cultivos antes mencionados. Experiencias en curso nos mostrarán si se obtiene igual ventaja en otros cultivos, tales como café y caña de azúcar, y también si este mineral puede tener empleo como abono en floricultura. Por premura de tiempo no nos fue dado esperar los resultados.

V. NUESTRO MINERAL DE MANGANESO Y LAS LEVADURAS

Con el fin de saber cómo se comportaba nuestro mineral con respecto a las levaduras, establecimos una serie de experiencias en que fueron empleadas diversas dosis del mineral: desde 1 por mil hasta 1 en 256 000. Las fermentaciones se llevaron a cabo en tubos especiales para el estudio de fermentaciones (véase Figura N^o 9) y el resultado muestra que las diluciones a 1 en 16 000 y 1 en 32 000 son las que activan de manera notable la fermentación. Las dosis fuertes, perjudican.

Además cultivamos levaduras en medios sólidos y en ellos notamos que cuando había manganeso en la proporción de 1 en 20 000 las colonias de levaduras son más compactas que en el testigo. Si se examinan al microscopio vemos que las levaduras cultivadas en presencia de mineral de manganeso son más redondeadas y regulares que las cultivadas en ausencia del mineral.

En la panificación el mineral ejerce también una influencia favorable.

El estudio de la fermentación en presencia de manganeso fue para nosotros muy instructivo. A las 24 horas, si la cantidad de manganeso es suficientemente elevada, se encuentran las paredes de los tubos de fermentación cubiertos por una tenue capa de óxido de manganeso como si hubiesen estado en presencia de permanganato de potasio. Para saber si se trataba de una descomposición por la simple presencia de sustancia orgánica pusimos varios tubos con mineral en presencia de sustancias orgánicas de origen animal o vegetal, examinados varios

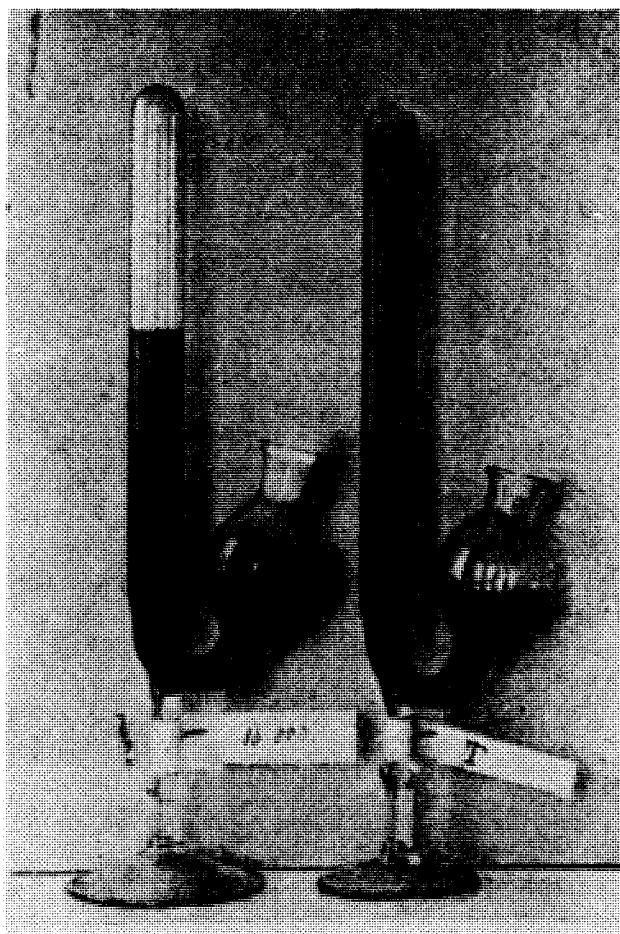


FIGURA N° 9.—Fermentación con 1/16 000 de mineral, a la izquierda. A la derecha, testigo. Con mineral produjo 15 veces más gas carbónico.

días después, no encontramos variación alguna. Si se pone el mineral en presencia de agua sobrecargada de anhídrido carbónico, no hay tampoco descomposición alguna. Lo más probable es, pues, que un ácido de la levadura forme con el manganeso compuestos inestables que vuelven nuevamente a dar bióxido que se deposita en las paredes. Por analogía, nos pare-

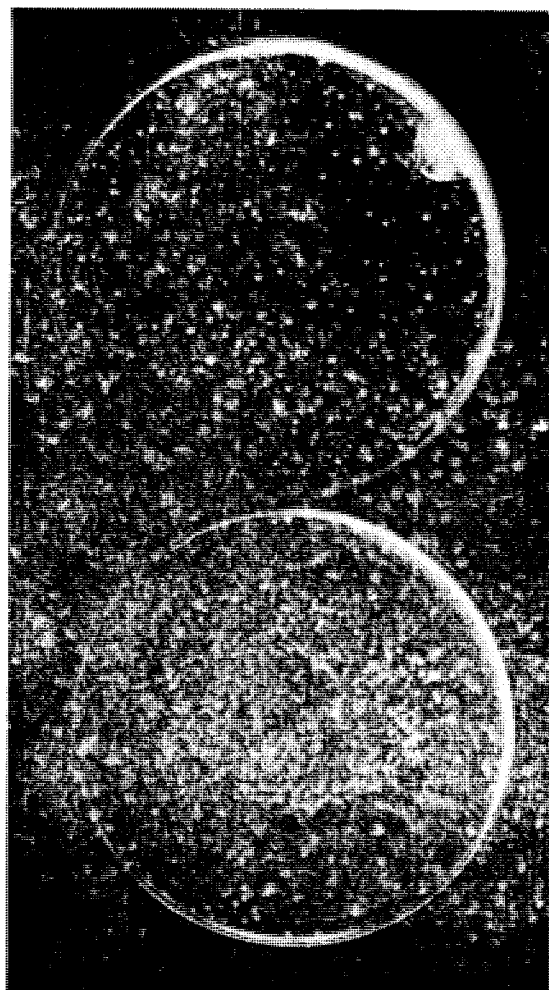


FIGURA Nº 10.—Cultivo de levaduras.

A la izquierda testigo. A la derecha con un 20 000 avo de mineral. Las colonias son más compactas; hay formación de gas (véase una gran burbuja a la derecha y abajo).

ce lógico suponer que transformaciones similares son las sufridas por el mineral en la tierra, al contacto de las sustancias ácidas secretadas por las raíces o los microbios de la tierra.

Otro hecho no menos importante, revelado por las fermentaciones es el siguiente: si tratamos el mineral por ácido sulfúrico y ácido nítrico, en caliente, filtramos y añadimos a una fermentación las sales formadas, no obtenemos activación, pero si añadimos las sustancias insolubles la fermentación sí se activa aunque en menor grado que usando el mineral natural insoluble.

Nuestro mineral natural de manganeso es pues un mineral paradójico: proviene de campos de una esterilidad completa y resulta en pequeñas cantidades un abono complementario excelente y su insolubilidad, que parecía pesar sobre él como un estigma e impedirle ocupar un puesto entre los abonos catalíticos, viene a resultar su cualidad principal pues si se solubiliza deja de servir. Añadamos que, a pesar de su insolubilidad y su dureza comparable casi a la del hierro, puede emplearse en cantidades que son muy inferiores a las que se hubieren requerido de una sal soluble de manganeso para obtener resultados comparables; hemos así visto que Bertrand obtiene en la avena un aumento de 22,5% empleando 50 kilos de sulfato de manganeso por hectárea, mientras que nosotros con 8 kilos de mineral insoluble, obtenemos 68% de aumento.

CONCLUSIONES

1. El estudio anterior tiene como novedad científica el hecho de probar que nuestro mineral natural de manganeso, perteneciente a una serie mineral considerada como perjudicial a la vegetación, resulta un excelente abono catalítico si se emplea en dosis de 2 a 64 kilos por hectárea y si está bien pulverizado y bien incorporado a la tierra.
2. Este descubrimiento significa para nuestros agricultores una oportunidad de aumentar el rendimiento de sus cosechas con un costo mínimo por tratarse de un mineral nacional baratísimo.

3. Nuestras minas de manganeso, actualmente abandonadas por no encontrar empleo para el mineral, hallarán un medio de dar empleo a estas riquezas naturales.

Para terminar, séanos dado expresar nuestros agradecimientos al señor Director del Liceo don J. Fidel Tristán, por el apoyo moral y material dado a estas investigaciones. Al doctor don Gustavo Michaud, por los análisis del mineral. A don Fernando Fuentes, por la ejecución de las fotografías que ilustran el trabajo. Al General don Juan Bautista Quirós, al Licenciado don Alberto Echandi y a Mr. Clausen, por habernos dado plantas y terreno en qué llevar a cabo experiencias en curso. Damos gracias también a don Próspero Calderón, que grabó con esmero los clichés de este folleto.

Acordémonos que para que este trabajo sea útil, hay que continuarlo. Nosotros le dimos principio.

¿Lo continuarán los agricultores?

San José, 15 de setiembre de 1922

Picado Twilight, Clodomiro. *Atrophie des fleurs consécutive à l'injection de pollen homologue*. Nota de C. Picado, presentada por M. Weinberg. *Extrait des Comptes Rendus des séances de la Société de Biologie*. Tomo 86, p. 904, mai 1922.

ATROFIA DE LAS FLORES CONSECUTIVA A LA INYECCION DE POLEN HOMOLOGO

En un trabajo anterior¹ mostramos que la inoculación de polen puede provocar, en los vegetales, productos de reacción comparables a los anticuerpos de los animales.

Con el fin de saber si se puede producir en los vegetales la castración biológica por inoculación de polen de la misma especie, inyectamos tallos floríferos de lirio con una emulsión de polen de esta especie. Las inyecciones han sido practicadas en el momento en que comenzaba a percibirse el botón floral terminal e inoculadas justo abajo de este botón. La cantidad de líquido inyectado fue solamente de unas gotas. Un lote de plantas recibió el polen de lirio y otro lote, debiendo servir como testigo, recibió polen de maíz.

Al cabo de una veintena de días, una vez las inflorescencias dilatadas, constatamos, en el lote que había recibido polen de la misma especie, cierto número de flores atrofiadas entre aquellas que se habían desarrollado normalmente; en ciertos casos la atrofia era completa. Había un verdadero aborto de la flor, y en otros casos una atrofia parcial.

Los testigos, habiendo recibido polen de maíz, no presentaban ninguna anomalía. Inútil es decir que entre las otras flores de lirio, muy numerosas, del mismo jardín no había casos de atrofia.

¿Se trata de fenómenos comparables a aquellos de castración biológica? O bien, ¿es necesario hacerlos entrar en un marco más amplio de la teratogénesis experimental?

No podemos interpretar estos fenómenos, pero el hecho de que las atrofias se hayan producido únicamente después de la

inoculación de polen homólogo y no después de la de polen de maíz, nos llevaría a creer que habría que considerarlas como una especie de castración biológica "activa" pero exagerada por su alcance sobre los órganos florales, con excepción de los estambres.

*Laboratorio del Hospital de San Juan de Dios,
San José, Costa Rica*

NOTA

1. **Ann Institut Pasteur.** Tomo 35, Nº 12, pp. 893-901. 1921.

Picado Twight, Clodomiro. *Germination brusque du pollen dans l'extrait d'ovule homologue*. Nota de C. Picado T., presentada por M. Weinberg. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*. Tomo 87, pp. 924-925, 1922.

GERMINACION BRUSCA DEL POLEN EN EL EXTRACTO DE OVULO HOMOLOGO

Se sabe que los óvulos de ciertos animales segregan sustancias dotadas con la propiedad de aglutinar temporalmente y de activar los espermatozoides de la misma especie; éstas son las "fertilisinás" de Lillie que serían indispensables para la fecundación. Con el fin de saber si los óvulos de los vegetales encierran sustancias comparables a las fertilisinás de los óvulos de animales, extraje por presión el jugo de los óvulos de maíz, antes que los estigmas se hubiesen mostrado fuera de las glumas (prueba de que los óvulos no están todavía fecundados). Preparé, por otra parte, una suspensión en agua glucosada al 5 por ciento, de polen de maíz, que acababa de ser recolectado en la plantación.

Si se hace caer una gota de la suspensión glucosada de polen en un recipiente de cristalización que contiene 6 gotas de jugo de óvulos (o jugo de estigmas), se observa la germinación inmediata de los granos de polen; se puede seguir en el microscopio la formación del tubo polínico que se acrecienta con una rapidez inesperada: en 1 ó 2 minutos, se ven a menudo tubos cuya longitud alcanza cien veces el diámetro de los granos de polen. No se trata aquí, únicamente de diferencia de presión osmótica, pues si se ponen granos de polen en un líquido con una presión osmótica más débil, simplemente revientan, mientras que en el jugo de los óvulos se ve el tubo salir del grano de polen, retorcerse sobre sí mismo y acrecentarse como un salchichón. El número de los granos de polen que revientan es más grande en el jugo de estigmas que en el de óvulos.

En otro experimento, pusimos en cada uno de 3 recipientes de cristalización 12 gotas de agua glucosada al 5 por ciento. El

primero recibe una gota de jugo de óvulo, el segundo una gota de jugo de estigmas, el tercero queda como testigo. Se deja caer una gota de la suspensión de polen, se lleva al microscopio y pronto observamos la hernia que bosqueja el tubo polínico, pero éste no se acrecienta, revienta, los leucitos quedan aglutinados. El recipiente testigo puede recibir varias gotas de agua pura sin que la hernia o el estallido se produzcan, salvo en raras ocasiones; los leucitos quedan entonces diseminados en el líquido.

El jugo de óvulos y el de estigmas de maíz son inactivos frente al polen de lirio.

En el polen de sorgo (gramínea alejada del maíz), el extracto de óvulos de maíz no produce ningún efecto. En otra oportunidad nos dirigimos al polen de *Coix lacryma jobi*, que pertenece a la misma tribu que el maíz (Faláridos). El jugo de óvulos de maíz, lo mismo que el jugo de estigmas, provoca en el polen de *Coix* la hernia que precede a la formación del tubo polínico, pero éste no continúa su crecimiento; explota pronto. Una sola gota de jugo de óvulo de maíz, en 6 gotas de suspensión de polen en agua glucosada al 5 por ciento, basta para provocar el fenómeno.

El extracto alcohólico de estigmas no produce ningún efecto sobre el polen diluido 1/12; lo mismo sucede si se precipita con alcohol absoluto y si se emplea el precipitado redisoluto en agua. El calentamiento durante media hora a 56° no vuelve inactivo al jugo.

CONCLUSIONES

1. Los óvulos no fecundados y los estigmas del maíz encierran una sustancia (o propiedad) que se podría llamar "*polenauxina*", que provoca la germinación del polen, tanto en diluciones débiles como en suspensiones isotónicas;
2. Esta polenauxina no es estrictamente específica, sino de grupo;
3. La polenauxina del maíz es termostable (56°C).

Laboratorio del Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica

Picado Twight, Clodomiro. *L'arsenic, engrais catalytique*. Nota de C. Picado, presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus des séances de la Société de Biologie*. Tomo 87, p. 1338-1339, dic. 1922.

EL ARSENICO, ABONO CATALITICO

Un asunto a la orden del día es la esterilización parcial del suelo; entre las sustancias que se han preconizado para destruir en la tierra los protozoarios nocivos se encuentran los compuestos arsenicales: la adición a la tierra de pequeñas cantidades de arsénico da como resultado cosechas superiores a las que se obtienen, en la misma tierra, sin agregarle arsénico. El hecho es exacto; fue confirmado por varios investigadores. Pero en realidad, ¿juega únicamente el papel de sustancia microbicida?

A lo largo de una serie de experimentos que emprendí sobre los abonos catalíticos, he llegado a creer que el arsénico agregado a la tierra *juega sobre todo un papel de abono catalítico*.

Voy a resumir esos experimentos:

- a) 200 kg de tierra homogénea son divididos en dos partes iguales; una recibe 0,10 g de As_2O_3 en polvo, con el cual es mezclada íntimamente; la otra mitad sirve de testigo. Se extienden esas tierras sobre 1 m² de superficie y se siembra el maíz. Dos meses después se obtiene una cosecha de forraje de 4 117 g para 100 plantas en la tierra natural y de 8 000 g en la tierra que había recibido As_2O_3 , es decir un aumento de 77 por ciento (en otros experimentos hubo siempre un aumento, pero mucho menor: 17, 20, 40 por ciento).

Se ve que, en estos experimentos, la proporción de As_2O_3 mezclado a la tierra era igual a 1/ 1 000 000 en peso, o sea 1 kg por hectárea.

- b) En otros experimentos, aumenté progresivamente las dosis de As_2O_3 y constaté que era inútil sobrepasar la proporción de 1/130 000 (más o menos 8 kg por hectárea).
- c) Viendo la pequeña cantidad de As_2O_3 que favorece la vegetación y como, por otra parte, el As_2O_3 se disuelve muy lentamente, me pregunté si esas pequeñas dosis podían ser nocivas para los protozoarios del suelo. Para obtener una respuesta sobre ello, hice una serie de soluciones (desde 1/1 000 000 a 1/10 000) del mismo As_2O_3 que había empleado. En cada tubo puse la misma cantidad de tierra y pude constatar que en 1/100 000 los cilíados, flagelados y las amebas continuaban aún vivas al cabo de varios días. Con base en lo anterior, creo con mayor razón que la tierra que contiene 1/1 000 000 de As_2O_3 no solubilizado, no debe ser microbicida.
- d) Para saber si el As_2O_3 podía influenciar la vegetación en un medio estéril, puse en autoclave tubos sellados con algodón que contenían ya fuera tierra natural, o esta misma tierra adicionada de As_2O_3 . Los granos fueron esterilizados en formol (inmersión bajo campana al vacío y contacto con los vapores de formol en atmósfera confinada). En esas condiciones más bien se obtiene, para los granos sembrados en tierra con arsénico, un aumento de la cosecha.

Es válido aclarar que los granos empleados provenían todos de una misma mazorca de maíz.

Como sabemos que se encuentran trazas de arsénico en todas las plantas, nos parece evidente que, en nuestros experimentos, este elemento jugó un papel de factor catalítico y no el de sustancia microbicida.

Falta demostrar si el arsénico es también un elemento indispensable para las plantas, como lo es el manganeso, cuyo papel ni siquiera era sospechado antes de las investigaciones de G. Bertrand.

(Laboratorio del Hospital de San José de Costa Rica)

SOBRE LA ACCION A DISTANCIA DE LOS HONGOS FITOPATOGENOS*

Se sabe que muchos hongos producen en las plantas que parasitan lesiones a distancia: ennegrecimiento de vasos y tejidos, marchitamiento, plasmólisis, etc..., y que es totalmente inútil buscar el agente patógeno en el propio lugar, pues los tejidos afectados a menudo permanecen estériles.

Para explicar esta acción parasitaria, se ha recurrido a toxinas comparables a las microbianas, o a productos diastásicos diversos que, secretados por el hongo parásito serían en seguida arrastrados por la circulación de la planta.

La puesta en evidencia de estas sustancias no ofrecería, según los autores que se han ocupado de esto, ninguna dificultad.

Se cultiva el hongo en un medio líquido apropiado y en cantidad suficiente; al término de cierto tiempo de cultivo se filtra el medio, se montan diversas diluciones del líquido y se remojan plantas jóvenes cortadas bajo el agua. Se establecen testigos con el mismo líquido de cultivo calentado cinco minutos a 100°C y también con el medio de cultivo estéril. Se constata que las plantas (en general, plántulas de frijol o de cebada) se marchitan más rápido en el líquido activo y se llegan a obtener marchitamientos rápidos en diluciones bastante débiles como para que se pudiera incriminar a su naturaleza hipertónica. Se verá, por otro lado, que las mismas diluciones del líquido calentado a

* Comunicación presentada por el Dr. C. Picado, delegado de Costa Rica, en la Reunión de la Sociedad de Patología Vegetal y de Entomología de Francia, realizada en Estrasburgo, el 4 de junio de 1923, con motivo de la celebración del centenario de Pasteur.

100°C y del líquido de cultivo, no muestran efecto en la misma dilución.

Si se precipita por medio de un volumen igual de alcohol absoluto y el precipitado se redisuelve en agua, se constata que las plantas cortadas en el agua y sumergidas en esta solución se marchitan más rápido que las que son colocadas en el líquido calentado a 100°C, el cual a menudo no produce más "que muy ligeros síntomas de la enfermedad".

A título de ejemplo, vamos a citar algunos experimentos:

E. W. Brandes¹, cultiva el *Fusarium cubense* del banano durante quince días, en solución de Richard. Si se colocan plántulas de cebada (cortadas bajo el agua a nivel del suelo) en ese líquido se observa que se enferman y se marchitan en treinta minutos, mientras que en la solución de Richard estéril no se produce nada dentro de las veinticuatro horas siguientes. Para los frijoles, se necesitan dos horas para producir el marchitamiento. Con medios nutritivos privados de azúcares, el autor obtuvo los mismos resultados. Las hojas del banano son mucho más resistentes.

Brandes, en vista de estos resultados, comparte la opinión de Goss, quien considera que la enfermedad de la papa causada por *Fusarium oxysporum* se debe a una toxina secretada por el hongo y no a una obstrucción de los vasos y cree que la enfermedad del banano se debe también a esta toxina.

H. C. Young y C. W. Bennet, precipitan por medio de alcohol el líquido de Richard, donde se ha cultivado *Fusarium oxysporum*, y con el precipitado logran producir la enfermedad en las plantas.

W. F. Bewley² cultiva *Verticillium albo-atrum* en la solución de Dox con 20% de sacarosa: al término de treinta días, filtra y observa que las plántulas de tomate, cortadas bajo el agua y colocadas en ese líquido, enferman en 17 minutos. En el medio estéril y en el líquido de cultivo calentado a 100°C durante cinco minutos se obtiene la enfermedad al término de dos horas. Con el líquido activo diluido a 1/3, ésta se produce en cuarenta y dos minutos y con ese mismo líquido inactivado a 100°C se produce una ligera enfermedad que no aumenta si se deja en reposo durante veinticuatro horas. En el medio estéril diluido a 1/3 no pasa nada.

El líquido de cultivo tratado con un volumen igual de alcohol absoluto produce un precipitado que se redissuelve (en tres veces su volumen original) en agua destilada. Cuando se colocan en ese líquido las plántulas de tomate, se enferman al término de 72 minutos y con el mismo líquido inactivado a 100°C, se obtiene una ligera enfermedad al cabo de tres horas.

Los autores no han podido obtener ninguna "endo-enzima" capaz de producir la enfermedad, desecando, pulverizando y tratando con agua el micelio.

Las plantas tratadas durante 24 horas por medio de la "exo-enzima" activa, fueron examinadas al microscopio y se constata que sobre una longitud de cinco centímetros, el vástago estaba oscuro, y que cerca de la extremidad del tallo, el cambium estaba destruido. Nada de esto se produce con la solución calentada.

R. J. Haskell³ constató que los vasos de los tubérculos se colorean de café si se inyecta a los tallos el líquido de cultivo del *Fusarium*, pero se obtiene el mismo resultado con el ácido oxálico y con otras sustancias tóxicas.

En otra serie de experimentos, Haskell encuentra que los tallos de papa, sumergidos en el agua que contiene el extracto de tubérculos infectados con *Fusarium*, o hasta con extracto de tubérculos completamente sanos, se marchitan y el autor cita, a este propósito, la teoría de Overton y Dixon, quienes admiten que los productos de plasmólisis de los vegetales son tóxicos para la misma planta.

P. Nobecourt⁴ encuentra que el jugo de peras maduras invadidas por el *Mucor* adquiere la propiedad de plasmolizar y reblanecer los tejidos vegetales en presencia de cloroformo o del tolueno y que este jugo se vuelve inactivo por calentamiento de quince minutos a 60°.

En los cultivos (caldo de zanahorias) los hongos no dieron por exósmosis sustancias plasmolíticas, pero el micelio autolizado sí proporcionó un líquido plasmolítico. Estos líquidos tóxicos actúan hasta sobre las plantas que no están atacadas por estos hongos: zanahorias, tupinambos, habas, etc... El autor concluye que la inmunidad de estas plantas no se debe a la resistencia a las secreciones de estos hongos.

Quisimos estudiar comparativamente la acción de sustancias elaboradas por algunas especies de hongos parásitos, tanto sobre la planta que ellos parasitan comúnmente como sobre otra planta no susceptible a ser parasitada por ellos y (sobre esas mismas plantas), comparar la acción de las sustancias elaboradas por otro hongo no patógeno.

Como sujeto de experimentación escogimos el frijol como planta no susceptible; la papa como hésped habitual y, bajo el consejo de los señores Foëx y Dufrenoy, el *Fusarium* del melón y dos *Verticillium* de la papa: *V. albo-atrum* y *V. Dubois*, que son muy diferentes por sus características biológicas y por las lesiones que ocasionan a la planta parasitada; como especie no patógena escogimos un *Penicillium* saprófito proveniente de las contaminaciones de los medios de cultivo expuestos al aire.

El medio de cultivo empleado fue el líquido de Richard (nitrato de potasio 10 g, fosfato biácido de potasio 5 g, sulfato de magnesio 2,5 g, percloruro de hierro 20 g, azúcar de caña 50 g, agua 1000 centímetros cúbicos). El tiempo de cultivo fue de un mes a 25°C, y las plantas de experimentación de la misma edad. La escogencia del medio de cultivo, del tiempo de cultivo y de la planta no parasitada: frijol, se basó en los investigadores que nos precedieron.

Nuestro programa de investigaciones contiene:

1. Búsqueda de exotoxinas en el líquido de cultivo

- A. *Verticillium albo-atrum*: el líquido de cultivo diluido a 1/3 y a 1/4, produce muy ligero marchitamiento de los frijoles al cabo de una hora y treinta minutos. Los testigos tratados con líquido calentado a 100°C se presentan saludables. En los tallos de la papa no se observa ningún efecto al cabo de dos horas. Al dejar las plantas en reposo durante veinticuatro horas se constata que los frijoles se repusieron, los bordes de las hojas se presentan rígidos con la dilución a 1/4 y son las más débiles. Con la dilución a 1/3, los bordes de las hojas se ponen blandos.

Respecto a las papas, se nota marchitamiento de las hojas con ambas diluciones. Los testigos tratados con el líquido calentado se muestran muy bien.

Hay oscurecimiento en los vasos del frijol a pesar de que están en perfectas condiciones. Para las papas que están marchitas se observa un ligero oscurecimiento de los vasos.

- B. *Verticillium Dubois*: los frijoles y las papas no se marchitan sino al término de una hora. Veinticuatro horas después, los frijoles con la dilución a 1/3 activa tienen los bordes de las hojas ligeramente blandos, y los de la dilución a 1/4 bien. Los testigos tratados con líquido calentado se presentan muy bien. Las papas se marchitan con las diluciones a 1/3 y 1/4. Los testigos están muy bien. No hay oscurecimiento de los vasos.
- C. *Penicillium* sp: los frijoles y las papas no se marchitan sino al cabo de una hora. Veinticuatro horas después, los frijoles están todos muy bien. Las papas están muy marchitas con el líquido a 1/3 y 1/4, calentado o no. La parte inferior de los tallos de la papa con ambas diluciones no calentadas está digerido. Los testigos aunque muy marchitos no presentan digestión. Los frijoles no son digeridos, existe un ligero oscurecimiento de los vasos en la base.
- D. *Fusarium solani*: los frijoles se marchitan ligeramente al cabo de una hora con el líquido diluido a 1/3, calentado o no. Al cabo de veinticuatro horas, tanto los frijoles como las papas están bastante marchitos con el líquido de cultivo a 1/3 activo y también con el testigo calentado. No hay oscurecimiento de los vasos.

2. Búsqueda de endotoxinas en el extracto fresco de micelio

El micelio lavado es finamente triturado con arena lavada. Se agregan 100 centímetros cúbicos de agua destilada a la

totalidad del cultivo de un mes a 25° (sobre 250 centímetros cúbicos de líquido de Richard puesto en un frasco de Erlenmeyer de 500 centímetros cúbicos). Se deja autolisar durante cuatro horas. Se filtra. Con el filtrado se hacen diluciones a concentraciones diferentes.

- A. *Verticillium albo-atrum*: los frijoles se marchitan al cabo de quince minutos. Cuarenta y cinco minutos más tarde, las hojas marchitas de todas las plantas se ven enrolladas en forma de cuchara, incluso en diluciones a 1/15.

Los testigos tratados con extracto calentado muestran un marchitamiento más ligero con la dilución a 1/3. Las papas están ligeramente marchitas. Al cabo de 24 horas, los frijoles están muy marchitos incluso con la dilución a 1/15. El testigo con la dilución a 1/3 presenta el borde de las hojas ligeramente curvado hacia arriba. Las papas se muestran muy bien. Los vasos de los frijoles y de las papas se ponen amarillos aun con el extracto calentado.

- B. *Verticillium Dubois*: los frijoles se marchitan al cabo de quince minutos. El marchitamiento es más brusco en los tubos con extracto calentado a 100°. Las papas permanecen muy bien al cabo de una hora. Veinticuatro horas más tarde, los frijoles tratados por el extracto se muestran muy marchitos. Las papas, con líquido activo, ligero marchitamiento; los testigos tratados con líquido calentado, muy bien. No hay oscurecimiento de los vasos.

- C. *Penicillium* sp: nada se produce al cabo de una hora. Veinticuatro horas más tarde, las papas están ligeramente marchitas con la dilución a 1/3 calentada o no. Con la dilución a 1/4 el marchitamiento es más marcado para el tubo calentado. Hay digestión de la parte inferior de los tallos de la papa con el líquido activo. Ligero oscurecimiento de los vasos en los frijoles, no así en la papa.

D. *Fusarium solani*: al cabo de una hora, los frijoles se ven marchitos. Al término de veinticuatro horas, se nota un marchitamiento mucho más pronunciado en los frijoles y en las papas que el que se presenta con el líquido de cultivo pero no se pueden establecer las diferencias con las plantas que son tratadas en la misma proporción de extracto de micelio calentado (cinco minutos a 100°C). No hay oscurecimiento de los vasos.

Se desprende de estas experiencias:

1. Que el marchitamiento de las plantas de experimentación, el oscurecimiento de los vasos y la disolución de los tejidos, no obedecen a la misma causa.
2. Que no es indiferente dirigirse a cualquier planta para juzgar el poder patógeno de un extracto de hongo o de su líquido de cultivo en relación con la planta que parasita.
3. Que en general es en el micelio donde se encuentran las sustancias nocivas y que éstas sólo pasan al medio de cultivo en los cultivos viejos, donde una gran parte del micelio se ha autolisado.
4. Que a menudo el marchitamiento se encuentra más acentuado con los extractos calentados a 100°C que con aquellos no calentados, lo que no sucedería si se tratase de toxinas o de diastasas.

Experimentos posteriores nos mostraron este fenómeno particularmente nítido con el *Fusarium cubense* E. F. Smith, parásito del banano.

Es así como quisimos investigar si en esos fenómenos habría un *envenenamiento* y no una *intoxicación* (en el sentido estricto de la palabra). Para ello precipitamos el líquido de cultivo y el extracto filtrado del micelio con un volumen igual de alcohol absoluto; separamos así los albuminoides que debían arrastrar las diastasas y las toxinas; decantamos y desechamos el líquido de cultivo del cual habíamos conservado el precipitado para la búsqueda de exotoxinas. En cuanto al extracto de micelio, guardamos el precipitado para la búsqueda de endotoxinas y

también el líquido sobrenadante, que fue concentrado a una temperatura de alrededor de 80°C durante veinticuatro horas. Obtuvimos así un residuo ceroso, cafesuzco, muy higroscópico, cuyo peso seco sobrepasaba el del precipitado albuminoide. Estos extractos no podrían guardar ni las diastasas ni las toxinas, pero sí los venenos termoestables elaborados por el mismo hongo y no provenientes del medio de cultivo.

Si preparamos soluciones madre de extracto de hongo, de exodiasasas y endodiasasas (precipitadas con alcohol y desecadas al vacío con la presencia de ácido sulfúrico), en la proporción de 3 mg/cm³ y si establecemos series de tubos conteniendo 1; 0,5; 0,25; 0,10 cm³ de solución madre más 5 cm³ de agua destilada en cada uno y si en esas series repetimos los experimentos anteriores con las plántulas de frijol y los tallos de papa, llegamos a los siguientes resultados:

- A. *Verticillium albo-atrum*: se obtiene el marchitamiento con las soluciones que contienen 0,5 mg de extracto calentado (para frijoles, al cabo de dos horas; para papas al cabo de veinticuatro horas). Estas últimas se marchitan incluso en las soluciones que contienen 0,25 mg de extracto seco por centímetro cúbico.

Con las mismas cantidades de endodiasasas se obtiene el marchitamiento de los frijoles en forma más marcada y más rápida, pero las papas sufren sólo un ligero marchitamiento al cabo de veinticuatro horas. Con las exodiasasas los resultados son aún menos claros.

- B. *Verticillium Dubois*: si repetimos con esta especie los experimentos anteriores, observamos que en este caso, el extracto calentado del hongo es en igualdad de peso, al menos cuatro veces más patógeno que las exo o endodiasasas, al menos para la papa.

Se nota entonces que el marchitamiento de las plantas puede ser obtenido por extractos del hongo en alcohol al 50%, calentado a 100°C y en diluciones que contienen a veces tan poco como 0,15 mg de extracto seco por centímetro cúbico y que esos extractos parecen más patógenos electivamente para la planta huésped del hongo.

Si comparamos ahora esos resultados con aquellos que se obtienen con hongos parásitos de animales, podemos constatar que para el muermo bovino, para el muguete y para la esporotricosis, son los elementos figurados muertos los únicos capaces de reproducir algunos síntomas de la enfermedad y sólo en raras oportunidades se ha logrado extraer sustancias patógenas para los animales a partir de los líquidos de cultivo⁵.

No se trata de toxinas comparables a las de las bacterias, sino de "venenos, probablemente lipídicos" pues no se trata tampoco de glucósidos ni de alcaloides.

Se sabe que incluso en el caso de hongos venenosos se encuentra el producto que llamamos "Amanita-toxina", que **es un veneno y no una toxina** y contra la cual no se ha podido jamás inmunizar a los animales.

Además, Nicolle y Magrou (**Les maladies parasitaires des plantes**) se expresan así:

"Distinguiremos: la intoxicación propiamente dicha, de conocimiento común y la irritación, que se debe relacionar, según Malpighi, a los venenos dotados de propiedades excitantes. ¿Se trata, en este último caso, de sustancias especiales o de toxinas débiles pero operando de una manera continua?"

"La pregunta no parece haber sido objeto de ninguna investigación; indicaremos, más tarde, las razones que militan en favor de la segunda hipótesis" (página 111).

Si consideramos ahora que los hongos fitopatógenos producen ellos mismos (al menos en ciertos casos), sustancias no diastásicas pero que son venenos para las plantas, nos preguntamos si no se debería considerar la acción a distancia de algunos de esos hongos como **un envenenamiento crónico comparable a los enflaquecimientos crónicos** que ciertos hongos producen en los animales.

El interés práctico que se liga a esta pregunta puede ser resumido así: si se trata de cuerpos diastásicos o de toxinas pro-

piamente dichas, es posible dirigir las investigaciones por la vía de la inmunización, pero si se trata de un envenenamiento hay que abandonar esta vía que conduciría al fracaso, para investigar los antídotos.

(Trabajo efectuado en la Estación de Patología Vegetal de París).

NOTAS

1. *Banana-Wilt*, **Phytopatology**, vol. 9, Nº 9, 1919.
2. "Sleepy disease" of the tomato – **The Annals of Applied Biology**, vol. 9, Nº 2, 1922.
3. *Fusarium Wilt of Potato in the Hudson River Valley*, New York, **Phytopatology**, vol. 9, Nº 6, june 1919.
4. *Sur le mécanisme de l' action parasitaire du **Penicillium glaucum** Link et du **Mucor stolonifer** Ehrb.* **Comptes rendus de l' Acad. Sc.** Tomo 174, Nº 26 p., 1720, 1922.
5. E. Bodin y C. Lenormand. *Recherches sur les poisons produits par l' **Aspergillus fumigatus**.* – **Ann. Inst. Pasteur**, tomo 26, 1912. p. 371.

INFLUENCIA DE LOS RAYOS X SOBRE LA GERMINACION DE LAS SEMILLAS

Clodomiro Picado T.
Elías Vicente

RESUMEN

La irradiación activa la germinación del frijol, pero no tiene efecto sobre el trigo; la diferencia en el comportamiento puede ser debida a los diferentes grados de vida latente que presentan los embriones en las semillas. Correlativamente, el maíz seco es insensible a los rayos, pero el maíz, cuya germinación ha sido previamente iniciada por impregnación con agua, se vuelve sensible y provee cultivos más abundantes.

I. EXPERIMENTOS INICIALES: SENSIBILIDAD DEL FRIJOL, INDIFERENCIA DEL TRIGO

Generalmente se admite que los rayos X pueden influenciar los tejidos vegetales en pleno crecimiento pero su acción es nula sobre las semillas.

En 1921, quisimos estudiar el efecto de los rayos X sobre granos de frijol (rojo), del trigo y, comparativamente, en los tubérculos de la papa. Se les sometió a una débil radiación producida por un "tubo de gas", con 5 miliamperios, durante cinco minutos, a 50 centímetros de distancia. Los frijoles y el trigo fueron colocados en una sola capa y para las papas se cortaron tubérculos numerados, en dos mitades de igual peso, una de ellas se irradió, y se guardó la otra como testigo. En eras de tierra homogénea se hicieron surcos, para los frijoles y el trigo irradiados y a su lado los surcos para los testigos, con la misma

cantidad de granos no irradiados; en cuanto a las papas, se sembró frente a cada mitad irradiada la mitad no irradiada del mismo tubérculo.

Una vez desarrolladas las plantas, se constató que para los frijoles y para las papas había siempre plantas más vigorosas en los surcos correspondientes a los granos o a los tubérculos irradiados. Para el trigo no se notaba ninguna diferencia apreciable.

II. FACTOR DE ACTIVACION: EL ESTADO DEL EMBRION

Nos preguntamos qué diferencia habría entre los frijoles que se mostraron activados por la radiación y el trigo que se mostró insensible.

Nos pareció que la diferencia en la manera de comportarse de las dos especies de semillas podría deberse a los diferentes estados de vida de sus embriones; se sabe, en efecto, que en las leguminosas el embrión está en un estado de vida mucho más activo que en las gramíneas; ciertas leguminosas (*Ingas*) tienen en efecto semillas que germinan y dan embriones en el mismo interior del fruto, mientras que las gramíneas son bien conocidas por la fuerte resistencia de sus granos, los cuales pueden guardar varios años su poder germinativo, gracias al estado extremo de vida suspendida de sus embriones.

III. EXPERIMENTOS SOBRE EL MAIZ, SECO Y MOJADO

Para verificar aquella hipótesis, experimentamos al año siguiente con maíz, que en estado seco es también insensible a los rayos X, pero que nosotros habíamos antes activado por inmersión en agua durante cuarenta y ocho horas; una parte de esos granos fue guardada como testigo y otra irradiada (nueve minutos, "tubo de gas" a 50 centímetros).

Con los granos irradiados se establecieron tres surcos de 14 grupos de tres granos cada uno; cada grupo separado del

otro por 75 centímetros más o menos (es así como se cultiva usualmente el maíz en Costa Rica). Los surcos con granos irradiados alternaban con los surcos testigo. Cuatro días después, las primeras plántulas aparecieron a flor de tierra, pero su número era muy diferente para todos los surcos, irradiados y testigo. En los irradiados había respectivamente, 10, 14 y 23 plántulas y en los testigo, 5, 11 y 7; al día siguiente había 30, 38 y 37 irradiados y 26, 26 y 28 en los testigos; un día después, el número de irradiados alcanzaba 36, 40 y 40 y los testigos 34, 36 y 32.

La ventaja de los surcos irradiados se mantuvo bien clara por dos días más: el gráfico adjunto (Figura N° 1) nos lo muestra.

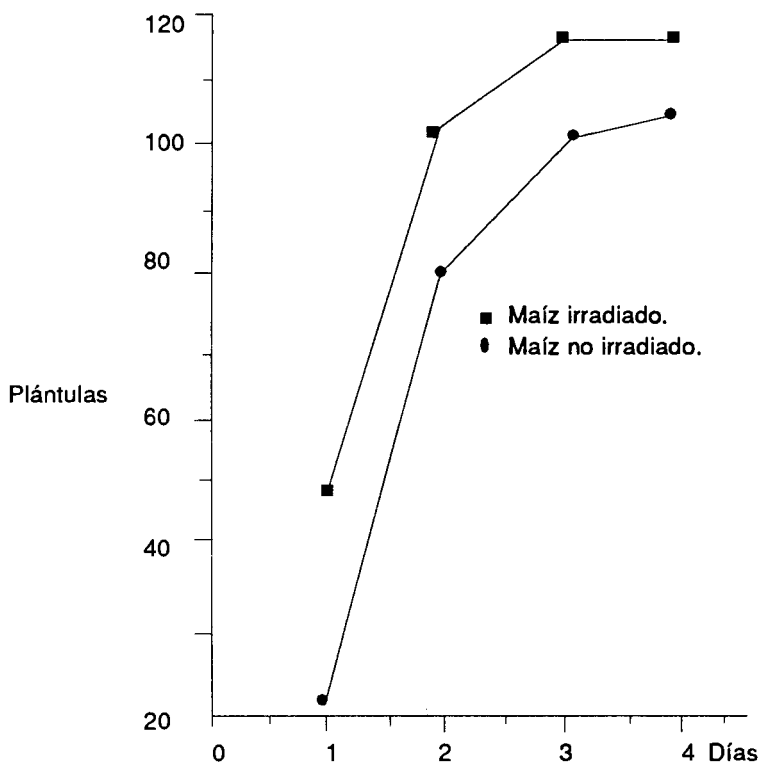


FIGURA N° 1.—Germinación del maíz.

Para saber si esta actividad vital de los primeros días podía influir sobre la vida posterior de las plantas, guardamos éstas hasta la cosecha.

Obtuvimos al final: 108 plantas irradiadas con 111 espigas cuyo peso era de 26 900 gramos y 108 plantas testigo que dieron 105 espigas cuyo peso era de 26 000 gramos.

IV. CONCLUSIONES

Pareciera entonces que si los rayos X no tienen influencia sobre las semillas en estado de vida latente, lo tienen sobre algunos granos cuyo embrión tiene una vida más activa; pero que si se provoca un inicio de germinación en los granos no sensibles, éstos lo llegan a ser, y germinan más activamente luego de la radiación adecuada, dando plantas más robustas.

UNA ENFERMEDAD DE LOS FRIJOLES (ASOCIACION BACTERIANA PARASITARIA DE ESPECIES ANTAGONISTAS EN VIDA LIBRE)

LA ENFERMEDAD ESPONTANEA

A menudo sucede que las plantaciones de frijoles son diezmadas en Costa Rica por una enfermedad conocida en el país bajo el nombre de "hielo"; esta denominación popular indica, según la creencia de los campesinos, que la enfermedad se debe a una caída brusca de la temperatura que "congela" las plantas.

Cuando la enfermedad se presenta con carácter fulminante, se ven las plantas marchitarse y morir de un día para otro, otras veces la enfermedad es tolerada pero las plantaciones quedan débiles y dan poco o ningún fruto.

La enfermedad se caracteriza por escaras secas, que parecen quemaduras, localizadas en la parte subterránea de los tallos; a veces hay una sola escara del mismo largo que el tallo; otras veces se percibe un gran número de pequeñas manchas color café. Es en el momento del marchitamiento que uno se da cuenta de la enfermedad, una planta arrancada del suelo y sostenida por la raíz se quiebra al nivel de la escara donde el parénquima está desorganizado.

Si se abre el tallo longitudinalmente, se constata que el canal interior y los vasos están ennegrecidos, a lo largo de varios centímetros.

El examen de jugo de los tejidos enfermos revela la presencia de cocos y de formas bacterianas más largas y abultadas. El cultivo del jugo, obtenido asépticamente muestra que se trata de dos especies bacterianas fácilmente cultivables sobre placas de agar simple: una especie produce colonias amarillen-

tas, transparentes, formadas por elementos bastante variables pero en general con el aspecto de cocobacilos. La otra especie da colonias opacas de cocos.

CARACTERISTICAS DE LOS GERMENES

A) *Bacterium* sp¹. Blanco amarillento, poco viscoso, muy móvil, presenta un solo flagelo polar, no capsulado, sin esporas, Gram negativo, no licúa la gelatina, aerobio, produce gas en caldo simple. Formas largas sobre la papa 2 x 4 a 6 μ . Colonias sobre agar, redondas, transparentes de borde entero. No coagula la leche, camaleonamiento en leche tornasolada: rojo seguido de azul en la superficie. Muy sacarolítico.

B) *Coccus* sp. Blanco amarillento, no viscoso, no móvil, 1 a 2 μ , Gram negativo, no licúa la gelatina, aerobio, no produce gas. Colonias sobre agar, redondas, opacas, de borde entero, palmeadas sobre agar manitol, no coagula la leche. Forma un anillo coloreado en agar-frijol. Velo sobre el caldo. Poco sacarolítico. Cultivos fétidos.

El Cuadro N° 1 permite comparar las características culturales de las dos especies (cultivo óptimo 27-30°C).

ACCION SOBRE LA PLANTA

Los cortes practicados a nivel de la escara muestran que una vez muertas las células, las membranas no son destruidas. La planta reseca estas últimas, lo que da macroscópicamente a la escara el aspecto de una quemadura a hierro rojo y no el aspecto de una pudrición ordinaria.

Filtramos en bujía cultivos en caldo de 48 horas, de la bacteria y del coco y precipitamos con un volumen igual de alcohol absoluto. El precipitado, seco al vacío sulfúrico y redisuelto en agua, no nos reveló la presencia de citasas, amilasas, catalasas ni invertasas.

Si se colocan las plantas de frijol de 18 días, cortadas bajo el agua, en una solución del precipitado (Bacteria y Coco) conteniendo 0,08 g por ciento, se nota que ellas no se marchitan, no se ennegrecen ni se reblandecen al cabo de 24 horas. Parece

CUADRO N° 1.—Comparación de características de los gérmenes que producen el "hielo" del frijol.

	<i>Bacterium</i>	<i>Coccus</i>
Agar simple	Colonias amarillentas transparentes.	Colonias opacas.
Caldo (48 horas a 25°C)	Turbidez en ondas (gas).	Límpido. Velo.
Papa	Rastro húmedo amarillo oscuro.	Opaco, amarillo de cebo.
Leche tornasolada	No coagula. Camaleonamiento	No coagula. Acidificación.
Gelatina	No licúa. Numerosas colonias en profundidad.	No licúa. Colonias en la superficie sobre todo.
Leche de coco	Turbio, abundantes ondas, producción de gas.	Límpido. Velo
Suero coagulado	Colonias redondas secas de elementos muy pequeños: 1 x 2 μ	Colonias secas con elementos de 1 μ
Agar dulcita	No fermenta	No fermenta
Agar glucosa	Fermenta	Fermenta
Agar lactosa	No fermenta	No fermenta
Agar levulosa	Fermenta	No fermenta
Agar maltosa	Fermenta	No fermenta
Agar manitol	Fermenta	No fermenta
Agar sacarosa	Fermenta (gas)	No fermenta

N.B.—Los cultivos en agar tornasolada azucarada se vuelven alcalinos al cabo de 48 horas a 25°C.

entonces que ni la bacteria ni el coco producen ni diastasas ni toxinas solubles (en caldo) capaces de destruir la planta huésped, y que los principales desgastes causados por esas especies son puramente mecánicos y localizados. Así se explica el marchitamiento fulminante que mata por deshidratación plantas aparentemente sanas la noche anterior.

LA ENFERMEDAD EXPERIMENTAL INOCULACIONES DIRECTAS

Establecimos cuatro series de plantas en tarros que fueron inoculados, con ayuda de una aguja platinada, justo al nivel de la tierra:

- A) Con bacteria proveniente de un cultivo en agar de 24 horas.
- B) Con el coco de la misma edad y del mismo medio de cultivo.
- C) Con una mezcla de bacteria + coco.
- D) Serie testigo con plantas picadas por la aguja esterilizada.

Las plantas que recibieron las dos especies sufrieron un retraso en el crecimiento; las otras no habían mostrado nada anormal hasta que fueron sacrificadas 30 días después de la inoculación. Jamás vimos el marchitamiento producirse en menos de 25 días después de la siembra. Pudimos poner en evidencia que los tallos que habían recibido la bacteria sola, estaban ennegrecidos en la parte interior a lo largo de varios centímetros. El cultivo nos dio la misma bacteria inoculada.

Las plantas que recibieron la mezcla de bacteria y coco, estaban también ennegrecidas en su interior y el cultivo nos permitió recuperar *las dos especies: éstas coexisten entonces en parasitismo.*

INOCULACION DEL SUELO

En tres potes autoclavados a 120°C sembramos frijoles esterilizados por medio de agua oxigenada.

Inmediatamente después de la siembra aséptica, regamos un pote con una emulsión de la bacteria, otro con una emulsión del coco y el tercero con una mezcla de las dos especies (en cada caso las bacterias eran cultivadas 24 horas en agar inclinado, luego raspadas en agua esterilizada). Durante todo el período del experimento las plantas fueron guardadas bajo vidrio y rociadas con agua esterilizada.

Al cabo de 35 días suspendimos el experimento y constatamos:

1. Que las plantas que habían recibido el coco estaban sanas.
2. Que aquellas que habían recibido la bacteria estaban enfermas (66%).
3. Que las plantas que habían recibido las dos especies estaban sanas.

Se desprende netamente de esas experiencias que el coco puede estar asociado a la bacteria en la enfermedad espontánea o experimental (inoculación directa), pero que esta última es la única capaz de determinar la enfermedad y que debe por lo tanto ser considerada como el agente patógeno.

Nos queda entonces por explicar por qué cuando se inocula la tierra con las dos especies, la infección no se produce.

EL ANTAGONISMO EN VIDA LIBRE

Dados estos resultados era de suponer que en el suelo el coco tomaba ventaja sobre la bacteria y llegaba a destruirla mientras que los frijoles germinaban (5 días en nuestras condiciones climáticas). Para verificar esta hipótesis instituímos una serie de experimentos:

Sobre las placas de agar la bacteria se multiplicó mucho más rápido gracias a su gran motilidad.

Los cultivos en estrías cruzadas muestran en los puntos de intersección el desarrollo de la bacteria sola.

Sobre placas donde se ha cultivado una de las dos especies, si se raspa este cultivo y se siembra la otra especie, se

constata que el coco se desarrolla, aunque lentamente, en el medio "vacunado" por la bacteria, *pero esta última no da ningún desarrollo apreciable sobre el medio "vacunado" por el coco.*

Si en un tubo de caldo acabado de sembrar por una de las especies en estudio, se agrega 1/100 más o menos del otro cultivo, se constata, si se aísla al cabo de 40 horas sobre placas de agar manitol tornasolado (donde la bacteria da colonias rojas y el coco azules) que se obtienen más o menos 30% de colonias de la bacteria, con una dosis inicial que había variado del 99 al 1%. *Existe entonces un equilibrio establecido.* Al cabo de 3 días existe solamente 22% de la bacteria y el 5° día ya no se encuentra más la bacteria, la cual ha sido destruida por el coco.

Si sembramos tierra autoclavada solo con la bacteria o con el coco, se ve que, *al cabo de 5 días, cada especie está aún viva, pero si sembramos en los tubos tierra con las dos especies, al cabo de 5 días no se encuentran trazas de la bacteria.*

Estamos entonces en presencia de un interesante episodio de biología bacteriana: una especie asociada durante el parasitismo que se vuelve antagonista en vida libre; es decir, que en la enfermedad misma se encuentra el agente de su preservación.

Bastaría con contaminar los granos con el coco antes de sembrarlos para destruir ahí mismo la bacteria patógena e impedir la enfermedad.

Hemos investigado si en el lodo de los ríos habría bacterias capaces también de destruir la bacteria de los frijoles. Aislamos los cocos que no fermentan el manitol, pero si se siembran esos cocos, al mismo tiempo que la bacteria en la tierra estéril, constatamos que al cabo de 5 días la bacteria patógena coexiste; se nota entonces que el antagonismo es debido no a una extrema fragilidad de la bacteria, sino a la actividad vital del coco, su asociado en la enfermedad.

(Trabajo del Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica)

NOTA

1. Este *Bacterium* morfológicamente idéntico al *Bacterium phaseoli* de E. F. Smith del cual posee las afinidades colorantes, se distingue netamente por la ausencia de enzimas proteolíticas y coagulantes de la leche.

INVESTIGACIONES SOBRE LA ESPECIFICIDAD DE LA RELACION "TOXICO-ANTITOXICO" (UTILIZACION EN TERAPEUTICA VEGETAL)¹

Una de las ideas directrices de los trabajos de Ehrlich y de su escuela, en lo que concierne a la terapéutica animal, es que todo medicamento posee dos propiedades: una la "organotrópica" y otra la "parasitotrópica". Dada la similitud de constitución química del huésped y del parásito, todo cuerpo nocivo para el parásito lo será también, más o menos, para el huésped; pero, variando la composición química de ese producto, se puede reforzar la propiedad "parasitotrópica", disminuyendo sus propiedades organotrópicas y llegar así a preparar medicamentos dotados de propiedades específicas frente a un determinado parásito.

¿Se puede aplicar el mismo principio en terapéutica vegetal? Teóricamente se podría responder de una manera afirmativa, pero prácticamente se puede comprobar que es imposible hacer circular en los vegetales un compuesto químico cualquiera, y que sólo se puede contar con la absorción por las raíces, la que siempre es más o menos electiva. Se concibe también, fácilmente, que los compuestos químicos agregados a la tierra de cultivo son más o menos rápidamente descompuestos por agentes externos: el agua, el aire, la acción de los microorganismos, etc. Entonces, hay que perder la esperanza de preparar para los vegetales compuestos comparables a los arsenobenzoles, por ejemplo.

Podemos, sin embargo, seguir otra vía y hacer intervenir las antitoxinas que permitirán a la planta soportar dosis muy fuertes de sustancias parasitocidas. Si mezclamos a la tierra de cultivo una sustancia tóxica, la planta se intoxica; pero si agregamos un antitóxico en dosis convenientes, la planta soporta el

tóxico; es decir que, cuando los vegetales absorben al mismo tiempo la sustancia tóxica y la antitóxica, fabrican un compuesto orgánico no organotrópico.

Falta saber si la relación tóxico-antitóxico es específica. Si fuese así, podemos esperar encontrar una relación indiferente para la planta e insoportable para el parásito.

Cierto número de hechos abogan en favor de esta concepción de especificidad de la relación tóxico-antitóxico. Vamos a citar algunos ejemplos²:

- A. Se sabe que la relación calcio-magnesio $\frac{\text{CaO}}{\text{MgO}}$ presenta un óptimo que varía de una especie vegetal a otra, aun si éstas están emparentadas: la relación óptima es de 1 para el trigo; 1,5 para la cebolla; 2 para la cebada; 2,5 para la soya y de 3 para el alforfón (cifras dadas por Molliard).
- B. Se hizo notar (Laurent) que la composición del suelo puede influenciar la distribución del muérdago, sin que se puedan notar variaciones en el aspecto de los árboles que lo soportan.
- C. La adición de Zn al suelo favorece la infección de las gramíneas por los hongos parásitos (Javillier).
- D. Tuve la ocasión de emplear un complejo tóxico-antitóxico (ferromanganeso), y pude comprobar que las fuertes dosis —500 a 600 kilogramos por hectárea— al mismo tiempo que aumentaban la vegetación de la gramínea, impedían la roya de la avena.

Instituí experimentos para saber si se puede utilizar la especificidad de la relación tóxico-antitóxico para luchar contra las enfermedades parasitarias de los vegetales, particularmente contra los parásitos que, como los *Fusarium* se multiplican en el suelo y se introducen en las raíces o en otras partes subterráneas de los vegetales.

Bajo el ejemplo de Noël Bernard, pensé que el primer caso que debía estudiar era uno de simbiosis, ya que esta asociación

se puede provocar con seguridad, mientras que no sucede lo mismo con las enfermedades causadas por las bacterias o los hongos. Escogí las nudosidades de las leguminosas, cuyos síntomas de infección no se nos pueden escapar.

Estudiamos entonces los diversos casos que pueden presentarse:

1. Tóxico y antitóxico solubles, que no forman un compuesto insoluble;
2. Tóxico y antitóxico muy ligeramente solubles;
3. Tóxico soluble, precipitable por un antitóxico soluble;
4. Tóxico insoluble y antitóxico soluble;
5. Tóxico y antitóxico insolubles.

PRIMER EXPERIMENTO (TOXICO Y ANTITOXICO SOLUBLES)

E. Marchal³ mostró que ciertas sustancias pueden impedir la formación de nudosidades en las leguminosas, pero esas sustancias son al mismo tiempo nocivas para la planta huésped; es decir, que cultivos en medio líquido (Sachs) adicionados con NaCl al 5 por ciento *producen una vegetación muy débil* y sin nudosidades; con 1,5 por mil *la vegetación es normal y las nudosidades comienzan a aparecer*.

El mismo autor constató que las sales de Ca y Mg ejercen una influencia muy favorable en la formación de nudosidades. Termina así:

"El examen de estos resultados hace ver que el microbio de las nudosidades del guisante es más sensible que su huésped a la mayoría de las sustancias antisépticas. Tal compuesto, que en una dosis determinada, respeta la vitalidad del guisante, inhibe, en una proporción mucho más débil aun, la evolución del Rhizobium. Ello es así, principalmente, con sales de Zn, Ag, Hg, Cu, ácidos bórico y fénico, por otro lado, las sales de Pb y de Mn son mucho menos tóxicas para el microbio, pero, también, lo son para el guisante".

Me pregunté si se podría obtener un desarrollo normal de la leguminosa con una dosis bastante fuerte de un tóxico neutralizado por un antitóxico, pero de manera que el conjunto resulte tóxico para las bacterias de las nudosidades e impida la formación de estas últimas.

Es bien conocido que el nitrato de Mg es uno de los cuerpos más antitóxicos; pero como los compuestos nitrogenados, por sí mismos, impiden a menudo la formación de nudosidades, y como convenía colocarse primero en las condiciones más favorables para la formación de nudosidades, escogí como antitóxico el hidrato de calcio que favorece la formación de las nudosidades al mismo tiempo que la vegetación de las leguminosas, y como tóxico el cloruro de sodio que es a la vez nocivo para las bacterias de las nudosidades y para las leguminosas.

A. Los experimentos fueron dispuestos así: (cultivos en maceta)

1 lote de 12 plantas con 3 por mil de NaCl.

1 lote de 12 plantas con 5 por mil de NaCl.

1 lote de 12 plantas con 7 por mil de NaCl.

B. Los mismos lotes y cantidades de NaCl, pero con adición de 4 por mil de Ca(OH)^2 .

C. 1 lote de 9 plantas testigo.

1 lote de 9 plantas con 4 por mil de Ca(OH)^2 .

1 lote de 9 plantas con 6 por mil de Ca(OH)^2 .

D. 1 lote de 12 plantas con 2 por mil de Ca(OH)^2 .

1 lote de 12 plantas con 4 por mil de Ca(OH)^2 .

1 lote de 12 plantas con 6 por mil de Ca(OH)^2 .

Cada lote con 5 por mil de NaCl.

Cada lote recibió la misma cantidad de tierra contaminada con las nudosidades trituradas y durante todo el período del experimento se regó con la misma cantidad de agua.

Las macetas que recibieron sólo sal produjeron plantas cuyas raíces salían de la tierra y serpenteaban en la superficie; las macetas que recibieron sal, más cal, presentaban también el mismo fenómeno, pero mucho menos marcado.

Las plantas de la serie A, con NaCl, sufrieron un retraso en el crecimiento, más marcado entre mayor era la dosis de NaCl (Figura N° 1). Aquellas que recibieron 4 y 6 por mil de cal estaban mejor que las que servían de testigo (Figura N° 2), pero pronto comenzaron a enfermar (marchitamiento bacteriano).

Las plantas de la serie B se desarrollaron mucho más que las que habían recibido solamente NaCl (Figura N° 2) e incluso notablemente más en relación con los testigo.

El óptimo desarrollo fue obtenido por las plantas que recibieron 5 por mil de NaCl y 4 y 6 por mil de Ca(OH)^2 (Figura N° 3).

El experimento fue suspendido treinta y cinco días después de la siembra.

El examen de las raíces mostró los siguientes resultados:

Las plantas que recibieron solamente NaCl (serie A) producen con 3 por mil de NaCl, muchas nudosidades bien desarrolladas. Con 5 por mil de NaCl hay nudosidades medianas en la parte superior de las raíces. Con 7 por mil de NaCl, pocas nudosidades y solamente unas muy pequeñas en la parte superior de las raíces.

En la serie B encontramos que, con 3 de NaCl más 4 de cal, hay numerosas nudosidades; no hay diferencia con las plantas que recibieron solamente NaCl. Con 5 por mil de NaCl y 4 de cal (24 plantas en 2 macetas), 12 tienen nudosidades medianas, 6 nudosidades pequeñas en las raíces superiores y 6 no tienen nudosidades. Con 7 por mil de NaCl y 4 de cal (11 plantas), 2 produjeron nudosidades medianas, 6 pequeñas y esparcidas y 3 sin nudosidades.

En la serie C, todas las plantas muestran numerosas nudosidades bien repartidas en las raíces y bastante voluminosas. Las de las plantas que recibieron 6 por mil de cal (como era de suponer) presentaron las nudosidades más desarrolladas.

En la serie D, con 5 por mil de NaCl y 2 de cal (9 plantas) se obtuvo: 1 con gruesas nudosidades, 2 con nudosidades medianas y 6 de pequeñas nudosidades. Con 5 de NaCl y 4 de cal, véase serie B (anteriormente). Con 5 de NaCl y 6 de cal (12 plantas), 2 plantas con nudosidades medianas, 3 con pequeñas nudosidades y 7 sin nudosidades (Figura N° 4).

RESUMEN

Testigos y plantas que recibieron solamente cal (Figura N° 4)	100% con gruesas nudosidades.

Plantas con 5 por mil de NaCl y 2 por mil de cal:

Vegetación normal	10% con gruesas nudosidades
Vegetación normal	30% con nudosidades medianas
Vegetación normal	60% con pequeñas nudosidades

Plantas con 5 por mil de NaCl y 4 por mil de cal:

Optimo crecimiento	50% con gruesas nudosidades
Optimo crecimiento	25% con pequeñas nudosidades
Optimo crecimiento	25% sin nudosidades

Plantas con 5 por mil de NaCl y 6 por mil de cal:

Mejor desarrolladas que las testigo	0% con gruesas nudosidades
Mejor desarrolladas que las testigo	17% con nudosidades medianas
Mejor desarrolladas que las testigo	25% con pequeñas nudosidades
Mejor desarrolladas que las testigo	58% sin nudosidades

Notamos que la adición de NaCl a 5 y 7 por mil produce un notable atraso en la germinación de los frijoles. Este efecto debe ser producido no solamente a causa de la toxicidad del NaCl, sino también a causa de su poder deshidratante.

Las plantas que recibieron 3 y 5 por mil de NaCl dieron hojas simples muy grandes.

Esta activación del crecimiento de las hojas se produce en presencia o en ausencia de cal (véase Figuras N° 1 y 3). La raíz

principal de las plantas que recibieron solo NaCl queda muy reducida y muchas raíces secundarias se desarrollan bastante pero en sentido horizontal; la adición de cal corrige mucho esta anomalía.

Constatamos, al final del experimento, que la tierra de la superficie de las macetas no contenía casi nada de NaCl y que éste se había acumulado en la parte inferior de las macetas, donde no era alcanzado por las raíces. Se desprendió netamente de esta observación que las plantas no fueron sometidas en forma continua a la influencia tóxica, lo que nos explica la producción de nudosidades en la parte más superficial de las raíces; a veces, se veían nudosidades fuera de la tierra.

SEGUNDO EXPERIMENTO (TOXICO Y ANTITOXICO CASI INSOLUBLES)

Se siembran frijoles en macetas que contienen 0,025; 0,05; 0,10; 0,20 y 0,40 g por mil de carbonato de cobre. Otras macetas reciben las mismas dosis de sal de cobre, más 6 por mil de carbonato de cal.

Con 0,20 y 0,40 por mil de carbonato de cobre, la germinación se retarda y algunas plantas son anormales: tallos torcidos, brotes en el eje de los cotiledones, hojas simples en lugar de hojas compuestas, etc. Las raíces principales son muy pequeñas y las otras muy superficiales. La adición de carbonato de calcio corrige estas anomalías.

Las plantas que recibieron sólo carbonato de cobre produjeron raíces con nudosidades más grandes que las testigo y que aquellas de las plantas que recibieron carbonato de calcio solamente.

La adición de carbonato de cobre favorece entonces la formación de las nudosidades y se vuelve nocivo para la planta en dosis de 0,40 y 0,20 por mil.

La adición de carbonato de calcio produce el siguiente doble efecto:

1. Atenuación del efecto nocivo para los frijoles;
2. Disminución del efecto que favorece la formación de nudosidades.

Es decir, efecto contrario para el huésped y para el parásito: favorable para el primero, nocivo para el segundo.

En los casos que acabamos de estudiar, vemos aún que la intervención del antitóxico hace cambiar, en sentido opuesto, la acción del tóxico.

TERCER EXPERIMENTO (TOXICO SOLUBLE PRECIPITABLE POR UN ANTITOXICO SOLUBLE)

- A. Tierra adicionada de 0,25 por mil de fluoruro de cobre. Las raíces son cortas y gruesas. Hay plantas anormales como en el caso del carbonato de cobre.
Al cabo de treinta y cinco días (duración de todos los experimentos), se encuentran (en 9 plantas): 1 anormal, 2 con nudosidades y 6 sin nudosidades.
- B. Recibe 0,25 de fluoruro de cobre y 4 por mil de cal. Se corrigen las anomalías; raíces normales. Al final se obtienen 4 plantas con gruesas nudosidades. 4 con pequeñas nudosidades, 1 sin nudosidad.
- C. 0,50 por mil de fluoruro de cobre solo. Vegetación excelente. Formación de nudosidades.
- D. 0,50 de fluoruro de cobre y 4 por mil de cal. No hay diferencia respecto a C excepto que las raíces son más largas.
Se comprueba que el fluoruro de cobre en concentración de 0,25 a 0,50 por mil, con cal o sin ella, no tiene una influencia apreciable en la formación de las nudosidades.

CUARTO EXPERIMENTO (TOXICO SOLUBLE Y ANTITOXICO INSOLUBLE)

Con 0,50 por mil de HgCl_2 , las plantas mueren y no son preservadas por la adición de 4 por mil de cal.

Con 0,25 por mil, hay un retraso de siete días en la germinación. Las plantas son más débiles, las hojas pequeñas y manchadas de amarillo y verde oscuro, raíces muy reducidas. La adición de cal parece agravar la intoxicación.

Este experimento nos muestra que la cal no es antitóxica para HgCl en el caso de los frijoles.

QUINTO EXPERIMENTO (TOXICO Y ANTITOXICO INSOLUBLES)

Como los principales síntomas de intoxicación por el HgCl se traducen por anomalías clorofilianas, nos propusimos encontrar un antitóxico en uno de los elementos que interviene en la formación de la clorofilia: Fe, Mn, As y también azufre.

Una serie de macetas conteniendo todas 0,20 por mil de HgCl reciben los siguientes elementos (antitóxicos insolubles o casi insolubles):

- A. Recibe 0,10 por mil de azufre. Todas las plantas se desarrollaron mejor que las testigo, hojas normales. Al cabo de treinta y cinco días, se obtienen 50% con nudosidades y 50% sin nudosidades. Raíces de aspecto normal, pero de color amarillo sucio.
- B. Recibe 0,05 de azufre. Desarrollo de las plantas un poco inferior a las testigo, pero muy superior en relación con las plantas que recibieron HgCl solo en la misma dosis. Estas plantas tienen raíces de aspecto normal, pero con 0% de nudosidades.
- C. Recibe como antitóxico As_2O_3 en dosis de 0,05 por mil. Las plantas son un poco más pequeñas que las testigo, las hojas simples son también un poco más pequeñas y aún un poco manchadas. Las raíces son largas y sin nudosidades.
- D. 0,025 de As_2O_3 no preserva la intoxicación.
- E. Recibe como antitóxico 0,50 g por mil de MgO. Las plantas están en mal estado, sólo una presenta nudosidades.
- F. 1 por mil de Mg produce una mala vegetación.
- G. MnO_2 en dosis de 0,10 g por mil induce plantas más pequeñas que las testigo, pero las hojas ya no están manchadas; 0% de nudosidades.

- H. Con 0,05 por mil, plantas en mal estado.
- I. Con carbonato de hierro en dosis de 0,20 g y 0,10 por mil las plantas se presentan más intoxicadas que con el HgCl solo.

Este experimento nos muestra que la intoxicación de los frijoles por el HgCl a 0,20 por mil es absolutamente neutralizada por la adición de azufre a la dosis de 0,10 g por mil y que este binomio "tóxico-antitóxico" es nocivo para la formación de nudosidades; pero si la dosis de azufre es reducida a 0,05 por mil los frijoles se desarrollan menos que los testigo y sin nudosidades. Se desprende netamente que la relación $\frac{\text{HgCl}}{\text{S}}$, indiferente para los frijoles e insoportable para las bacterias^S de las nudosidades, debe encontrarse comprendida (para 0,20 por mil de HgCl) entre 0,10 y 0,05 por mil de azufre.

En un último experimento, buscamos precisar esa relación y nos dimos cuenta de la posibilidad de reemplazar el azufre por el anhídrido arsenioso o por el bióxido de manganeso en dosis convenientes.

SEXTO EXPERIMENTO

Cloruro de mercurio a 0,20 por mil más azufre, anhídrido arsenioso y bióxido de manganeso en diversas dosis.

- A. Se emplea como antitóxico As_2O_3 en dosis de 0,06 0,07 y 0,08 por mil. Todas las plantas presentan signos de intoxicación.
- B. Se utiliza MnO_2 como antitóxico en dosis de 0,12; 0,14 y 0,16 por mil. Con 0,12 y 0,14 por mil, se encuentran las plantas débiles pero menos intoxicadas que con el HgCl solo. Con 0,16 por mil, todas las plantas se quedan de altura promedio; la relación tóxico-antitóxico comienza a volverse tolerable.
- C. El antitóxico es azufre en dosis de 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 por mil.

En este experimento, se debía teóricamente encontrar la relación $\frac{\text{HgCl}}{\text{S}}$ a 0,20 por mil que resulte indiferente para los frijoles pero intolerable para las bacterias de las nudosidades.

He aquí los resultados:

Con 6;7 y 8 centigramos de azufre por kilogramo de tierra, las plantas se desarrollan bien, las hojas son normales, pero el tamaño de las plantas se queda ligeramente por debajo del de las testigo; en los tres casos, hay 0% de nudosidades. Las raíces son normales.

Con 9 centigramos de azufre por kilogramo, las plantas se desarrollan más que las testigo, y al final del experimento se encontraron solamente tres pequeñas nudosidades en la totalidad de las raíces⁹. La relación debe entonces estar comprendida entre 8 y 9 centigramos por kilogramo. Pero como estos experimentos confirman plenamente la teoría, era inútil tratar de encontrar la cifra exacta. El Cuadro N° 1 permite comparar las relaciones "tóxico-antitóxico" de los elementos químicos que permitieron obtener diferencias bien marcadas en su comportamiento frente al huésped y al parásito.

Hay que notar que, en el caso de las nudosidades de los frijoles, la infección solamente es impedida; una vez que las nudosidades se forman, no se obtiene su desaparición, por ejemplo mediante transplante de frijoles con nudosidades en la tierra mezclada con las proporciones de tóxico-antitóxico que impiden la formación de nudosidades. Notemos, además, que en el caso de $\text{HgCl} + \text{S}$, existe una relación intolerable para la formación de nudosidades, pero si se aumenta la cantidad de S, las nudosidades comienzan de nuevo a formarse.

CONCLUSIONES

1. La adición de 5 por mil de NaCl y 2;4 ó 6 por mil de Ca(OH)^2 a la tierra de cultivo constituye un complejo "tóxico-antitóxico" indiferente para las plantas de frijoles, pero que impide o disminuye (en número y en tamaño) la formación de nudosidades;

CUADRO N° 1. -Relaciones "Tóxico-antitóxico"

Tóxico + antitóxico		Relación para	
Tóxico	Antitóxico	Huésped	Parásito
NaCl 5 por mil	Ca(OH) ² 4 por mil	Favorable (óptimo) (ventajas sobre el testigo)	Nocivo (25% sin nudosidades)
NaCl 5 por mil	Ca(OH) ² 6 por mil	Favorable (mejor que el testigo)	Nocivo (58% sin nudosidades)
HgCl 0,20 por mil	S 0,10 por mil	Favorable (superiores a los testigo)	Nocivo (50% sin nudosidades)
HgCl 0,20 por mil	S 0,05 por mil	Casi indiferente (ligera desventaja en relación con los testigo)	Intolerable (0% de nudosidades)
HgCl 0,20 por mil	As ² O ³ 0,05 por mil	Casi indiferente (ligera desventaja en relación con los testigo)	Intolerable (0% de nudosidades)
HgCl 0,20 por mil	S 0,06-007 0,08 por mil	Casi indiferente (ligera desventaja en relación con los testigo)	Intolerable (0% de nudosidades)
HgCl 0,20 por mil	S 0,09 por mil	Favorable (superior a los testigo)	Casi intolerable

2. El complejo "tóxico-antitóxico" HgCl a 0,20 por mil más S a 0,08 por mil no es nocivo para la leguminosa, pero hace imposible la formación de nudosidades;
3. Es posible entonces neutralizar específicamente un tóxico por un antitóxico apropiado frente a una planta-huésped; el complejo "tóxico-antitóxico" permanece, sin embargo, tóxico para el parásito, haciendo así la infección imposible.

Laboratorio del Hospital de San José

NOTA

1. Investigaciones comenzadas nos autorizan a pensar que la relación "tóxico-antitóxico" es tan específica para los animales como para los microorganismos vegetales: levaduras, bacterias, etc.
2. El caso más demostrativo nos es proporcionado por la mezcla de veneno de serpiente + suero antiofídico, que aunque siendo neutro para los mamíferos, mata, sin embargo, los pájaros.
3. *De l' influence de la nutrition minérale sur le développement des nodosités des légumineuses. Recherches de biologie expérimentale appliquée á l' agriculture*, publicadas por Emile Laurent, 1, p. 343.

Picado Twight, Clodomiro. *Fermentation du café à l'aide de levures pures*. Nota de C. Picado, presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*. Vol. 95, p. 543. 1926.

FERMENTACION DEL CAFE USANDO LEVADURAS PURAS

El café, tal como se recibe en Europa, ha sufrido una serie de tratamientos previos y comprende las siguientes etapas: des-cerezado, fermentación, lavado y secado. La fermentación solo se hace en forma natural, y hasta ahora, no se ha tratado de hacer con ayuda de levaduras puras¹, y por consiguiente, el agua del lavado siempre es más o menos putrefacta y libera olores insoportables. Para solucionar esto, he realizado experimentos para fermentar el café usando levaduras puras, y se han obtenido los siguientes resultados:

1. Se reduce el tiempo que debe pasar el café en las pilas de fermentación.
2. Si se debe dejar el café en las pilas, los granos no se oscurecen como en el caso de si estuvieran en el agua pura.
3. Si se debe apilar el café húmedo, éste enmohece menos que en el caso del café que ha sido fermentado en forma natural.
4. El café tratado con diferentes levaduras: cerveza, vino de naranja, cáscara de café, etc., *ofrece diferentes calidades de color, olor y sabor*.
5. Así, se puede mejorar la calidad del café.
6. El agua del lavado y las pilas de fermentación no liberan los malos olores característicos de la fermentación natural.

Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica

NOTA

1. La fermentación del cacao también podría hacerse con ayuda de levaduras puras.

VACUNA CURATIVA NO ESPECIFICA

Se sabe que el efecto curativo de ciertas vacunas no es específico y los resultados terapéuticos favorables obtenidos por las inyecciones de peptona, de leche, lo mismo que por la auto-hemoterapia, abogan en favor de las vacunas curativas no específicas. Nos proponemos obtener una vacuna de este género reuniendo el mayor número de ventajas y el mínimo de inconvenientes.

A) Hechos anteriores: V. Bie¹ substituyó, con buenos resultados, la vacuna tífica por la vacuna estafilocócica en el tratamiento de las fiebres tifoideas.

H. Cohn² demostró que los conejos tratados con inyecciones de levaduras (*Torula*) proveen un suero rico en aglutininas contra el grupo tífico (Eberth, para A y para B). Sagastume-Guerello y Favoloro³ muestran que la inyección cotidiana de *Saccharomyces* evita la muerte del conejo inoculado en el peritoneo con el paratífico B.

En otro orden de investigaciones, L. E. Walbum⁴ constata que las inyecciones de cloruro de manganeso refuerzan no solamente la producción de antitoxina diftérica, sino también la de aglutinina anti-coli.

H. Schmidt⁵ vio aumentar los títulos de aglutininas antitíficas después de inyectar cloruro de manganeso. Este hecho fue confirmado por E. S. Horgan⁶.

Se sabe, por otro lado:

1. Que la inyección de levaduras salva palomas que por avitaminosis están destinadas a la muerte;

2. Que los aldehídos disminuyen el poder tóxico de los productos microbianos.

Era por tanto del todo indicado recurrir a las levaduras y sus productos de fermentación en un medio con manganeso, para obtener una vacuna atóxica, que no produjese ninguna reacción local, ni general, y que reuniese el máximo de ventajas.

B. Vacuna: utilizamos para esta vacuna una levadura de destilería, aislada por nosotros y que tiene una actividad y una atenuación notable a 40°. Esta levadura fue sembrada en jugo fresco de caña de azúcar adicionado de 10% de jugo de naranja. Se diluye con agua del tubo para obtener un mosto a 2° Beaumé (que contiene más o menos 4% de azúcares fermentables). Se esteriliza, se filtra y se agrega cloruro de manganeso en la proporción de 1 : 2000. Se esteriliza de nuevo y se siembra. Se deja fermentar a 25° hasta la desaparición de los azúcares. Se tapa con una campana y se deja 15 días en refrigeración (para provocar una autólisis parcial). Se agita un balón para tener una suspensión homogénea de las levaduras y se diluye con el líquido límpido, y bien sedimentado de otro balón similar, hasta la obtención de una emulsión que corresponde, en una escala opacimétrica, a la de la vacuna anti-estafilocócica del Instituto Pasteur. Se pone en ampolletas de 1 centímetro cúbico y se esteriliza 15 minutos a 50°C. Esta vacuna es empleada en dosis cotidianas de 1 centímetro cúbico en inyecciones sub-cutáneas en el adulto (5 centímetros cúbicos en inyecciones cotidianas no causaron ninguna reacción local, ni general). Esta vacuna ofrece las siguientes características:

1. Realiza una proteinoterapia no tóxica;
2. Aporta vitaminas;
3. Incluye aldehídos;
4. Encierra un catalizador mineral: cloruro de manganeso
5. Contiene cerca de 2% de alcohol etílico y también sales de los jugos vegetales empleados.

C. Resultados obtenidos: obtuvimos curaciones rápidas en un gran número de casos de forunculosis, ya generalizadas y resistentes al tratamiento de las vacunas sensibilizadas anti-estafilocócica y anti-estreptocócica, en numerosos casos de dermatitis y de blefaritis estafilocócicas, en un caso de chancro blando, en un caso de sprue, en un caso de fístula quirúrgica muy antigua, y, finalmente, en un caso de laringitis ulcerosa. Pero donde esta vacuna se mostró particularmente eficaz, fue en el tratamiento de la fiebre tifoidea y paratifoidea. Emprendimos, en colaboración con el Dr. S. Núñez (encargado del Ministerio de Salud Pública en Costa Rica), el tratamiento sistemático de todos los casos recientes, debidamente controlados en el laboratorio, que habíamos podido seguir en el Hospital. Los resultados, que sobrepasaron nuestras esperanzas, serán posteriormente publicados, pero, desde ahora, es conveniente comentar que obtuvimos a menudo la curación de los tíficos en la segunda semana, y teniendo 40°C de fiebre, con 3 y 6 inyecciones (1 centímetro cúbico por día), sin ningún otro tratamiento.

(Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica)

NOTAS

1. C.R. de la Soc. de Biol., 1926, t. 94 : 602.
2. Zeitschrift f. Hyg., 1925, 104 : 680.
3. C.R. de la Soc. de Biol., 1926, 94 : 479.
4. C.R. de la Soc. de Biol., 1921, 85 : 761
5. Centralbl f. Bakt., 195, 95 : 74.
6. Brit. Journ. Exper. Pathol., 1925, 6 : 108.

PARTICULARIDADES DE BIOLOGIA MEDICA CENTRAL AMERICANA

Nuestro país realiza un conjunto de condiciones que no son comparables a las de ningún otro. Las ciudades principales están situadas en una altiplanicie cuya altitud varía entre 1 000 a 1 700 metros sobre el nivel del mar y a una distancia menor de 200 kilómetros de cada uno de los dos océanos. A las condiciones de temperatura hay que añadir las de radiaciones actínicas y una regularidad inesperada en cuanto a presión atmosférica. Estas condiciones *sui géneris* tienen dos repercusiones importantes: una que se relaciona con la actividad bacteriana y la otra con los fenómenos bioquímicos de los animales superiores. En cuanto al hombre, las singularidades son de tanta mayor importancia cuanto que nuestra raza no está sino en vías de adaptación y que las condiciones del medio son tales que a veces excluyen toda posibilidad de adaptación; permítasenos citar el ejemplo de una especie: el cerezo, que jamás fructifica en los trópicos, y el de una raza: los "percherones" cuya piel, escasa en relación con la masa del caballo, no permite en el trópico los intercambios necesarios al mantenimiento de la vida.

I. LOS MICROORGANISMOS

A) **Las bacterias fijadoras de nitrógeno:** una de las características de nuestra exuberante vegetación tropical es que "se va en hojas" como dicen gráficamente los nativos y en cambio los frutos se hacen desear. Nuestros agricultores saben, además, que las siembras, para que tengan éxito, deben corres-

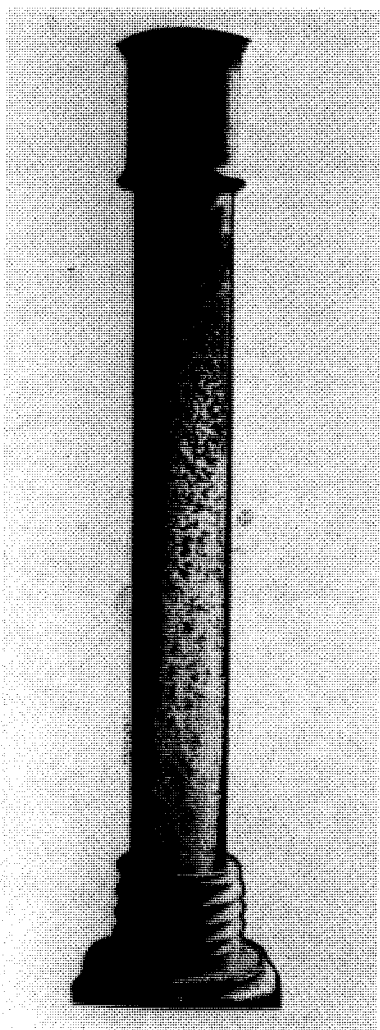


FIGURA N° 1.—Cultivo directo de jugo de piña.

ponder a las primeras lluvias de mayo. La explicación de estos hechos es la siguiente: nuestros suelos tienen una cantidad extraordinaria de anaerobias fijadoras de nitrógeno y cuya actividad merece especial mención, como lo hizo el Profesor Winogradsky del Instituto Pasteur de París, quien bondadosamente estudió las tierras que le enviamos. Durante toda la estación seca estas bacterias acumulan nitrógeno en el suelo; las lluvias torrenciales se encargan luego de lavarlo.

Henos, pues, en presencia de una primera particularidad bacteriana a cuya influencia está sometido el primer problema del hombre: su alimentación.

B) Los microbios de las frutas: estudiando lo que pudiéramos llamar flora bacteriana normal de las plantas, fui conducido a encontrar que gran número de nuestras frutas tropicales maduras: mangos (*Mangifera indica*), marañones (*Anacardium occidentale*) y las piñas (*Bromelia ananas*), no son otra cosa en su interior, que un cultivo bacteriano tan intenso como el de una leche agria. Estas bacterias no se encuentran en las frutas cortadas asépticamente, pero en los demás casos su presencia es constante, no solamente en este país sino en otros. En efecto, hace cuatro años tuvimos ocasión de estudiar en el laboratorio de M. Weinberg del Instituto Pasteur de París, piñas provenientes de las Canarias y otras de Jamaica y en ambos casos encontramos bacterias semejantes a las de nuestras frutas.

Las bacterias de las piñas merecen un párrafo aparte, que esperamos nos lo disculpe esta revista, en gracia a ser la primera vez que estos hechos se publican.

Estas bacterias, aisladas en cultivo puro y sembradas luego en jugo de piña esterilizado, comienzan por destruir los ácidos sin ataque intenso a los azúcares, contribuyendo en esta forma a mejorar su gusto. Todos sabemos, en efecto, que las piñas de color blanco porcelanoso son poco gratas al paladar y que, en cambio, las de aspecto vidrioso (cultivos bacterianos) tienen mejor sabor y aroma (falta relativa de ácidos y presencia de éteres y aldehídos). Las figuras adjuntas dan una idea de la población bacteriana en la pulpa de las frutas citadas.

Esta otra particularidad bacteriana tiene para nosotros una doble importancia: primera, el hacernos ingerir, fuera de nuestras cuentas, grandes cantidades de bacterias cuya influencia nos es totalmente desconocida. Segunda, el impedirnos elaborar vinos con los jugos frescos de estas frutas. A estos microbios se deben pérdidas considerables, pues su presencia en los mostos no era de presumirse siquiera.

C) La putrefacción cadavérica: muchos de los animales salvajes de Europa, si son muertos sin gran destrozo material, y se conservan al abrigo de las moscas, se desecan poco a poco hasta momificarse, pues en sus intestinos no se albergan las bacterias putrificantes que emigran al torrente circulatorio inmediatamente después de la muerte. El profesor Tissier nos mostraba en una de sus conferencias los cadáveres, así momificados, de liebres, halcones, etc.

En nuestro país jamás sucede esto, pues la superabundancia de bacterias en los alimentos, excluye una pobreza bacteriana intestinal y la putrefacción cadavérica comienza, por así decirse, al instante mismo de la muerte.

CH) El fagedenismo: la putrefacción *in vivo*, corre pareja con la putrefacción cadavérica y en cuanto la úlcera aparece, se instalan allí toda suerte de gérmenes, haciendo a veces imposible determinar la naturaleza de la lesión primitiva; es así, por ejemplo, que hasta el quinto año de trabajar en este laboratorio, pude ver leishmanias puras en nuestros casos de "papalomoyo" a pesar de haber publicado, desde 1914 nuestra creencia de que estas úlceras no eran otra cosa sino casos de leishmaniosis. En una práctica de 14 años sólo una vez he visto en estado predominante los bacilos de Ducrey. En todos los demás casos es de rigor la instalación de todo género de infecciones secundarias. Muchas de las bacterias aisladas por hemocultivo en nuestras fiebres tropicales, no deben ser consideradas como causa patológica sino como "microbios de salida" que no hacen sino repetir los casos clásicos de las bacterias de la fiebre amarilla o las del cólera del puerco.

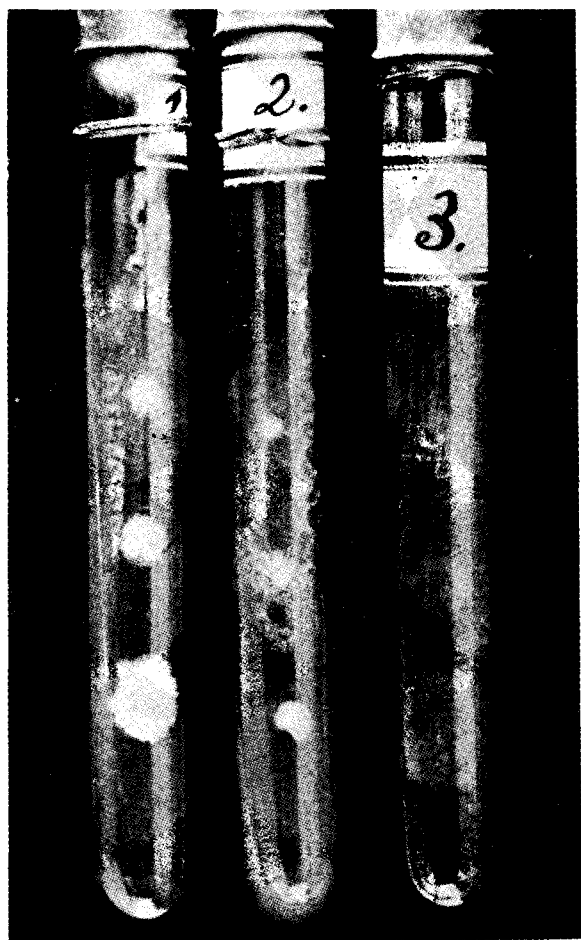


FIGURA N° 2.—Bacterias de frutas. 1) Anacardio, 2) Mango, 3) Piña.

D) **Palomas y vitaminas:** deseando saber si el arroz de Costa Rica provocaba más o menos prontamente que el arroz de Norte América la polineuritis avitamínica en palomas, sometimos a un régimen estricto de arroz pulido dos lotes de palomas, uno recibía arroz importado y otro arroz del país. Pasaban los meses y las aves continuaban engordando y en perfecta salud.



FIGURA N° 3.—Cultivo de 0,1 cm³ de pulpa de mango. — 4 días a 25° C.

Al cabo de seis meses les dimos libertad y pudieron volar perfectamente. Sabiendo cuán intensa es la vegetación de microbios en nuestro medio, sospechamos que el arroz que dábamos a las palomas contenía gérmenes capaces de suministrar la vitamina B. Los cultivos de arroz extranjero o del país (Figura N° 4) nos mostraron que los granos traen ya una provisión de hongos

de diversas especies. La coprocultura de palomas sometidas a un régimen exclusivo de arroz nos mostró que en el tubo digestivo del ave viven no solamente hongos sino también levaduras (Figura N° 5).

Parece oportuno indicar ahora que muy a menudo el examen de heces humanas revela la presencia de levaduras, habiendo entre ellas algunas ácido-resistentes que se coloran como bacilos de Koch. Hemos visto casos en que la bebida de "chicha" (agua azucarada y con jugos de frutas, o maíz germinado, fermentada al natural) es seguida de violentas fermentaciones intestinales y en estos casos las heces revelan abundantes levaduras. El criptargol de Lumière ha puesto todo en orden, pues bien sabida es la nocividad de las sales de plata para los hongos.

Estas observaciones a juicio nuestro, nos explican dos hechos: primero la gran abundancia de levaduras, provenientes de los alimentos, que se encuentran en el tubo digestivo y que han llevado hasta la creencia de atribuirles un papel patógeno bien determinado tal y como pasó con la "Sprue".

Bien al contrario, nosotros creemos que a la presencia abundante de estas levaduras debemos el hecho, notable en nuestra patología, de la rareza de enfermedades "por carencia" y de enfermos caquécticos en miseria fisiológica tal como se ven abundantemente en las regiones extratropicales. El vano intento de producir en nuestras palomas de experiencia la polineuritis avitaminica, es suficientemente ilustrativo.

E) Multiplicidad de paratíficos: desde hace más de 10 años llamamos la atención de nuestros médicos hacia el hecho de que la gran mayoría de nuestros enfermos atacados de fiebres tifomorfos no daban positiva la reacción de Widal ni con los bacilos de Eberth ni con los clásicos Para A. y Para B. Inútil es decir que entonces sucedió lo que era natural de esperar: se inculminó a las reacciones como mal hechas y se sostuvo que los enfermos padecían de tifoidea¹. Las publicaciones posteriores nos dieron razón y hoy es moneda corriente entre nosotros el que un enfermo atacado por estas paratíficas aberrantes, y tan

comunes entre nosotros, no dé ninguna reacción de aglutinación si no es con sus propios microbios. Esta variedad de paratíficos presenta para nosotros cuatro fases de gran interés práctico:

1. No debemos fiarnos de las reacciones de Widal negativas para el diagnóstico de estas fiebres.
2. No debemos contar con que el individuo atacado, aun varias veces, por los paratíficos quede inmune a estas infecciones.
3. Las vacunas no son útiles sino para las razas de microbios que entran en su composición.
4. La profilaxis de estas fiebres debe comprender no sólo al hombre sino a ciertos animales superiores capaces de servir como reserva de virus.

II. BIOQUIMICA

A) **Venenos de serpientes:** hemos llevado a cabo el estudio comparado de las características del veneno de nuestras serpientes y las que corresponden a sus homólogos de Sur América. Constatamos así, que el veneno de *Lachesis atrox* de nuestros ejemplares es 2,5 veces más tóxico que su homólogo del Brasil. En cuanto al veneno de *Crotalus terrificus* sucede lo contrario, es 10,5 veces menos tóxico que el de la misma especie en el Brasil, y, hecho más importante aun, ha perdido mucho de sus propiedades neurotóxicas y en cambio ha adquirido propiedades proteolíticas y hemorragíparas que lo acercan a los venenos de las otras especies de crótalos de Norte América². El Dr. Afranio do Amaral (Director del Antivenin Institute of America) discutiendo con nosotros estos hechos nos expresaba su opinión de que el cambio de régimen alimenticio implicaba un cambio en las propiedades del veneno. Nosotros creemos que esta sola influencia es insuficiente para explicar cambios tan radicales como los del veneno de nuestras "cascabelas" (*Crotalus*).

Para reforzar nuestra manera de creer citaremos el hecho siguiente: mantuvimos dos ejemplares de "terciopelo" (*Lachesis*

atrox) recién nacidas, por más de un año; una con sólo "lagartijas" (*Anolis*) y otra con sólo carne de buey. Ahora bien, el veneno de estos dos ejemplares conserva siempre, en ambos casos, sus características propias, si bien es cierto que las reacciones del veneno del ejemplar alimentado con *Anolis* son menos intensas y más tardías que las del veneno del ejemplar alimentado con carne de mamífero (la toxicidad fue ensayada en cobayo). En cambio el veneno de una de nuestras "corales" (*Elaps fulvius*), que no se nutren sino de otras serpientes, posee, en nuestros ejemplares, un marcado poder local, a diferencia de otros *Elaps*. No es, pues, sólo el régimen alimenticio lo que causa las variaciones.

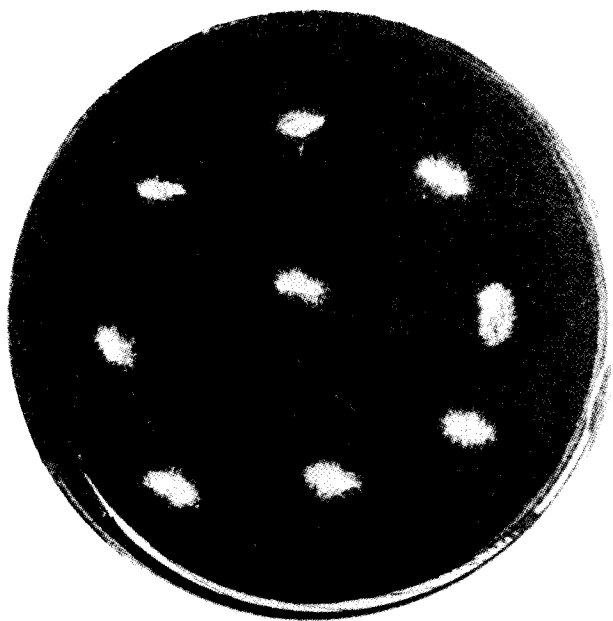


FIGURA N° 4.—Cultivo de arroz.

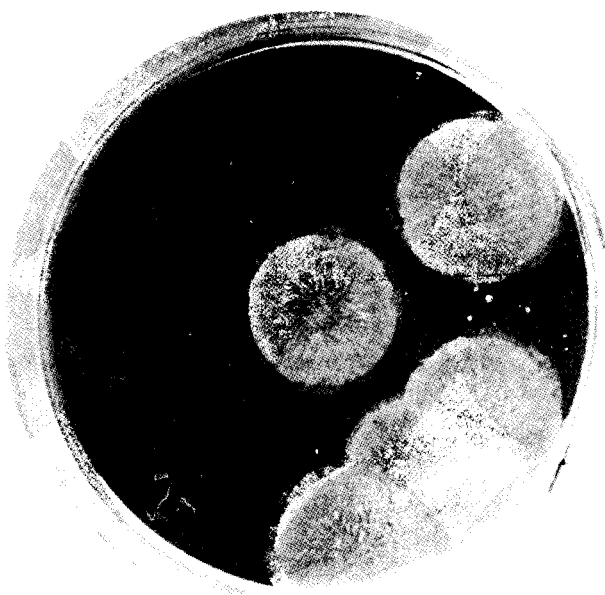


FIGURA N° 5.—Coprocultura de paloma alimentada exclusivamente con arroz.

B) Composición de la orina: la composición media de la orina de los habitantes de San José de Costa Rica fue determinada en 1915 por F. Sancho J.³ y obtuvo como normales las cifras siguientes:

	Gramos por mil
Urea	14,09
Fosfatos (P_2O_5)	1,09
Acido úrico	0,34
Sólidos	39,73
Sulfatos (SO_4H_2)	1,60
Cloruros (Na Cl)	9,31

Las cifras anteriores nos muestran una notable disminución en la urea, ácido úrico, y fosfatos, mientras que otros cuerpos, principalmente los cloruros, se mantienen muy cerca de los números clásicos. Muy probable es que el principal factor que influye en estas diferencias, es un régimen alimenticio pobre en proteínas, principalmente de origen animal. Retengamos, en todo caso, que no es posible juzgar de la salud de una persona ateniéndonos a las cifras normales de otras regiones.

C) Urea en la sangre: cuando estudiamos la cifra normal de urea en la orina, nos planteamos este problema:

Si la constante de Ambard no deja de ser constante en San José, la urea de la sangre debe también haber disminuido.

Si aquí llegásemos a tener 0,50 gramo de urea por mil en el suero sanguíneo, la constante sería de 0,12; sobrepasando en mucho la cifra normal y permitiendo un pronóstico desfavorable; en ese caso la fórmula sería:

$$0,12 = \frac{0,50}{\sqrt{21} \times \sqrt{\frac{14}{25}}}$$

Pero como los dosajes de urea en la sangre nos dieron números que variaron entre 0,10 por mil a 0,40 por mil, con 0,25 por mil como media normal, obtendríamos con las cifras normales de la orina y 0,27 por mil como urea en la sangre:

$$0,068 = \frac{0,27}{\sqrt{21} \times \sqrt{\frac{14}{25}}}$$

es decir, una constante normal o, dicho en otros términos: 0,27 por mil de urea en la sangre, entre nosotros equivale a 0,37 en un europeo. Para interpretar justamente el estado de una uremia más vale calcular la constante de Ambard en vez de atenerse a las solas cifras de urea en la sangre.

CH) **La reacción cítrica de Botelho:** hace ya tiempo que en colaboración con C. Víquez verificamos que la reacción cítrica de Botelho es prácticamente positiva en todos los sueros examinados. Como era imposible suponer canceroso a todo el mundo, y dada nuestra antigua experiencia sobre la urea sanguínea, sospeché que se trataba de una disminución de los albuminóideos de la sangre. Para verificar la hipótesis practiqué 5 dosajes de mezclas por partes iguales de 20 sueros cada vez, sea sobre un total de 100. Obtuvimos como residuo seco 8% en vez de 9, y como albuminóideo 7,5% en vez de 8. (Cada dosaje se practicó en 1 cm³ para el residuo seco y en 5 cm³ para la albúmina y las variaciones de dosajes fueron de centésimas). Esta pobreza nos explica las falsas reacciones cancerosas positivas, y el hecho es tanto más importante cuanto que es bien sabido que cada especie animal tiene cifras constantes de albúmina en el suero y que las variaciones de régimen alimenticio y aun la sustitución del suero sanguíneo por agua glucosada, son perfectamente ineptas para hacer variar la cantidad de albúmina, que en poco tiempo se restablece normal.

Esta anormalidad de la composición de la sangre, hace necesario que en todas las reacciones serológicas —Wassermann u otras—, los dosajes de reactivos deban hacerse en presencia del suero en examen, pues las técnicas, puestas a punto en los países extratropicales, pueden fallar entre nosotros debido a elementos intercurrentes aportados por el suero del paciente.

D) **Benignidad de enfermedades:** hay entre nosotros enfermedades que no existen por no haber sido aun introducidas, tal el quiste hidático, del cual hemos visto un solo caso correspondiente a un canario. La ausencia de rabia es más difícil de explicar dado que aún tenemos perros salvajes (*Canis latrans*) y que los perros de calle pululan en campos y ciudades. Otras enfermedades revisten un carácter benigno en extremo y ello se debe en parte a la calidad de las bacterias patógenas y en parte a las reacciones del medio. Citemos dos ejemplos: la difteria se presenta entre nosotros esporádicamente sin causar

grandes estragos y ello debido al escaso poder toxigénico de los bacilos. Nuestros microbios producen, al ser inoculados al caballo, la escara seca típica cuya aparición es impedida por el suero antidiftérico, pero, una vez solamente, hemos visto sucumbir al animal inyectado en 24 horas. En ese caso la causa parece inherente a la bacteria misma.

En cuanto a la tifoidea, se presenta muy benigna: pocas defunciones, duración media de un mes, en general sin complicaciones. Podemos decir que las verdaderas tifoideas causadas por el bacilo de Eberth, se presentaron entre nosotros después de la llegada de soldados provenientes de la gran guerra europea. A partir de entonces comenzaron a presentarse pequeños brotes epidémicos que pronto pasan. Dada nuestra multiplicidad de paratíficos, es verosímil suponer que en sus reiteradas infecciones al individuo y a la raza, hayan creado una relativa tolerancia pues dado el origen reciente de los bacilos creo que no debemos dudar de su virulencia.

E) Inestabilidad de las epidemias: la difteria, el sarampión, las paperas, la escarlatina, la meningitis cerebro-espinal, la influenza española y la tifoidea se presentan a veces entre nosotros y, dadas nuestras condiciones higiénicas, si hubiésemos de juzgar por lo que pasa en Europa, sería lógico afirmar que la población entera iba a ser diezmada, pero, a los pocos días, y sin que hayamos ganado muchos laureos por nuestros esfuerzos higiénicos, vemos que la epidemia iniciada desaparece como por encanto. Si comparamos estos hechos con otros que se observan en los grupos superiores de plantas y animales, tendríamos una explicación por el fenómeno de sustitución de unas especies por otras; las hierbas de un lugar pronto lo ceden a otras especies; los pájaros que habitan un valle, de pronto se van y en cambio se instalan allí especies que antes vivían en lugares lejanos. Hemos visto plagas de orugas, tan numerosas que parecían llover del cielo y que dejaban las plantas en esqueleto, desaparecer sin la intervención del hombre, gracias sólo a sus enemigos naturales. Hemos estudiado bacterias saprófitas que destruyen en el suelo las fitopatógenas⁴

y conocemos también hongos no parásitos que destruyen por sustitución, aun sin apelar a los bacteriófagos, nos daría la clave de lo temporario de nuestras epidemias.

Todo ello no sería sino una página de un magno capítulo de biología general: "*El Trópico Inestable*".

CONCLUSIONES

1. El conjunto de influencias propias a nuestros países, no sólo hace variar las especies bacterianas del suelo, las plantas y los animales, sino que altera su actividad vital.
2. Las reacciones humores de los animales superiores y del hombre no son comparables a las que se presentan en países extratropicales.
3. Para la justa interpretación de los análisis de laboratorio, se hace necesario establecer normas propias.
4. Para las reacciones serológicas —Wassermann, etc.—, es necesario hacer los dosajes en presencia del suero humano en examen.
5. Las variaciones de composición de nuestra sangre implican una variación correspondiente en las dosis de los medicamentos.

Trabajo del Laboratorio del Hospital de San José

NOTAS

1. El Prof. A. Castellani nos refería cuando visitó Costa Rica, que a él aconteció lo mismo en Ceilán.
2. Es de notarse que el suero anticrotático brasileiro neutraliza el veneno de nuestros ejemplares.
3. (*Anales del Hospital de San José*, vol. 1. p. 55).
4. (*Revue de Pathologie Végétale de France*. T. 11, 1924. p. 150).

TRATAMIENTO DIASTASICO DEL ENVENENAMIENTO COBRAICO EXPERIMENTAL

Se sabe que un contacto prolongado con la tripsina suprime, *in vitro*, el veneno de cobra. Si se le inocula a un animal la mezcla veneno + tripsina, la diastasa no tiene el tiempo de digerir el veneno cuya absorción es muy rápida. Buscamos un cuerpo capaz de precipitar el veneno, pero que fuera inactivo con respecto a la tripsina. La eosina, precipita el veneno de cobra y sin embargo deja intacta la tripsina. Si se inocula la mezcla veneno de cobra a la dosis mortal mínima + eosina a la dosis tolerada, el animal sucumbe, pero en un plazo mayor de tiempo que cuando sólo se inocula el veneno.

Aunque la inyección preliminar de sulfato de esparteína no preserva al animal contra una dosis mortal de veneno de cobra, al contrario de lo que pasa con el veneno de víbora¹, quisimos saber si el sulfato de esparteína sería capaz de hacer resistir el animal a la intoxicación con la mezcla: veneno + tripsina + eosina. Varios experimentos preliminares, hechos en el cobayo o el conejo, nos mostraron que así era, y que de esta forma se podía salvar animales inoculados, algunos minutos antes, con el veneno solo. Inyectamos en los músculos de la pata de un conejo de 2 kg, 1 mg de veneno de cobra disuelto en 0,5 centímetro cúbico de agua salada; 5 minutos después, hacemos a este animal, alrededor del punto de inyección del veneno, varias inyecciones de la siguiente mezcla: 0,02 g de eosina + 0,02 g de tripsina en un volumen de 2 centímetros cúbicos, y también, por vía intravenosa 0,02 g de sulfato de esparteína (ampollas de Poulenc).

El animal sobrevive, sin reacciones locales ni generales. Si la esparteína se inocula bajo la piel, el animal no sobrevive. Por

precaución, inyectamos a nuestros conejos de experimento, bajo la piel, los dos días siguientes 0,02 g de sulfato de esparteína. Estos animales, así tratados, sobrevivieron varios meses. Un conejo que recibió dos veces menos tripsina, es decir 0,01 g presentó problemas respiratorios, se repuso, pero al cabo de mes y medio, murió de un enflaquecimiento típico del envenenamiento cobraico crónico. Los conejos testigos, inoculados con 1 mg de veneno solo, murieron al cabo de una hora. La tripsina puede reemplazarse en forma ventajosa por la bromelina de la piña (precipitada con facilidad del jugo de fruta por saturación con el sulfato de magnesio).

El sulfato de esparteína no se puede reemplazar por el extracto de granos de *Simaba cedron*, aunque un cobayo, inyectado con 0,1 mg de extracto de alcohol desecado, pueda recibir, media hora después, sin inconveniente, una dosis mortal de veneno de cobra.

El mecanismo del tratamiento que acabamos de describir sería el siguiente: la eosina, precipitando el veneno, lo fija *in situ*, dejando a la diastasa el tiempo de atacarlo y de transformarlo en un nuevo cuerpo en donde el sulfato de esparteína puede prevenir los efectos tóxicos. Sería útil saber si, en el hombre, se puede aprovechar este procedimiento (esparteína o extracto de granos de *Simaba cedron*). Vale recalcar que esto sólo se recomienda en el caso de ausencia de sueros específicos y posterior a ligadura del miembro mordido. En todo caso, este procedimiento sólo sería útil en el caso de los accidentes ocasionados por los colúbridos cuyo veneno es neurotóxico y de acción local nula.

(Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica)

NOTAS

1. G. Billard C.R. de la Soc. de Biol., 1926, 94 : 650

USO DEL LATEX EN LA PESCA Y COMO VERMIFUGO

Dr. E. G. Nauck
Dr. C. Picado T

I. ENVENENAMIENTO DE PECES POR MEDIO DE LATEX

En casi todos los países se han utilizado las plantas venenosas en la pesca. Por medio de ellas el agua se envenena y los peces mueren inconscientes. Basta con moler las plantas y arrojarlas al agua. Esta adquiere un aspecto turbio lechoso, los peces comienzan a respirar, quedan inconscientes, emergen a la superficie y pueden ser capturados fácilmente. En el **Manual de las enfermedades tropicales**, de Menses, se encuentra referencia a un gran número de venenos vegetales que han sido utilizados en diferentes países tropicales para tal fin. Con base en la mayoría de los autores que se han ocupado del tema se supone que estas plantas contienen glucósidos, resinas o alcaloides como sustancias activas, que causan el envenenamiento de los peces aún en dosis mínimas y en gran dilución.

En América, este tipo de plantas se utilizan para la pesca ya desde la época precolombina por los indígenas. Debido a que la actividad pesquera generalmente se llevaba a cabo en fuertes corrientes provenientes de las montañas, requería de la participación de gran cantidad de personas, en ocasiones de toda la tribu, lo que daba a la pesca un carácter festivo. En el lugar escogido para la pesca, se acumulaban grandes cantidades de *barbazco* (con este nombre se denominan en Costa Rica todas aquellas plantas que sirven para la pesca, aunque botánicamente pertenecen a diferentes familias). Un grupo de indígenas tenía la tarea de formar represas en la parte baja, que servían para detener los peces, mientras que otros en la

parte superior del río y lejos de la represa, trituraban con piedras las plantas y las arrojaban al río. Durante este proceso, que algunas veces dura muchas horas, los peces pierden su sentido de orientación, quedan inconscientes y son arrastrados a la represa por medio de la corriente. Aquí son recolectados, repartidos entre los participantes y consumidos con gran cantidad de chicha.

Debido a que el uso de estas plantas venenosas aniquilaba los peces no solo en el lugar deseado sino en otras partes del curso río abajo, se destruyeron las plantaciones de barbazco existentes en Costa Rica. Sin embargo se tuvo la idea de emplear estas plantas para hacer cercas ya que, como era de suponer, de esta forma no iban a ser reconocidas por las autoridades. No obstante estas prohibiciones, se siguen utilizando hasta hoy en diferentes zonas del país, especialmente en la época de Semana Santa. En los periódicos se publican artículos sobre esta situación, pero nadie tiene interés en tomar decisiones para aplicar medidas al respecto. La consecuencia de todo ello ha sido que en muchas partes del curso de los ríos, que antes tenían riqueza en peces comestibles (por ejemplo los llamados "bobos" — *Yoturus pichardis*), hoy día están completamente "despobladas".

Entre las plantas que en Costa Rica se utilizan para la pesca, está el javillo (*Hura crepitans*), cuyo látex ha sido estudiado detalladamente por Richet. Sus observaciones condujeron al descubrimiento de una toxina que él denominó *crepitina*, cuyas propiedades han sido detalladamente descritas en un trabajo suyo, publicado en el "*Annales de L' Institut Pasteur*" (1909. vol. 23, p. 745).

Además se utilizan en Costa Rica otras euforbiáceas, las que, por sus jugos de aspecto lechoso, han sido denominadas popularmente "lechillas".

Nos pareció de interés determinar cuál sería la sustancia activa de las plantas utilizadas para la pesca aquí en el país: una toxina, una diatasa o venenos como glucósidos o alcaloides.

Por medio de experimentos comparativos preliminares realizados con látex de diferentes plantas nacionales, logramos determinar que ellas, en general, muestran un efecto similar. Escogimos para nuestros experimentos una euforbiácea, a la cual aquí se le denomina bitamo (*Pedilanthus* sp). Como objeto de la expe-

rimentación, se emplearon pequeños peces "olominas" (especies *Poecilia* y *Gambusia*), los cuales son relativamente resistentes contra el efecto del látex y además son fáciles de conseguir en grandes cantidades.

Efecto de látex fresco en agua

En diferentes recipientes se colocan 200 centímetros cúbicos de agua fresca de la cañería, a la cual se le agregan diferentes cantidades de látex (el jugo contiene 0,035 g de sustancia sólida por centímetro cúbico. En cada recipiente se colocan 2 peces. La muerte del pez ocurre para las diferentes diluciones en el tiempo que se indica a continuación:

DILUCION	TIEMPO
1/2 000	5 minutos
1/4 000	25 minutos
1/8 000	30 minutos
1/ 16 000	45 minutos
1/ 40 000	1: 45 horas
1/1000 000	5:00 horas

Inyecciones de látex fresco

En este experimento se utilizaron peces dorados (*Carassus auratus*). Un pez de 125 g muere a las 6 horas después de una inyección de 0,01 de látex puro. Después de una inyección de 0,001 la muerte ocurre al tercer día. Por el contrario mueren los peces en término de 20 minutos en agua que contiene látex en una dilución de 1/25 000.

En cobayos para que ocurra la muerte, la dosis en una inyección subcutánea debe aumentar hasta 0,3 centímetro cúbico.

Resultados histológicos

Los peces muertos por el látex no mostraron en la autopsia cambios marcados en los órganos. Una investigación histológica comparativa de todos los órganos no mostró fenómenos de

degeneración en los órganos parenquimatosos, ni tampoco alteraciones en el sistema nervioso, en los músculos o en los intestinos. Por el contrario, se encontró casi regularmente un ensanchamiento de los vasos y una hiperemia de las agallas, mientras que el epitelio de las láminas branquiales y el aparato opercular permanecieron intactos.

Efecto sobre las vías digestivas

Con el objeto de verificar un eventual efecto cuando se proporciona por la vía oral, se alimentó un perro con queso preparado de leche, la cual había sido cuajada con látex de bitamo (entre las diferentes diastasas del bitamo, se encuentra un fermento coagulante). No hubo cambios patológicos y el perro continuó con vida.

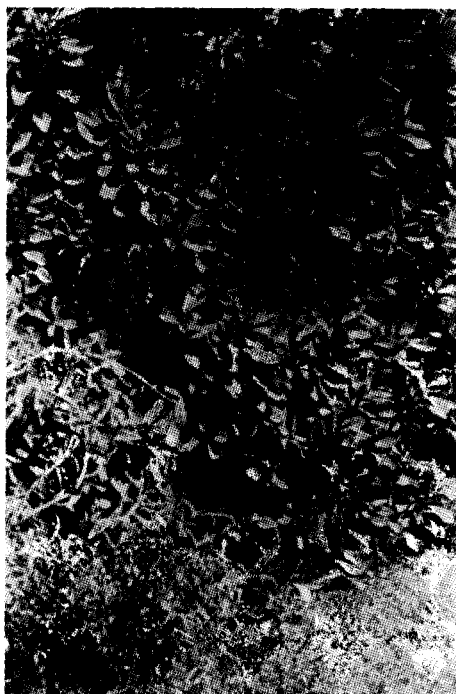


FIGURA N° 1.—Bitamo (*Pedilanthus* sp.).

Efectos de extractos alcohólicos

El látex se mezcla en partes iguales con alcohol absoluto, el precipitado se lava y se eliminan las sustancias que no son solubles ni en agua ni en alcohol. La solución acuosa, que debe contener las diastasas solubles y sustancias hipotéticamente venenosas, se mezcla otra vez con alcohol. El precipitado obtenido se centrifuga, se seca y se pulveriza.

Experimentos con peces dieron como resultado que aún en una dilución de 1/10 000 los peces en un lapso de 24 horas no morían.

Comparaciones con otras sustancias tóxicas

Si se compara el efecto de otras diastasas o toxinas en los mismos peces, se obtiene como resultado que, en una solución de papaína de 1/1 000, permanecen con vida. Al utilizar venenos de serpientes (*Lachesis atrox* - la clase de serpiente más venenosa de América) los peces permanecen con vida por 10 horas en una dilución de 1/40 000.

Por lo tanto, parece poco probable que la muerte ocurra por el látex a causa de diastasas o toxinas, aún más cuando se ha demostrado que las inyecciones actúan en forma mucho menos tóxica que cuando el látex está disuelto en agua.

Los tipos de látex, al igual que muchos otros materiales vegetales contienen fuertes hemoaglutininas. Para determinar si las hemoaglutininas como tales pueden ocasionar la muerte, inyectamos a un conejillo el jugo de una patata (1 centímetro cúbico), la cual como es conocido posee, aún en fuerte dilución, propiedades aglutinantes. El conejillo no mostró ningún cambio patológico y la sangre que le fue extraída una hora después, se comportó completamente normal en relación con la coagulación sin dejar huellas de hemoaglutininas. Por otra parte permanecieron con vida los peces que se colocaron en agua con jugo de papas, con papaína o con una solución débil de jabón de oliva, así como cuando éstas tres sustancias fueron mezcladas para producir una síntesis artificial de las tres diferentes sustancias activas: hemoaglutininas + diastasas + sustancias irritantes. Co-

nejillos a los cuales se les inyectó 0,05 centímetro cúbico de látex por la vía intravenosa, murieron después de 10 a 14 días, probablemente el tiempo en el que ciertas toxinas contenidas en el látex se vuelven activas, pero que no tienen nada que ver con el mecanismo de muerte de los peces.

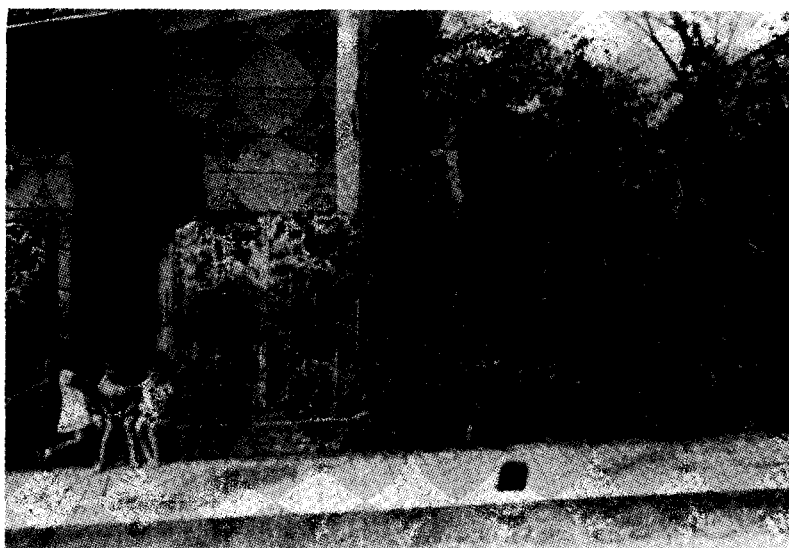


FIGURA N° 2.—Cerca de arbustos de barbazco frente a una casa en San José.

Efecto de sustancias gomosas solubles en alcohol

En una serie de ensayos se examinó el efecto de las sustancias gomosas solubles en alcohol. Nosotros obtuvimos una solución alcohólica al 10%, la cual en una dilución que correspondería a una solución de 1/10 000 de látex puro en agua, mata a los peces en término de 30 minutos. Peces de control, los cuales fueron sometidos en una solución alcohólica de 1/1 000, permanecieron con vida.

Los resultados de los experimentos hasta ahora obtenidos señalan dos posibilidades:

1. Que las sustancias gomosas como sustancias tóxicas matan los peces por efecto acumulativo.
2. Que el agua es transformada de tal forma que no es apta para la respiración branquial de los peces.

Influencia del volumen total del líquido sobre el efecto del látex

Si se tratara de un efecto acumulativo por la recepción continua de sustancias tóxicas provenientes del agua circundante, para igual número de peces debería aumentar la intensidad del efecto al aumentar la cantidad de líquido. En experimentos que realizamos para aclarar esta pregunta, se mostró que en concentraciones iguales la muerte ocurre, más rápido entre más pequeña es la cantidad de líquido (al contrario de los resultados que se obtuvieron para sustancias coloidales tóxicas por ejemplo para Electrargol).

Influencia del tiempo de efecto

En otros ensayos utilizamos una solución 1/20 000 (200 centímetros cúbicos) de látex, la cual mataba nuestros peces en término de 1 hora. Procedimos de la siguiente forma: los peces se mantuvieron tiempos diferentes en el medio indicado, así; fueron sacados después de 5, 10, 20 y 30 minutos y trasladados a agua pura. Ninguno de esos peces muere de lo que se concluye que en ese tiempo no había ocurrido la absorción de sustancias tóxicas.

Comparación con otras especies de látex

En experimentos posteriores examinamos en los mismos peces el efecto de otras especies de látex y sustancias gomosas, las cuales poseen un efecto irritante y cauterizante como el látex del bitamo que causa fuerte irritación en las membranas mucosas y en la piel, infecciones y formación de ampollas, aún en casos donde no se llevó a cabo un contacto directo, sino bajo el efecto de vapores durante la evaporación del látex.

Los mismos fenómenos fueron observados por Richet en *Hura crepitans*.

Una especie de látex no irritante la obtuvimos del caimito, fruta comestible (*Chrysophyllum*) y como goma no irritante obtuvimos una solución alcohólica de benjuí. El látex del caimito en soluciones de 1/1 000 y benjuí de 1/4 000 no ocasionan ningún daño perceptible en los peces.

Destilación de las sustancias activas

Dispusimos realizar el experimento de destilar las sustancias activas e irritantes. Se comprobó que el destilado en una dilución de 1/3 000 aniquila los peces en pocas horas, pero en una dilución 1/50 000 los peces sobreviven. El residuo de la destilación en una dilución 1/50 000 aniquila los peces en 18 horas.

De lo anterior se deduce que los principios activos no son sustancias volátiles. Si obtenemos un extracto alcohólico y lo secamos, redisolvemos el residuo en éter y después de haberlo secado otra vez lo ponemos en alcohol, resulta que unas pocas gotas de esta solución enturbian el agua dándole un aspecto lechoso y matan los peces aún en alta dilución (1 centímetro cúbico de látex produce 0,018 g). Si el destilado y el residuo que queda en el matrax de destilación se mezclan de nuevo, resulta entonces que esta mezcla es más tóxica que cada uno de los componentes por separado.

Efecto del látex sobre larvas de *Culex* y de *Chironomus*

Para observar el efecto del látex sobre seres vivos que viven en el agua pero respiran aire y simultáneamente sobre seres vivos similares con respiración acuática, se pusieron en la misma solución larvas de *Culex* y de *Chironomus*. Los primeros viven permanentemente en el agua, pero poseen dispositivos que les permiten respirar aire de la superficie del agua, mientras que las larvas de *Chironomus* respiran en el agua. Como resultado se obtuvo que las larvas de *Chironomus* murieron después

de 14 horas mientras que las de *Culex* se mantenían con vida después de 48 horas en la misma solución.

Todos estos hechos hablan en favor de que los peces, ante el efecto del látex examinado por nosotros, no perecen a causa del mismo mecanismo como en el caso de un envenenamiento con glucósidos o alcaloides. Tampoco se trata de un efecto puramente de toxinas. El hecho de que, por lo menos en esa especie de peces, la muerte tardó más en ocurrir entre más pequeña era la cantidad de látex suministrada al agua, parece demostrar que tampoco sucede una simple asfixia. Si quisiéramos comparar este fenómeno con el mecanismo de muerte de seres superiores, entonces tendríamos que suponer que tal vez se trata de un proceso similar al del envenenamiento por el efecto de la aspiración de gases irritantes venenosos conjuntamente con aire.

II. EL LATEX Y LA EXPULSION DE PARASITOS (GUSANOS)

En Brasil, Colombia, América Central y México, se utiliza desde hace mucho tiempo el látex de algunas especies de *Ficus* para expulsar gusanos parásitos. Es muy probable que este efecto haya sido ya conocido por los indígenas, quienes ingirieron algunas especies de látex como alimento y supuestamente les llamó la atención la expulsión de parásitos intestinales por lo que finalmente utilizaron el jugo vegetal como medicamento.

Nosotros creímos poder suponer que el mecanismo de eliminación de los parásitos intestinales se basaba en procesos parecidos a los que provocan la muerte de los peces, con la diferencia de que tal vez algunas especies de látex son más eficaces para peces y otras para parásitos. Por esta razón decidimos realizar algunos ensayos *in vitro* utilizando el vermífugo (especial para *Trichocephalus*) empleado aquí en Costa Rica: higuieron blanco (*Ficus* sp.). Con este propósito utilizamos áscaris que fueron encontrados en la autopsia de personas a quienes se les practicó ésta poco tiempo después de su fallecimiento y que nunca habían recibido ningún tratamiento contra parásitos.

Utilizando el mismo látex (bitamo) que habíamos empleado en nuestros experimentos con peces, observamos que en una dilución de 1/1 000 (37°C) la muerte de los áscaris ocurría a las 24 horas mientras que la muestra control permanecía con vida.

El látex de *Ficus* parece no ejercer ningún efecto considerable sobre los peces. Al contrario en los áscaris pudimos determinar que, en una dilución de 1/1 000, el movimiento cesaba ya después de 1 hora y 37 minutos; 24 horas después estaban completamente deshechos ya que esa especie de *Ficus* contiene diastasas proteolíticas muy activas.

Para determinar si también en áscaris el control principal en el mecanismo de efecto se le puede achacar a sustancias gomosas solventes en alcohol, preparamos soluciones alcohólicas que correspondían a diluciones de 1/1 000. Ahí se demostró que en esa solución los áscaris mueren más o menos en el mismo tiempo pero no había ningún signo de descomposición. Por lo anterior es de suponer que los componentes activos de las especies de látex usadas tanto en la pesca como en la cura de parásitos están en las sustancias gomosas solubles en alcohol y ocasionantes de irritaciones.

En el caso del látex de la especie *Ficus*, el efecto irritante sobre la mucosa de los intestinos es poco. A una gata le suministramos por medio de una sonda la cantidad de 10 centímetros cúbicos diarios durante 3 días seguidos. La autopsia de la gata, sacrificada al cuarto día, mostró que no había ningún cambio en la mucosa intestinal. Tampoco se determinó en los exámenes histológicos realizados un efecto tóxico de los órganos internos.

La función de investigaciones posteriores deberá ser la preparación de soluciones alcohólicas de diferentes especies de látex, las cuales en lo posible en gran dilución con fuerte efecto parasitrópico posean poco efecto irritante.

Picado Twilight, Clodomiro. *Nouvelle réaction serologique pour le paludisme*. Nota de C. Picado presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*. 100 : 479-481, 1929.

NUEVA REACCION SEROLOGICA CONTRA EL PALUDISMO

Si se practican reacciones de fijación con la técnica Hecht-Weinberg (utilizando glóbulos de conejo en vez de los de corde-ro, y adicionando una hora después y a 37°, la mitad de la cantidad de emulsión globular capaz de ser lisada); si, al mismo tiempo que el antígeno de Bordet-Ruelens, se utiliza, en otra serie paralela, una solución reciente de sacarosa a 10% en el agua destilada, duplicada en su volumen por agua salada a 9 por mil, a las dosis de 0,1-0,2-0,3 centímetro cúbico, como si se tratara de un antígeno para la reacción de Wassermann, se está frente a una concordancia de reacciones o a su clara disociación.

Las reacciones muy positivas con la sacarosa y negativas al Hecht-Weinberg, parecen evidenciar un estado de parasitismo de origen animal, siendo el paludismo la afección con mayor cantidad de reacciones positivas. La ausencia de kala-azar y de tripanosomiasis en nuestras regiones me han impedido estudiar las reacciones que producirían, las que supongo, serían positivas.

Hemos estudiado en nuestro hospital 743 casos: en cada uno de ellos se ha tomado en cuenta la enfermedad actual, el paludismo anterior, la temperatura en el momento de la toma de sangre y también el tratamiento posterior. Estos casos pueden clasificarse en la siguiente forma.

A) Negativos al Hecht y a la sacarosa: 387 casos, de los cuales 367 no tienen antecedentes palúdicos, 16 con paludismo en tratamiento con quinina o con plasmoquina y 4 con paludismo no tratado (1,10%).

B) Positivos al Hecht y negativos a la sacarosa: 108 casos, de los cuales 100 sin antecedentes palúdicos y 8 con paludismo.

C) Positivos al Hecht y a la sacarosa: 159 casos, de los cuales 99 sin paludismo (sífilis probable) y 60 con paludismo —9 sin ningún tratamiento, 11 fueron tratados con quinina y 40 con plasmoquina (37%)—.

D) Positivos a la sacarosa y negativos al Hecht: 89 casos, de los cuales 20=+++ (17 con paludismo, 2 con antecedentes y 1 caso de infección por anquilostomas y ascáridos); 26=++ (13 con paludismo, 6 con parásitos intestinales: amebas, anquilostomas, y 7 con otras enfermedades); 43=+ (4 con paludismo, 4 con antecedentes palúdicos, 19 con parásitos intestinales: amebas, anquilostomas y 16 con otras enfermedades).

La fiebre no parece tener influencia en la reacción, pues se encuentran reacciones muy positivas en los enfermos con temperatura normal (37°) y reacciones negativas en sujetos con fiebre (40°).

El tratamiento con quinina o con plasmoquina hace negativas las reacciones positivas. A veces, hemos visto persistir un Hecht positivo luego de una reacción a la sacarosa negativa, y en este caso, pudimos apreciar que el Hecht a su vez se vuelve negativo, luego de un tratamiento con neo-salvarsán.

El siguiente caso es particularmente demostrativo X.A., empleado de nuestro hospital, da un Hecht negativo y una reacción muy positiva a la sacarosa. El se cree curado de un paludismo adquirido hacía 8 meses, tratado con inyecciones de quinoformo. Al cabo de algunas semanas le aparece fiebre y se constata en su sangre la presencia de hematozoarios. Tratado alternativamente con quinina y con plasmoquina, parece curado y su reacción es entonces negativa. Algún tiempo después, este joven contrae la sífilis y en este momento la reacción de Hecht es muy positiva y la reacción a la sacarosa muy negativa.

CONCLUSIONES

1. Una reacción a la sacarosa muy positiva, con Hecht negativo, es un índice casi seguro de un paludismo no curado.
2. En presencia de un Hecht muy positivo y de una reacción a la sacarosa muy positiva, se deben disociar las reacciones con un tratamiento de prueba con quinina o con novarsenobenzol.
3. Se deben emplear en la reacción glóbulos de conejo, pues con glóbulos de cordero, los resultados son diferentes.

(Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica)

Picado Twight, Clodomiro. *Propriétés antigéniques différentes des sérums d'animaux jeunes et des sérums d'animaux âgés*. Nota de C. Picado, presentada por M. Weinberg. **Comptes Rendus de la Société de Biologie**. 102 : 631-633, 1929.

PROPIEDADES ANTIGENICAS DIFERENTES DE LOS SUEROS DE ANIMALES JOVENES Y DE LOS SUEROS DE ANIMALES VIEJOS

Varios autores (Carrel, Kotsovsky, Noyes, Folk y Baumann, Lipschütz, A. Lumière y R. Grange) han mostrado que la sangre del animal viejo posee propiedades diferentes a las del animal joven. Pudimos constatar que esta diferencia es a veces tan marcada que la coagulación del suero de viejo se obtiene a menudo por calentamiento a 55-56°. Pensando que el suero de animal viejo debía gozar de propiedades antigénicas diferentes a las del animal joven, realizamos las siguientes investigaciones.

I.-Suero de niño y suero de anciano usados como antígenos heterólogos: un conejo macho recibe inicialmente por vía intravenosa e intraperitoneal, luego por vía subcutánea, inyecciones de suero de niño (varones de 7 a 10 años). Las inyecciones se aplican cada ocho días durante dos meses y medio. Otro conejo macho, de igual peso, es tratado de igual manera pero empleando suero de anciano (62 a 76 años). Como es lógico, los sueros de los dos conejos así tratados precipitan todo suero humano, pero cada uno de ellos hace flocular más claramente el suero de edad correspondiente al de los donantes de suero. La mejor forma de poner este hecho en evidencia es el mezclar, a partes iguales, sueros de niño y sueros de anciano (vale decir que se toman de otras personas y no de aquellas cuyo suero sirvió para inmunizar a los conejos). Cada mezcla bien clara se mezcla con el suero precipitante conejo anti-joven y conejo anti-viejo. Se deja 24 horas en refrigeración, luego 2 horas a 37°. La afinidad de las precipitinas es entonces muy clara. También tratamos de practicar la desviación del complemento, pero los resultados, aunque concordantes, son menos evi-

dentes. En todo caso, estos experimentos muestran que se puede obtener hetero-anticuerpos selectivos por la edad del suero antígeno. Nattan-Larrier y Lépine han mostrado que el suero precipitante caballo anti-hombre precipita más claramente la sangre de la madre que la del recién nacido, y, puesto que el caballo debió haber sido preparado con suero de adulto, se debe interpretar este resultado como debido a precipitinas selectivas por la edad del donante.

II.—Iso-anticuerpos de vejez: existen pocos experimentos sobre la formación de iso-hemolisinas, pero parece que se han podido observar en la cabra y el puerco. Otros hechos parecen probar que existe formación de iso-anticuerpos bajo ciertas circunstancias.

Es así como Fibiger y Möller verificaron que, si se inmunizan ratas con piel embrionaria de la misma especie, se obtienen animales más refractarios a las metástasis del cáncer de alquitrán provocado en ellas. Zernoff muestra que si se inyectan orugas *Galleria* con sangre de orugas normales, se llega a menudo a vacunar, no específicamente, estos insectos, contra dosis mortales de ciertos microbios patógenos para la larva. Los fermentos de defensa de Abderhalden no serían, en suma, más que iso-anticuerpos más o menos específicos.

Tratamos de obtener en el conejo isohemolisinas o isoprecipitinas experimentales, que pudieran compararse a las heteroprecipitinas de vejez de las cuales acabamos de hablar. Tres conejos, un macho y dos hembras, de 1 kg cada uno, fueron inyectados por vía intraperitoneal, cada semana y durante seis meses, con sangre citratada total de conejos viejos machos, cambiando el donante en cada inyección. El suero de los animales así tratados mostró los siguientes hechos:

1. No hay formación de isohemolisinas, independientemente de la edad y del sexo de los animales;
2. El suero de cada uno de los animales tratados precipita el suero de cada uno de los otros tres conejos viejos, machos o hembras, que nunca habían sido donantes;
3. Estos sueros son inactivos con respecto al suero de conejos jóvenes;

4. Los sueros de los animales precipitados por el inmuno-suero experimental no precipitan si se les mezcla con el suero de otros tres conejos testigos, de la misma edad que los inyectados.

Es entonces posible observar *in vitro*, la formación, en los jóvenes animales, de anticuerpos contra la sangre de animales viejos de la misma especie.

(Laboratorio del Hospital San Juan de Dios. San José, Costa Rica)

EFFECTOS DE LAS INYECCIONES DE SUERO HOMOLOGO EN EL CRECIMIENTO DE ANIMALES JOVENES

Constatamos desde el principio que las inyecciones de suero de conejo viejo, hembra o macho, que se practicaron a intervalos de 8 días, en conejos jóvenes, fueron seguidas de una clara aceleración en el crecimiento de los animales inyectados. Esta aceleración fue menos evidente cuando las inyecciones se aplicaron cada 15 días.

Estudiamos luego la influencia de la edad, del sexo, y de la raza del donante sobre los conejos jóvenes en proceso de crecimiento, abocándonos a las gallináceas, en las que las condiciones de aparición de los caracteres sexuales secundarios han sido ampliamente estudiadas por Pézard. A cuatro series de pollos Leghorn, de dos meses de edad, se les aplicó:

- a) suero de pollo de la misma edad;
- b) suero de gallo de la misma raza;
- c) suero de gallina de la misma raza;

La cuarta serie sirvió de testigo.

Las inyecciones, subcutáneas, fueron aplicadas cada 8 días en una dosis de 1 centímetro cúbico. Esto fue seguido de un aumento en el tamaño y el peso de los animales tratados, sobre todo los que fueron tratados con suero de gallina. El crecimiento de las pollitas fue más evidente cuando se les aplicó suero de gallo; es entonces útil para este propósito aplicar suero del sexo opuesto. El suero de gallo castrado es a la vez menos activo para los machos y más efectivo en las hembras. Además, la mitad de los pollos mantienen cresta y barbilla reducidas, lo que muestra que el suero de capón guarda sustancias activas antagonistas de las hormonas orquíticas.

Continuamos con nuestras investigaciones usando como donantes de suero, variedades de gallinas enanas y como receptores pollos White Leghorn cuyos tamaños, las mudas de plumaje y la precocidad sexual asemejan a las de las variedades enanas. Además, se usaron pollos Barred Plymouth Rock que tienen patas largas, un cráneo estrecho y alargado, un plumaje definitivo y en donde la madurez sexual aparece en forma tardía. Los primeros no fueron influenciados por el tratamiento. En los segundos, al contrario, observamos un retraso en el crecimiento; pero el plumaje definitivo y la pubertad aparecieron más temprano que en los que sirvieron de testigos.

En el transcurso de nuestros trabajos, pudimos observar otras pruebas que resumimos a continuación. Los pollos de la misma raza tratados con suero de sexo opuesto, fueron los que tuvieron un mayor crecimiento inicial, pero el tamaño definitivo adquirido por estos animales es siempre menor al de los testigos o al de los animales tratados con suero del mismo sexo.

El tratamiento con suero de macho sobre las parejas reproductoras parece influenciar la descendencia, en el sentido de un aumento en el número de hembras, mientras que el tratamiento con suero de hembra parece no tener ninguna influencia en el sexo de la descendencia.

(Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica)

INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO SERICO HOMOLOGO SOBRE EL DETERMINISMO SEXUAL DE LA PROLE

MODIFICACION EXPERIMENTAL DEL SEXO EN EL INDIVIDUO

En estas líneas vamos a omitir considerar si el hermafroditismo es primitivo o secundario, pues nos basta saber que en algunos animales superiores y ya adultos se ha conservado el germen latente del otro sexo y que si en un momento dado ponemos en libertad este germen, por supresión de las secreciones que inhiben su desarrollo, puede llegar a desarrollarse y funcionar, cambiando el sexo del individuo.

Crew pudo observar una gallina de tres años y medio que habiendo sido una buena ponedora, deja luego de poner y comienza poco a poco a vestir plumaje de gallo. Cresta, barbas y espuelas crecen, comienza a cantar como gallo y a combatir con los otros gallos, a la vez que cubre las gallinas. El animal, llamémoslo "Neo-Gallo", es aislado con gallinas de su misma raza que ponían huevos infértiles y que a partir de ese entonces, dan huevos fecundos, incubando los cuales se obtienen dos pollos que viven. En el líquido cloacal de las hembras, fueron además constatados los espermatozoides vivos. A la autopsia, el animal muestra el ovario destruido por infección tuberculosa y en su centro una masa testicular, lo mismo que la glándula sexual rudimentaria derecha, que evolucionó en forma testicular. En las palomas han sido citados casos similares.

Caridroit, (en 1929 en el XIII Congreso Internacional de Fisiología celebrado en Estados Unidos), estudia la *"Evolución de la gónada derecha en la gallina doméstica después de ovariectomía"*. Una vez realizada la operación, el animal adquiere

re plumaje de gallo, el cual corresponde al tipo neutro, pero, frecuentemente el animal queda poco tiempo como neutro pues la gónada derecha se desarrolla dando a veces un testículo (en el cual el autor ha constatado la espermatogénesis) y entonces la cresta y las barbas crecen como en un gallo. En otras ocasiones la gónada derecha comienza por ser un testículo y el animal (Gallina Leghorn dorada, ovariotorizada a los 6 meses) toma aspecto de gallo durante dos años, luego, en el último año, adquiere el plumaje de gallina aunque conserva cresta de gallo. La autopsia reveló un "ovario-testis" a la derecha y ninguna glándula sexual izquierda.

K. Ponse, realizando precozmente la castración en sapos machos, ha visto que el "órgano de Bidder" se desarrolla dando un ovario, a la vez que los canales evacuadores se ensanchan. Al cabo de tres años los animales se han convertido en hembras que ponen huevos fecundables y que dan nacimiento a renacuajos semejantes a los normales.

Para los aferrados a la idea cromosómica del sexo, los pollos observados por Crew no tienen padre, sino madre A y madre B y los renacuajos de Ponse carecerían de madre, no teniendo sino padre X y padre Y. Así resulta que los machos ponen huevos y las hembras fecundan a las otras, pero la teoría del cromosoma X queda incólume.

MODIFICACION EXPERIMENTAL DEL SEXO EN LA PROLE

En cuanto a la influencia experimental sobre el determinismo sexual de los hijos, las tentativas pueden dividirse en tres grupos:

- a) Los que han tomado en cuenta sólo a la hembra;
- b) los que han tratado lotes de ambos sexos, y
- c) los que han tratado solamente a los machos.

a) Robinson ha deducido que las inyecciones de adrenalina hechas a cobayos hembras en los comienzos de la gestación, aumentarían el número de machos. Russo inyecta

conejas con lecitina y obtiene 26 machos por 40 hembras en el lote tratado, mientras en un lote testigo comparable obtiene al mismo tiempo 36 machos y 29 hembras. Según el autor, las inyecciones de lecitina fomentarían la producción de ciertos óvulos que dan las hembras.

Uhlmann, en conejos, después de controlar el porcentaje de machos y de hembras, así como el número habitual de fetos, trata las hembras con hormona ovárica y el resultado es que el número de hijos disminuye y las hembras predominan. Si aumenta la dosis de hormonas femeninas, el aumento de hembras es mayor y los machos son más pequeños y débiles y a menudo nacen muertos.

Vogt esteriliza temporariamente cobayos por inyecciones de insulina, los hijos que nacen luego, son hembras en su mayoría. El autor agrega que el caso es comparable a lo que sucede después de tiempos de carestía.

En lo que respecta al hombre hay algunos hechos que parecen reforzar estas ideas: en Inglaterra después de 1918 el número de hijos masculinos aumentó en 2%. Por otra parte, las madres jóvenes, fuertes y bien nutridas, dan 120 machos por 100 hembras, mientras que las mujeres de más de 40 años dan 85 machos por 100 hembras (cifras de Rostand).

Dulzetto contra Pighini dice haber obtenido un aumento del porcentaje de hembras en ratas blancas inyectadas con extracto tiróideo.

Gostimirovic ha tratado las hembras de ratón blanco con hormonas ováricas ("Follikulin-Menformon") y cuando las dosis fueron altas 0,5 "unidades Ratón" el porcentaje de machos aumentó, obteniendo 57% de machos en vez de 52% que dieron los testigos, pero si tomamos en cuenta el promedio de fetos por cada parte, notamos que mientras en los testigos este promedio es de 5,31, en el lote tratado no es sino de 4,98, parece, pues, que en este caso, como en los arriba citados, hay que tomar en cuenta la disminución de hijos, que en este caso, a diferencia de los anteriores, se hizo a costa de las hembras.

En los casos en que la fecundación se opera fuera del cuerpo maternal, se ha influido directamente sobre los óvulos y es así que King ha obtenido, deshidratando los óvulos de rana,

antes de la fecundación, un aumento de hembras: 60 a 72% en vez de 50 a 52%, tal y como dicen los piscicultores que actúan para obtener mayor número de peces hembras en las fecundaciones artificiales.

b) Las experiencias que por su cuidado y número han sido llevadas a cabo sobre un lote suficiente de animales de ambos sexos, son escasas, y nos vemos obligados a no referirnos sino a las de Pictet que ha alimentado durante varias generaciones las orugas de *Lymantria*, de una manera abundante, un lote, y defectuosamente otro grupo semejante. En la alimentación defectuosa obtiene 54% de machos en la primera generación y 65% en la segunda, mientras que en los testigos de primera y segunda generación, se mantienen aproximadamente 50% de cada sexo.

c) Las experiencias en que se ha tratado de influir sobre el macho se refieren casi todas a mamíferos, y los autores dan por seguro que hay dos clases de espermatozoides en ellos y de cuya conjugación dependerá el sexo.

J. Rostand, en la suposición de que las dos clases de espermatozoides sean desigualmente sensibles al calor, ha sometido ratones machos a una temperatura de 37°C que, al fecundar a las hembras, dan un aumento de hijos del sexo femenino. Las fecundaciones artificiales con esperma sobrecalentado, dieron en 25 hijos, 17 hembras. Intoxicando al padre con alcohol o con otros productos parecen haberse obtenido descendientes que dan un mayor porcentaje de machos.

Notemos, sin embargo, que un conejo en varios apareamientos sucesivos con hembras diversas, da, en las primeras, muchos machos, y éstos comienzan a disminuir en las fecundaciones sucesivas, pasando de 129 machos por 100 hembras a 28 machos por 100 hembras. Aquí es bastante difícil aceptar que el número de espermatozoides de cromosoma sexual aumente, o bien que el agotamiento del macho fecundador no vaya a repercutir sino en una clase de espermatozoides.

Para terminar esta breve exposición de intervenciones en el macho con el fin de modificar el sexo de la progenitura séanos permitido volver a los sapos machos de Ponse, que fueron trans-

mutados en hembras y que dieron hijos. J. Rostand estudiando teóricamente el caso, en su libro sobre **"Los cromosomas artesanos de la Herencia y del Sexo"** llega a la conclusión de que *"la proporción sexual de la descendencia del sapo convertido en sapa, deberá ser modificada y que en vez de estar compuesta por hembras y machos en número igual, contará dos machos por una hembra"*. Sabiendo el autor que en una nueva postura se habían obtenido 495 renacuajos, escribe a Mlle. K. Ponse preguntando sobre el sexo de la nueva generación y la respuesta que obtiene es que de 400 exámenes histológicos efectuados, *todos dieron sexo masculino*. Como vemos, no hay manera de encerrar estos hechos en la teoría del dimorfismo ovular o espermático de orden cromosómico. Por el contrario, esta falange de 400 hijos de un solo sexo, así se diga que son sin madre, rompe gallardamente la concepción morfológica de los cromosomas sexuales como determinantes del sexo y deja libre el paso a concepciones más amplias, y por lo tanto menos objetivas.

NUESTRAS EXPERIENCIAS

En el caso de nuestras investigaciones conducentes a establecer las condiciones de tratamiento por suero homólogo, capaces de provocar en el animal joven una inmunización contra la senectud, fuimos sorprendidos por una serie de constataciones no esperadas. Es así que la aceleración óptima de crecimiento se obtiene con suero de animal viejo y sexo opuesto. Los caracteres sexuales secundarios aparecen antes con suero del mismo sexo y con retardo si se emplea suero del sexo opuesto. El suero de castrado frena la aparición de caracteres sexuales, etc. Ello nos incitó a estudiar la influencia del tratamiento por suero homólogo en el determinismo sexual de los hijos.

Con el efecto de eliminar una serie de consideraciones sugeridas por las ideas expuestas en los párrafos anteriores, decidimos comenzar simultáneamente con conejos y con aves y tratar a la vez los reproductores, macho y hembra, con suero de la misma especie y de sólo un sexo y tener así parejas tratadas con suero de macho, las unas, y con suero de hembra, las otras.

Para las objeciones referentes al dimorfismo de espermatozoides, tenemos los gallos, y contra el dimorfismo ovular, las conejas. Las gallinas nos permiten pasar por alto la poliembrionía y los cómputos de fetos la anormalidad de los partos. El hecho de seguir los mismos padres, nos elimina las consideraciones sobre aumento progresivo del porcentaje de hembras.

Para evitar errores, los conejillos se matan al nacer. Se endurecen en formol al 12% y luego se hace la autopsia. Los huevos son examinados a los 18 días de incubación.

A) Mamíferos tratados con suero de macho

Cuatro conejas y tres machos, tratados por inyecciones sub-cutáneas de 1 centímetro cúbico de suero por semana, desde 1928 hasta la fecha (1930), han dado los partos siguientes:

(3 machos + 2 hembras) (2 machos + 3 hembras) (2 machos + 4 hembras) (2 machos + 5 hembras) (3 machos + 4 hembras) (3 machos + 0 hembras) (0 machos + 3 hembras)

Sea un total de 15 machos + 21 hembras + 2 x. Es decir, que por 100 machos habríamos tenido por lo menos 140 hembras.

B) Aves tratadas con suero de macho

Cuatro gallos y ocho gallinas divididos en cuatro secciones y tratados por suero de gallo a razón de 1 centímetro cúbico por semana, unos tríos hace dos años, y otros desde hace uno. Las incubaciones han sido espaciadas en los dos años, a veces figuraba un solo huevo de cada grupo. Para cada uno de estos grupos, no se toman en cuenta sino aquellas incubaciones en que no se pierde ningún huevo, los resultados hasta ahora son:

Grupo A) = 34 machos + 42 hembras

Grupo B) = 6 machos + 10 hembras

Grupo C) = 11 machos + 18 hembras

Grupo D) = 12 machos 21 hembras – (este grupo consta de hijos de A).

Es decir un total de 63 machos + 91 hembras, o por 100 machos, 144 hembras. El grupo B) es de raza *Plymouth Rock*. Los otros son *Leghorn*.

C) Mamíferos tratados con suero de hembra

Dos conejos machos y dos hembras fueron tratados desde hace 18 meses con suero de hembra (1 centímetro cúbico, subcutáneo, cada semana). Los hijos obtenidos, distribuidos por partos, fueron:

(3 machos + 2 hembras) (2 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 5 hembras) (3 machos + 3 hembras) (4 machos + 1 hembra) (2 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras)

O sea, un total de 35 machos y 35 hembras, es decir, que por 100 machos hubiéramos tenido 100 hembras.

D) Aves tratadas con suero de hembra

Dos gallos y cinco gallinas, (de las cuales murieron dos al cabo de un año) fueron tratados por una inyección subcutánea de 1 centímetro cúbico de suero de gallina cada semana, desde hace año y medio. Las incubaciones espaciadas en más de un año tomando en cuenta solamente las completas, dieron los siguientes resultados: 24 machos por 24 hembras, o sea: por 100 machos, 100 hembras.

Tanto en los mamíferos como en las aves, el tratamiento por suero de hembra parece no tener efecto alguno sobre el determinismo sexual de los hijos.

En otros apareamientos, sólo uno de los reproductores ha sido tratado, y aunque el número de hijos es hasta ahora muy escaso, los damos a continuación:

1) Una coneja tratada con suero de macho, viviendo en común con varios conejos de ambos sexos, cuando fue tratada con 1 centímetro cúbico por semana dio:

(2 machos + 4 hembras) (2 machos + 5 hembras) (3 machos + 4 hembras) (1 macho + 2 hembras). O sea, 8 machos y 15 hembras, y cuando se pusieron dos inyecciones por semana, después de mantenerla sin macho por mes y medio, y comenzando las inyecciones 12 días antes de juntarla al macho, obtuvimos:

(5 machos + 2 hembras) (5 machos + 1 hembra).

Sea 10 machos + 3 hembras.

2) Dos conejos tratados sistemáticamente por suero de macho desde hace más de dos años, a razón de 1 centímetro cúbico por semana, se han hecho fecundar 4 hembras que han dado:

(5 machos + 2 hembras) (5 machos + 1 hembra) (1 macho + 0 hembras) (3 machos + 2 hembras) (3 machos + 2 hembras) (2 machos + 4 hembras).

O sea, 19 machos por 11 hembras.

3) Un conejo tratado por suero de hembra, apareado a dos hembras testigo dio:

(2 machos + 3 hembras) (2 machos + 3 hembras) (3 machos + 1 hembra) (2 machos + 1 hembra) (2 machos + 3 hembras).

O sea, 11 machos y 11 hembras .

4) Dos gallos tratados por suero de hembra una vez por semana y durante año y medio, junto con dos gallinas testigos han dado en incubaciones seguras, 10 machos por 14 hembras.

Añadamos que la fecundidad de las conejas y la fertilidad de los huevos parecen disminuir cuando se practican dos inyecciones por semana.

DISCUSION

Que hay hormonas circulantes capaces de influenciar los caracteres sexuales, lo demuestran nuestros pollos masculinizados o feminizados precozmente gracias al suero que reciben. Las experiencias en parabiosis muestran que las hormonas hipofisarias pasan de un sujeto a otro y si bien es cierto que un macho castrado unido en parabiosis a un macho púber, no parece recibir hormonas sexuales, el hecho demostrado por nosotros de que el suero del animal castrado tiene sustancias antagónicas nos daría la explicación.

En cuanto a la obtención de resultados positivos con suero de macho y negativos con suero de hembra, ello se debe a lo que pudiéramos llamar mayor agresividad de las hormonas del sexo masculino. Esta agresividad de las secreciones masculinas en detrimento de las femeninas, aun durante el período embrionario, ha sido perfectamente estudiado en el caso de los "Free-martin", en que, por la circulación común, el falso gemelo macho actúa sobre los órganos sexuales de su pseudo-gemela, atrofiándolos y virilizándolos. La hipermasculinización llevada a cabo por Voronoff en los sementales, muestra evidentemente que el injerto testicular acentúa en los machos, los caracteres viriles y sexuales secundarios: tales la calidad de pelo. En una memoria reciente, el Profesor Marañón sostiene la tesis de que en el hombre es bien neta la acción extra-gonadal virilizante de la porción cortical de las suprarrenales, lo mismo que la del lóbulo anterior de la hipófisis, mientras que las acciones feminizantes, no han sido demostradas. Para el autor, estos hechos se explican por ser el sexo masculino la faz final a que tiende toda la evolución sexual.

El hecho de que la influencia del tratamiento por suero de macho a las hembras, tenga como resultado un aumento de hembras, debe explicarse como una respuesta de inmunidad comparable en un todo a las otras respuestas observadas: ma-

yor crecimiento con suero de viejo; talla mayor con suero de raza enana y viceversa. Bien conocido es el hecho de la obtención de sueros órgano-tóxicos: sea contra el hígado, contra la tiroides, etc.; después de inyectar extractos de estos órganos, y ello puede obtenerse aún dentro de la misma especie. A nosotros nos parece que la inyección de hormonas sexuales circulantes, hecha al sexo opuesto, puede obtener como respuesta la formación de sustancias antagónicas, mientras que las hechas al mismo sexo, saturado ya de tales hormonas, no haría sino acentuar las cualidades propias a su sexo; en nuestras experiencias, a las dosis usadas, las hormonas masculinas en equilibrio sanguíneo, parecen las únicas en gozar de estas propiedades antigénicas. El hecho de desencluecar una gallina con 4 inyecciones de suero de gallina que esté poniendo, parece darnos la razón en cuanto al mismo sexo se refiere, actuando entonces, no como excitante sino transfusando pasivamente un equilibrio hormonal del donador.

Cuando se doblan las dosis y antes de que el animal se habitúe, parece haber efectos opuestos, pero ello no es de extrañar: Zondeck ha mostrado, en efecto, que si las inyecciones del principio antihipofisario ("Prolan") en pequeña cantidad favorecen la ovulación, en mayores cantidades llegan a impedirla.

CONCLUSION

Si los sexos pueden cambiarse aún en animales adultos, con mayor razón podemos efectuarlo en los primeros estados embrionarios. Puede influirse en el determinismo sexual de los hijos tratando sea el padre, sea la madre o ambos a la vez, por suero sanguíneo homólogo de uno u otro sexo. Estas inyecciones pueden actuar a guisa de antígenos o bien transfusar las cualidades biológicas tales como la capacidad respiratoria y metabólica en general; capacidades éstas, que regenerándose en forma autocatalítica deciden, al fin, el sexo definitivo del embrión.

Los llamados cromosomas sexuales no harían sino testificar las capacidades metabólicas de una célula, y pueden, por lo

tanto, servir como presunción justificada del sexo, que normal, aunque no inmutablemente, puede derivar de ella.

*(Trabajo del Laboratorio del Hospital de San Juan de Dios.
San José, Costa Rica)*

BIBLIOGRAFIA

- Bordet. **Traité de l' Immunité**. Paris: Masson, 1920.
- Caridroit. **Journ. Physiol.** vol. 90, no. 2, p. 307. 1929.
- Cauillery. **Les Problèmes de la Sexualité**. Paris: Flammarion, 1920.
- Dulzetto. **Arch. de Biologie**. vol. 38, p. 355. 1928.
- Gostimirovic. **Blol. Zentralbl.** vol. 49, p. 24. 1929.
- Guyénol. **L' Evolution en Biologie**. Paris: Renaissance du livre, 1929.
- Lipschütz. **Las Secreciones Internas de las Glándulas Sexuales**. Madrid: Ediciones Morata, 1927.
- Marañón. **Revue Française d' Endocrinologie**. vol. 8, p. 1. 1930.
- Picado. **Annales Inst. Pasteur**. vol. 44, p. 584. 1930.
- Pighini. **Riv. di Biol.** vol. 9, p. 439. 1927.
- Rabaud. **Biologie Générale**. Paris: Alcan, 1920.
- Rostand. **Les Chromosomes Artisans de l'heredité et du sexe**. Paris: Machette, 1928.
- Uhlmann. **Med. Klin.**, 28. 1928.
- Vogt. **Med. Klin.**, no. 6. 1928.

EL YODO COFERMENTO DEL METABOLISMO DE LOS AZUCARES EN LAS PLANTAS Y ANIMALES

EL IODO Y LOS AZUCARES DE LAS PLANTAS

Hace algunos años, el biólogo Stoyloasa encontró que si durante su desarrollo se riegan las remolachas con cantidades casi infinitesimales de Ioduro de potasio, se obtiene un aumento notable en la cantidad de sacarosa almacenada por la planta en las raíces. En este tiempo, 1925, y en colaboración con el Lic. J. M. Arias R., procedimos a:

- 1º) Repetir las experiencias concernientes a las remolachas con el fin de ver si en nuestros trópicos las cosas se pasaban como en Europa; nos fue dado confirmar los resultados del sabio de Bohemia.
- 2º) Experimentar sobre la caña de azúcar.
 - a) En un cañal viejo cosechado tres meses antes y en el cual, antes de comenzar las lluvias, algunos surcos fueron regados una vez única con soluciones de Ioduro de potasio que variaron entre 1/1 000 a 1/128 000. A la época de corte y tomando muestras de la base, el medio y el extremo de varias cañas tratadas y de otras testigos, vimos que las que recibieron Ioduro a 1/8 000 - 1/32 000, contenían mayor concentración de azúcares y que este aumento, como promedio, puede calcularse en 11%.
 - b) Procedimos luego a regar surcos sembrados expresamente para tal experiencia; cada riego fue practicado a una semana de intervalo y las soluciones variaron entonces de 1/10 000 a 1/320 000 durante

un año entero, al cabo del cual encontramos que las cañas que habían recibido el riego lodurado y cualquiera que hubiese sido la proporción, tenían sobre las cañas testigos un aumento medio de 19% de azúcares totales (dos a dos después de invertidos). De esta experiencia debemos retener solamente que hubo aumento y debemos no considerar las diversas diluciones, dadas las lluvias abundantes que pronto lavan las plantas y la tierra.

Para completar estas experiencias rogamos este año al Prof. E. Vicente que procediera a regar con loduro de potasio a 1/100 000 a razón de día por medio, unas eras de rábanos (Roses-bout-blanc) y otras de repollos. Los rábanos fueron así regados durante 25 días y cosechados en completo desarrollo. Los repollos fueron regados durante 5 semanas y cortados antes de tiempo. Los rábanos testigos nos dieron un jugo con 1,42% de azúcares reductores mientras que los regados con loduro dieron 1,65%, o sea un aumento de 16%. El jugo de los repollos testigos dio 11,63% y el de los tratados 15,61%, o sea 34% de ganancia en azúcares reductores.

Señalemos que los frutos que contienen más glucosa: *Prunus avium* con 55% y *Vitis vinífera* con 66%, son a la vez los que contienen más lodo, y que el alga *Laminaria saccharina* contiene grandes cantidades de azúcares y lodo.

Vemos, pues, que la presencia del lodo parece favorecer la formación de reservas azucaradas en los vegetales, ya sea en los frutos, tallos, hojas o raíces, y que su acción favorizante parece extensiva a varios azúcares: maltosa, glucosa y sacarosa, y que en cada uno de los casos acentúa la formación de tales reservas en el lugar normal de reserva y con la calidad de azúcar en que ellas normalmente se llevan a cabo.

EL IODO Y LA GLICEMIA

Desde hace varios años, particularmente en Estados Unidos, la prensa médica viene relatando tratamientos felices por el ioduro de potasio en enfermos glicosúricos. Para explicar

estos resultados se ha invocado un origen urético de tales males. Deseando saber si el ioduro de potasio influenciaba también favorablemente la glicemia, en colaboración con el Dr. Oscar Martínez, tratamos algunos enfermos cuyo suero sanguíneo contenía de 1,50 a 2,00 g. de glucosa por litro, por el ioduro de potasio por vía digestiva y a razón de medio gramo diario durante 15 días. Los nuevos dosajes de glucosa en la sangre mostraron una glicemia reducida en general a 1%.

La inyección intravenosa de 1 centígramo de ioduro de potasio hecha al hombre normal, no hace disminuir la cantidad normal de glucosa de la sangre.

Notemos, sin embargo, que en los glicémicos con Wassermann positivo, la ingestión de ioduro, en vez de disminuirla, produjo un aumento en la glicemia. Este hecho, al parecer paradójico, tendría como explicación ser una reacción de Herxheimer o de reactivación de una sífilis latente.

Hay una observación muy sugestiva a este respecto, llevada a cabo por Mouriquand (**Société Medicale des Hôpitaux** de Lyon, 21 janvier, 1930). Se trata de una enferma que padece enfermedad típica de Basedow con exoftalmia leve y con ligera hipertrofia tiroidea; tenía además glicemia de 1,55%. Tratada por solución iodo iodurada de Lugol, en dosis progresivas, comenzando por cinco gotas diarias, manifestó una franca mejoría. La continuación del mismo tratamiento no fue seguida de éxito. Se trata por la insulina, obteniendo también resultados negativos. El autor de la comunicación piensa entonces en establecer un tratamiento asociado del Lugol y la insulina, obteniendo así éxito completo.

Recordemos ahora que:

- 1º) Muchas diastasas requieren para sus funciones un cofermento mineral; tal el zinc para los venenos de serpientes, el magnesio para las oxidasas y probablemente para varias diastasas fagocitarias.
- 2º) Bertrand y Macheboeuf han encontrado recientemente que el níquel y el cobalto actúan como cofermentos de la insulina.

- 3º) Una función de la tiroides es justamente hiperglicemiante y que esta glándula contiene, como de antaño se sabe, notables cantidades de iodo.

Todo lo expuesto en las líneas anteriores parece mostrar que, con una constancia pocas veces alcanzada a la vez en los dos reinos: vegetal y animal, el iodo parece presidir el metabolismo de los azúcares, llevando su transformación hasta el límite en que son puestos en reserva: maltosa, glucosa, sacarosa en las plantas; glicolisis en los animales, seguida posiblemente de formación de reservas grasas.

EFFECTOS DE LAS INYECCIONES DE SUERO HOMOLOGO EN EL TAMAÑO Y CRECIMIENTO DE LOS ANIMALES

Los trabajos bien conocidos de Carrel y sus colaboradores^{1,2} han evidenciado los siguientes hechos.

1. El suero de animal adulto es un impedimento para el cultivo de tejidos *in vitro*.
2. Esta propiedad inhibidora aumenta con la edad del animal que suministra el suero.
3. En el suero de animales viejos, existen albuminoides y lipoides que no se encuentran en los animales jóvenes de la misma especie.
4. Si se sangra un animal viejo y se le reinyectan sus propios glóbulos lavados con agua glucosada, de forma que se elimine la totalidad del suero sanguíneo, éste pronto se regenera, es decir que el plasma sanguíneo lleva la marca de la edad de los tejidos que baña.

Resulta de esto que el suero de un animal viejo debe considerarse, con respecto al joven de la misma especie, como una *hetero-albúmina*.

Ciertas pruebas muestran que existen grandes diferencias entre el suero de un animal joven y de un animal viejo de la misma especie: es así como Kotsovsky³ muestra que las hemolisinan naturales buey anti-conejo aumentan con la edad del buey. Noyes, Folk y Baumann⁴ descubren que las lipasas de varios tejidos disminuyen con la edad del animal. En los trasplantes se nota a menudo una degeneración del injerto. Lipchütz⁵ mostró que el ovario embrionario, trasplantado en una hembra adulta, se vuelve funcional y rápidamente en desacuerdo con su edad, siendo muy clara la influencia humoral en estos dos casos.

A. Lumière y R.B. Grange⁶, al estudiar comparativamente la toxicidad del suero del recién nacido y el de la madre, por inyección al cobayo, constataron que la sangre materna provoca choques mortales en el 66% de los casos en promedio, mientras que el suero de la sangre umbilical sólo produce accidentes en un 7% en promedio.

Pudimos verificar además, que la inyección de suero de niño es mucho menos tóxica para el conejo que la inyección de sangre de anciano, la que ha provocado choques muy graves, lesiones cutáneas seguidas de escaras, e incluso ceguera permanente en el conejo.

La sangre del animal viejo encierra entonces albúminas, lipoides, diastasas y toxalbuminas que no existen en el animal joven de la misma especie.

Para comprobar si existían diferencias en las propiedades antigénicas del suero de animal viejo respecto a las de animal joven, realizamos una serie de investigaciones:

I. Suero de niño y suero de hombre anciano como antígeno heterólogo

Los resultados fueron descritos por nosotros en 1929. Véase el artículo *Propiedades antigénicas diferentes de los sueros de animales jóvenes y de los sueros de animales viejos*.

II. Iso-anticuerpos de vejez

Cuyos resultados fueron publicados en el mismo artículo antes indicado.

III. Efectos producidos en los conejos jóvenes por la inyección de suero homólogo de un animal viejo

En un primer experimento, tomamos tres conejos, uno macho y tres hembras, que fueron inyectados por vía subcutánea con suero de conejo viejo macho. A partir de las primeras inyecciones, a intervalos de ocho días (Figura N° 1), observamos una aceleración muy marcada en el crecimiento de los tres animales, comparándolos con los conejos testigos de la misma camada: un macho y dos hembras.

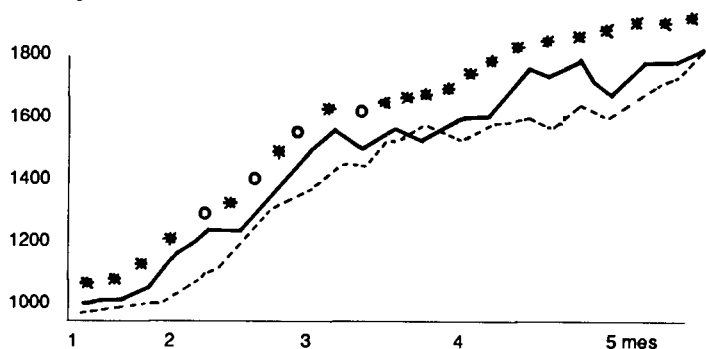


FIGURA N° 1.—Crecimiento de los conejos — = promedio de tres animales tratados con inyecciones semanales de 1 cm³ de suero de conejo viejo macho, los ** indican las inyecciones, ---- = promedio de tres hermanos testigo.

Para saber si esta aceleración se debía atribuir al suero inyectado, y para saber si el efecto era prolongado, a partir del primer mes, aplicamos inyecciones cada quince días. Entonces las curvas promedio de crecimiento se acercaron. Iniciando con las inyecciones cada ocho días, presenciamos una separación en las curvas de crecimiento, que terminan por confundirse e incluso cruzarse, como lo veremos luego.

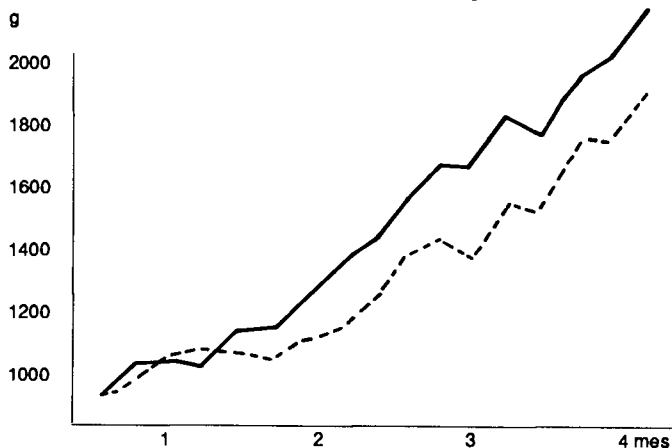


FIGURA N° 2.—Crecimiento de los conejos — = promedio de tres animales tratados con suero de hembra, ---- = promedio de tres hermanos testigos.

En otro experimento, tomamos seis conejos de igual edad, tres fueron inyectados (un macho y dos hembras) y los otros tres, un macho y dos hembras, sirvieron de testigos. Esta vez, los donantes de suero fueron hembras y las inyecciones, a ocho días de intervalo, se aplicaron más de un año hasta la fecha. La aceleración en el crecimiento de los conejos jóvenes tratados fue más clara y la Figura N°2 nos da el detalle de los primeros meses.



*FIGURA N° 3.—Pollos machos **Leghorn** de tres meses. El de la izquierda recibió tres inyecciones semanales de 1 cm³ de suero de gallina, pesa un tercio más que el testigo (a la derecha).*

Existe entonces, con este tratamiento de suero, ya sea un aporte de materiales nutritivos a los receptores, una excitación a sus funciones de nutrición, una excitación hormonal pasiva, o bien lo más probable, un complejo de diversas propiedades.

IV. Influencia de las hormonas del donante en el receptor

Para estudiar la influencia de la edad, del sexo y de la raza del donante en los animales jóvenes en vías de crecimiento, nos abocamos en las gallináceas en las que las condiciones de aparición de caracteres sexuales secundarios han sido ampliamente estudiadas por Pézard⁷. Tres series de pollos Leghorn machos, de dos meses de edad, reciben:

- a) Suero de pollo de la misma edad;
- b) Suero de gallo de la misma raza;
- c) Suero de gallina de la misma raza;
- d) Una cuarta serie sirvió de testigo.

Las inyecciones de 1 cm³ de suero, subcutáneas, fueron aplicadas cada ocho días.

A partir de la primera semana, se observa que todos los pollos inyectados aumentan más rápidamente de peso y de tamaño que los testigos. Esta aceleración en el crecimiento es más evidente en los animales a los que se les aplicó suero de gallina, un poco menos en los que se les aplicó suero de gallo, y menos aún, en los que recibieron suero de pollo de la misma edad o menor. Parece ser que, *in vivo*, el suero de pollo se comporta en forma diferente que en los cultivos de tejidos *in vitro*. La Figura N° 3 nos muestra dos pollos: al que se le aplicó suero de gallina pesa 305 gramos y un testigo de la misma edad, hermano del anterior, pesa 210 gramos. 3 ó 4 gramos de suero de gallina inyectados dieron un aumento en el peso de un pollo de alrededor de 100 gramos. Repetimos el experimento varias veces con resultados similares.

V. Sexo del donante y caracteres sexuales secundarios del receptor

En los primeros experimentos comprobamos que los pollos machos tratados con suero de gallo adquieren más rápidamente que los testigos la cresta y las barbillas, mientras que en los que se aplicó el suero de gallina se manifiesta un retraso en la aparición de los caracteres sexuales secundarios.

La Figura N° 4 nos muestra el aspecto masculino y femenino en dos pollos de la misma edad a los que se aplicaron inyecciones de suero, a uno de gallo y al otro de gallina.

En varias series de pollos machos tratados con suero de gallina, a menudo, aunque no siempre, encontramos animales de tipo "quimera" que presentan simultáneamente caracteres machos muy marcados y ciertos caracteres del tipo hembra. La Figura N° 5 muestra uno de estos casos. El animal fotografiado tenía una psicología típica de macho, era de pelea, y fecundó a las gallinas que quedaron con él.

En cuanto a las pollitas tratadas con suero de gallo, la única influencia observada varias veces, es una aceleración más activa en su crecimiento al inicio; para activar el crecimiento, es entonces útil emplear suero del sexo opuesto. Este hecho podría explicarse por un doble antagonismo entre el crecimiento somático y la madurez sexual, y un antagonismo entre las hormonas de los sexos opuestos.

En otra serie de experimentos, analizamos en forma paralela la influencia del suero de gallo, de gallina y de gallo castrado sobre pollos Leghorn, machos y hembras, de la misma edad.

El aumento promedio en el peso para los machos fue en tres meses, de 490 gramos con suero de gallo, de 550 gramos con suero de gallina y de 446 gramos con suero de gallo castrado. En el caso de las hembras, en el mismo período y con los mismos donantes, el aumento de peso con el suero de gallo fue de 435 gramos, de 400 gramos con suero de gallina y de 550 gramos con suero de gallo castrado.

Es decir, el suero del sexo opuesto se presentó más activo, como siempre, y el de gallo castrado es menos activo para los machos y más activo para las hembras. El suero de un ma-

cho castrado no puede compararse con el de un pollo no púber. Trentini⁸ ya había mostrado que el suero de conejo castrado no tiene influencia sobre el timo de los animales jóvenes a los que se inyectó, contrariamente a lo que ocurre con suero de machos adultos normales. Además, la mitad de los pollos mantienen cresta y barbillas reducidas lo que prueba que el suero de capón encierra sustancias activas antagonistas de las hormonas orquíticas.



FIGURA N° 4.—Pollos Leghorn, hermanos machos de tres meses. El de la izquierda fue tratado con suero de gallina y el de la derecha con suero de gallo (testigos intermediarios).

VI. Influencia de la raza del donante

Se sabe que las hormonas (harmozomas) determinan el crecimiento, y que las diferencias en el tamaño en varias razas de animales deben ser a menudo atribuidas a diferentes estados de equilibrio hormonal, no pudiendo ser consideradas como caracteres patológicos. En las gallinas, existen variedades enanas que no son razas particulares, pero que reproducen a pequeña escala, los caracteres de las razas de tamaño normal. En estas variedades enanas, hallamos un cráneo reducido y grandes ojos

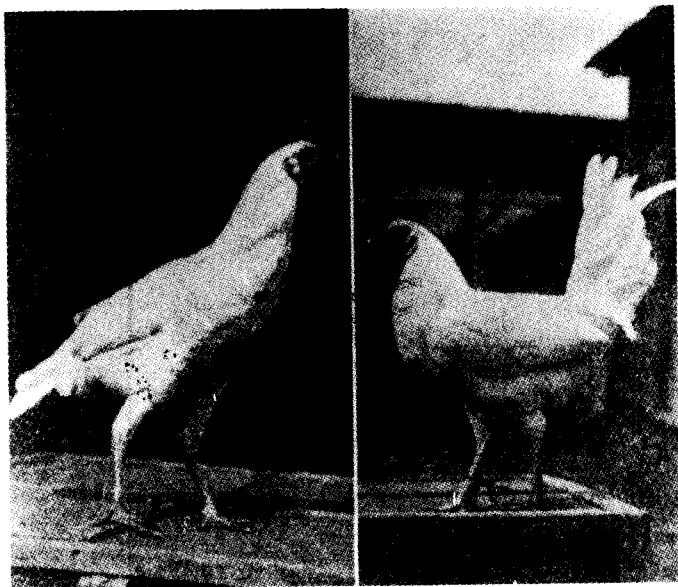


FIGURA N° 5.—Pollos de seis meses. El de la izquierda fue tratado con suero de gallina (presenta un cuerpo de gallina y una cabeza de gallo) y el de la derecha testigo de la misma edad.

desorbitados. El plumaje definitivo y el funcionamiento sexual aparecen precozmente. Estos hechos nos recuerdan ciertos problemas de tiroides y de hipófisis estudiados en el hombre.

Escogimos estos animales como donantes, y como receptores dos razas:

- White Leghorn que nos sirvieron para otros experimentos descritos aquí, y cuyo tamaño, mudas del plumaje así como la precocidad sexual son semejantes a las de las variedades enanas,
- y Barred Plymouth Rock. Las aves de esta raza tienen largas patas, un cráneo estrecho y alargado; el plumaje defi-



FIGURA N° 6.—Gallos de siete meses. El de la derecha fue tratado con suero de gallo. Los de la izquierda con suero de gallo castrado (inhibición de los caracteres sexuales secundarios de macho).

nitivo y la madurez sexual aparecen en forma tardía, en suma parecen gozar de un equilibrio hormonal muy diferente al de las razas enanas. Se ha determinado por otro lado, que si tratamos pollos de esta raza con extractos tiroideos, se obtiene:

1. Un retraso en el crecimiento;
2. Una aparición precoz del plumaje definitivo;
3. Un aumento del blanco en los rayados de las plumas (según el trabajo de Krizenecky⁹).

En los White Leghorn tratados con suero de raza enana, no pudimos observar diferencias con los animales tratados con suero de la misma raza, pero los pollos Plymouth Rock se comportaron en forma diferente. Al inicio, presenciábamos un retraso en el crecimiento consecutivo a la inyección de suero de la misma especie. Este retraso es temporal y subsiste mientras el pollo inyectado pesa menos que el gallo donante, pero a partir del momento en que los pesos se corresponden el tratamiento sérico parece volverse indiferente. En cuanto a la influencia en el crecimiento, se observa que los animales tratados adquieren su plumaje definitivo más rápidamente que los testigos; al mismo tiempo la pubertad es más precoz en los tratados. Las bandas blancas de las plumas de los animales tratados son más largas que las de los testigos. El tratamiento por suero en las razas enanas sería comparable al tratamiento tiroideo, y existe entonces una influencia humoral clara de una raza sobre la otra. Las Figuras N° 6, 7 y 8 nos muestran la diferencia de tamaño de los pollos tratados y de los testigos, y las zonas blancas más amplias en los gallos tratados luego de varios meses.

VII. Crecimiento prepuberal y tamaño del adulto

Pudimos observar, con una persistencia continua, que los pollos, tratados con suero de sexo opuesto y de la misma raza, son los que tienen un mayor crecimiento al inicio; pero el tamaño definitivo adquirido por estos animales es siempre menor que el adquirido por los testigos o por los animales tratados con suero

del mismo sexo. Así, tenemos gallos White Leghorn, de año y medio, que fueron tratados con suero de pollo y que sólo pesan 1 600 gramos en vez de 2 000, que es el peso normal.

También tenemos pollos de la misma raza, de dos años, y tratados con suero de gallo, que sólo pesan 1 000 gramos mientras que los testigos pesan 1 500 gramos.

Para saber si un crecimiento prepuberal acelerado corresponde a un tamaño adulto más pequeño, mandamos a traer moscas vivas de las cálidas costas de nuestro país, en donde su desarrollo larvario se acorta. Comparándolas con las moscas del interior del país, donde la temperatura promedio es de 20°C, pudimos constatar que las moscas de las zonas costeras son más pequeñas. Por otro lado, nuestros niños son más grandes y pesan más que los niños europeos de la misma edad, pero a partir de la pubertad los nuestros sufren una desaceleración en el crecimiento, de forma que, a partir de los quince o dieciséis años, los niños de Europa son más grandes y pesan más que los nuestros de la misma edad.

Suponemos que la luz muy actínica de los trópicos, al irradiar el ergosterol de la sangre, sería un factor de crecimiento. Recordemos que las razas mediterráneas son en Europa las de menor tamaño. En nuestros países, los hijos de europeos (padre y madre) presentan también una aceleración parecida en el crecimiento que debe ser relacionada con el factor ambiente y no con el factor raza. Es entonces muy posible que uno de los factores aportado por el suero de animal viejo inyectado al joven, esté constituido por los productos irradiados de su sangre.

VIII. El Instinto Incubador de las gallinas y el tratamiento por suero

Tomando en cuenta el hecho de que el dimorfismo sexual en las aves se debe a una secreción activa del ovario y que justamente es en las hembras con plumaje modesto, como la gallina, en que "el instinto maternal precoz" es el más desarrollado, quisimos saber si existía en la sangre de gallina clueca alguna secreción, hormonal u otra, que obligara a la gallina a incubar, o si este estado se debía a un déficit humoral. Hicimos los siguientes experimentos:

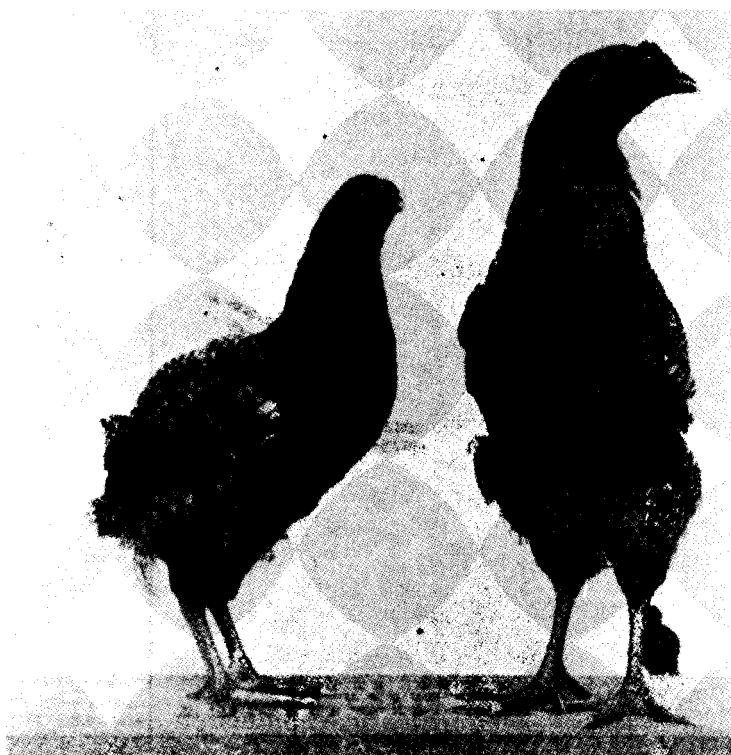


FIGURA N° 7.—Pollos *Plymouth Rock* de cuatro meses y medio. El de la izquierda fue tratado con suero de gallo de raza enana. A la derecha tenemos un testigo.

1. La inyección de 2 centímetros cúbicos de suero de gallina clueca a una gallina normal, durante cuatro días, no produjo ningún cambio.

2. Inyectamos diariamente 2 centímetros cúbicos de suero de gallina normal (época de puesta) a una gallina, conocida como buena clueca, luego de unos días de estancia en el nido. A la segunda inyección, se nota un cambio de actitud; a la tercera, la gallina abandona el nido y, a la cuarta, incluso su voz es la de una gallina ponedora normal. Se repite el experimento con



FIGURA N° 8.—Gallos *Plymouth Rock* de ocho meses. El de la izquierda, con rayas blancas más largas fue tratado con suero de gallo de raza enana. A la derecha tenemos un testigo.

los mismos resultados y la gallina comienza a poner diez días después; esta gallina pone sólo cinco huevos, y comienza su ciclo incubador normal, que se prolonga al menos por un mes.

El tratamiento por suero, tal como lo aplicamos, sólo conduce a un período de puesta pasajero.

El tratamiento de gallina clueca con suero de gallo no tiene ningún efecto.

Este experimento muestra, en un breve período de cuatro días, la influencia muy clara del tratamiento por suero homólogo.

IX. Influencia del tratamiento por suero sobre el sexo de la progenitura

La influencia hormonal del tratamiento por suero puesta en evidencia por la modificación de los caracteres sexuales secundarios (velocidad de crecimiento y modificación de estados fisiológicos) podría también influenciar el determinismo del sexo en las crías de los animales inyectados. Para eliminar una serie de problemas que conciernen a las dos clases de espermatozoides en los mamíferos y a las dos clases de óvulos en las aves que, siendo portadores de un cromosoma suplementario, darían machos o hembras, y cuya conjugación, sea de unos o de otros, decidiría el porcentaje de machos y hembras de las futuras generaciones, aplicamos en conejos y aves de corral hembras y machos, tanto suero de macho como de hembra.

Los resultados obtenidos hasta el momento son los siguientes:

Para las parejas de conejos tratados con suero de macho (1 centímetro cúbico por semana durante al menos un año) los partos para cuatro hembras fecundadas por tres machos, fueron siete. Los embriones fueron muertos el día de su nacimiento para no perderlos y se notó: (3 machos + 2 hembras) (2 X + 3 hembras) (2 machos + 4 hembras) (2 machos + 5 hembras) (3 machos + 4 hembras) (3 machos + 0 hembras) (0 machos + 3 hembras) = 13 machos + 21 hembras + 2X.

Es decir más del 60% hembras en vez del 50%. Parece que se da un aumento en el número de las hembras. Estos hechos no son similares a los obtenidos por varios autores al tratar hembras, ya sea con insulina, con tiroidina, o bien con extractos de ovarios, los que provocaron un aumento en el porcentaje de las hembras; ya que, con estos tratamientos, se disminuye el número de fetos de cada camada en detrimento del sexo masculino que, en este caso concreto, sería el más débil. En nuestros experimentos se ve que en las camadas normales de 7 fetos es de regla el predominio de las hembras.

Para las parejas de conejos tratados con suero de hembra se dieron cuatro camadas: (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 3 hembras) (3 machos + 2 hembras) (3 machos + 3 hembras) = 12 machos + 11 hembras.

Dos hembras testigos apareadas con un macho tratado con suero de hembra dieron 5 camadas: (2 machos + 3 hembras) (2 machos + 3 hembras) (3 machos + 1 hembra) (2 machos + 1 hembra) (2 machos + 3 hembras) = 11 machos + 11 hembras.

Esto parece demostrar que el suero de hembra fue inactivo, mientras que el suero de macho hubiera provocado una reacción antagonista.

En las gallinas, obtuvimos para 2 hembras y un gallo Leghorn tratados con suero de gallo a una dosis de 1 centímetro cúbico semanal durante varios meses: 26 machos y 34 hembras en 10 empolladuras a través de un año; y para una gallina Plymouth Rock y un gallo de la misma raza tratados también con suero de gallina obtuvimos 8 machos y 12 hembras en nueve empolladuras.

También se tiene predominio del número de las hembras en las parejas tratadas con suero de macho, mientras que en las aves el tratamiento con suero de gallina se mostró inactivo, como en el caso de los conejos. Se debe anotar que la mayor parte de los pollos fueron muertos antes de la salida del huevo, para estar seguros de no perderlos, pues es bien conocido que la mortalidad ataca sobre todo a los machos. Nos queda el multiplicar los experimentos e intensificar el tratamiento ¹⁰.

X. ¿Se transfunden caracteres seniles con el tratamiento por suero?

Para saber qué efecto produce en el hombre adulto de cuarenta y dos años la inyección de suero de hombre ya viejo, hicimos un auto-experimento: nos inyectamos por vía subcutánea sueros de hombres cuya edad variaba entre 76 y 86 años. Las dosis fueron de 1 centímetro cúbico cada ocho días; luego 2 centímetros cúbicos cada mes y luego 5 centímetros cúbicos cada tres meses, durante dieciocho meses. Hasta el momento nos hemos inyectado el suero proveniente de más de

una docena de personas y no pudimos constatar ningún decaimiento físico ni fisiológico. Lo que parece mostrar que con las dosis experimentadas no hay transfusión senil apreciable.

XI. Prolongación de la vida imaginal en los *Bombyx mori*

Para saber si el promedio de vida puede aumentarse en los vertebrados, se debe esperar varios años y experimentar sobre cientos de animales en estaciones biológicas bien equipadas. Faltando estos medios, nos centramos en el gusano de seda, pues las orugas se inmunizan muy rápidamente, como lo mostró Metalnikov¹¹ y porque estos insectos, cuyo aparato digestivo está atrofiado en la mariposa la que jamás toma alimento, estarían condenados a la muerte natural como lo consideró Metchnikoff¹².

En nuestros experimentos pudimos comprobar:

1. Los gusanos de seda son muy sensibles a la inyección de sangre de oruga. El jugo de ninfa y la sangre de mariposa, macho o hembra, son mejor tolerados, pero si se les calienta a 55-56° durante media hora su inyección es posiblemente mortal incluso al centésimo del centímetro cúbico.

2. Ni la inyección de sangre de oruga, ni la de zumo de ninfa, ni la de sangre de mariposa, modifican el período de la vida larvaria.

3. La inyección de zumo de ninfa así como la de sangre de mariposa, hecha a orugas al momento de tejer su capullo, prolongó la vida de las mariposas. En efecto, el promedio de vida en las mariposas testigo fue de 10,31 días, mientras que el de las mariposas provenientes de las orugas inyectadas, fue 13,16 días, es decir un aumento de más de 27%.

Las mariposas testigos tienen dos máximos de frecuencia de muerte: uno a los siete días y el otro a los diez días.

Las mariposas tratadas tienen también dos máximos de frecuencia de muerte: uno a los ocho días y el otro en plataforma a los 14 días. Hay que investigar si estos dos máximos corresponden cada uno a un sexo. En todo caso, el máximo de

longevidad fue también alcanzado por los insectos tratados, y esta longevidad conduce, no en las larvas, pero sí en el insecto, al estado perfecto.

En los vegetales hallamos un ejemplo filogenético semejante: los injertos anuales en patrones vivaces se lignifican y viven varios años (Daniel¹³); sin embargo Kostoff¹⁴; ha mostrado que el zumo de los injertos encierra precipitinas con respecto al patrón. Se trataría entonces de una especie de inmunidad activa contra la vejez y la muerte.

CONCLUSIONES

1. Las propiedades antigénicas de la sangre del animal viejo son diferentes a las del animal joven, y se pueden obtener precipitinas selectivas para la edad;
2. También se puede obtener en el conejo isoprecipitinas para el suero de animal viejo;
3. El tratamiento de los animales jóvenes con suero sanguíneo de animal viejo se traduce, inicialmente, en una aceleración en el crecimiento;
4. La aceleración en el crecimiento es más notoria con sangre del sexo opuesto;
5. La aceleración prepuberal del crecimiento conduce a un menor tamaño definitivo;
6. El sexo del donante de sangre puede modificar los caracteres sexuales secundarios del receptor;
7. Ciertas condiciones "psicológicas" como el "instinto incubador" de las gallinas, pueden suprimirse con inyecciones de suero homólogo;
8. El gigantismo y el enanismo de los donantes pueden también influenciar la curva de crecimiento del receptor;
9. La inyección de suero de hombre senil no parece ser seguida de la transmisión de caracteres seniles;
10. El tratamiento con suero de macho de las parejas reproductoras parece influenciar el sexo de la descendencia en el sentido de un aumento en el número de hembras sin perjudicar el número de crías del sexo masculino;

11. El tratamiento con suero de hembra de las parejas reproductoras parece no tener influencia en el sexo de las crías;
12. La inyección de sangre de mariposa de la misma especie, hecha al gusano de seda, prolongó el promedio de vida de las mariposas provenientes de estas orugas tratadas.

NOTAS

1. Carrel, A. et Ebeling A.M. **Journ. Exper. Med.**, 34, 1921, p. 509.
2. Baker, E. et Carrel, A. **Id.**, 45, 1927, p. 305.
3. Korsovsky. *Hemolytic action of beef serum in relation to age of cattle.* **Proc. Soc. Exp. Biol. A. Med.**, 24, 1927, p. 849.
4. Noyes, H. M., Folk, K. Cr. and Baumann, Fr. J. *Lipase action of extracts of tissues of rabbits at different ages.* **Jour Gen. Physiol.**, 9, 1926, p. 651.
5. Lipschütz, A. *Das Gesetz der Pubertät.* **Deutsch. Med. Wochenschr.**, no. 26, 1927.
6. Lumière, A. et Grange, R. B. *Toxicité de certains sérums.* **C. R. Acad. Sc.**, 12 mars 1928.
7. Pézard, A. *Le conditionnement physiologique des caractères sexuels secondaires.* **Thèse de la Faculté des Sciences de Paris**, 1918. (Edition du Bulletin biologique de la France et de la Belgique, 1918).
8. Trentini, D. *L' influenza del siero de sangue de conigli castrati adulti sullo sviluppo del timo de conigli giovani.* **Pathologica**, 18, 1926, p. 448.
9. Krizenecky, J. **Arch. f. Entwicklungsmech**, 107, 1926, p. 583.

10. Picado C., *Inmunización contra la vejez. Repertorio Americano*, 16, 1928, p. 58. *Propiedades antigénicas de la sangre de viejo. Id.*, p. 172. *Efectos diferentes producidos por suero de joven y suero de viejo. Id.*, p. 302. *Suero de macho y suero de hembra. Id.*, p. 334. *Nueva Quimera. Id.*, 17, 1928, p. 190. *Prolongación de la vida en la Mariposa de la seda. Id.*, p. 284. *Isoprecipitinas experimentales de joven contra viejo. Id.*, p. 293. *Supresión de un "instinto" por suero de la misma especie. Id.*, 18, 1929, p. 43. *Tamaño de razas e inyecciones sanguíneas. Id.*, p. 150. *Enanismo y Gigantismo aviaños, p. 316. Crecimiento prepuberal y tamaño del adulto. Id.*, 19, p. 26. *Influencia del suero de capón en los pollos. Id.*, p. 203.
11. Métalnikov. *L' infection microbienne et l' immunité chez la Mite des abeilles. Monographies de l' Institut Pasteur*, Masson éd., in-8°, 1927.
12. Metchnikoff E. L. *La mort du papillon du mûrier. Un chapitre de Thanatologie. Ces Annales*, 29, 1915, p. 477.
13. **Acad. Sc.** sesión del 14 de noviembre de 1927.
14. **Genetics**, 14, p. 37, 1929.

CUTI-INMUNIDAD ANTIVACCINAL ENDOGENA Y EXOGENA

A. Besredka¹ demostró que si se inyectaba linfa vaccinal directamente en el peritoneo de un conejo, teniendo cuidado de respetar la piel, el animal queda tan sensible a la variolización cutánea como si fuese nuevo. Se sabe, por otra parte, que si se inyecta el virus de la vacuna por vía intravenosa y si se depila el conejo, el virus se fija en la piel depilada y al cabo de cinco días, se ve aparecer una erupción varioliforme típica. Además, si se inyecta el virus mezclado con 0,02 g de cedrina (glucósido del *Simaba cedron*) o si se inyecta el virus de vacuna por vía intravenosa y la cedrina algunas horas después, la erupción varioliforme no se produce; si se prueban esos animales dos semanas más tarde por inoculación cutánea, se constata que son tan sensibles como si no hubiesen sido vacunados. Sin embargo, encierran tantos anticuerpos, demostrados por la desviación del complemento, como los animales que habían presentado reacciones cutáneas. Pero, si se somete a esos conejos a una nueva inyección intravenosa del virus de la vacuna solo, se comprueba que, a pesar de las repetidas depilaciones, el animal no presenta erupción cutánea: es decir, se inmunizó por vía endógena, aunque sensible a la infección exógena.

Si se mezcla 1 centímetro cúbico de suero de esos conejos con 0,1 centímetro cúbico de linfa vaccinal y se incuba 5 horas en la refrigeradora más 1 hora a 37°C y se inyecta la mezcla por vía intravenosa a un conejo nuevo, depilado, el animal queda indemne. La adición de 1 centímetro cúbico de suero de conejo nuevo deja el virus activo.

Esos hechos nos hacen creer que será posible vacunar con ayuda de la mezcla "virus-cedrina" contra otras afecciones por protozoarios o por ultravirus.

Consideramos, por otra parte, que la viruela humana podría ser útilmente tratada por la cedrina, que curaría igualmente la infección palúdica humana (Nauck y Picado)^{2,3}.

Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica

NOTA

1. **Bull. de l' Institut. Pasteur**, 1922, 20 : 477.
2. Trabajo en prensa.
3. La dirección de este hospital envió un delegado a Panamá a raíz de la reciente epidemia de viruela, pero para esa fecha ya no había más enfermos.
Bajo pedido del Dr. Núñez, Ministro de Salubridad Pública de Costa Rica, el Dr. Nicolle aceptó generosamente hacer esos experimentos en Túnez.
Expreso aquí mi profunda gratitud a las personas que me ayudan en estas investigaciones.

Nauck, E. G. y Picado Twight, Clodomiro. *Malariabehandlung mit Cedrin (ein Glykosid der Simaba cedron)*. Arch. für schiffs- und tropenhygiene. 34 : 29 - 41, 1930.

TRATAMIENTO DE LA MALARIA CON CEDRINA (Un glucósido de *Simaba cedrón*)

E. G. Nauck
C. Picado T.

Simaba cedron Planch. (Hook Jour. Bot. 1846, vol. 5, pág. 566) es un hermoso árbol perteneciente a la familia de las simarubáceas, cuya propagación geográfica se encuentra restringida a las zonas costaneras del Pacífico de Nicaragua, Costa Rica, Panamá y Colombia. La Figura N° 1 hace innecesaria una descripción detallada del árbol y de sus frutos.



FIGURA N° 1.—Árbol de cedrón con inflorescencia en la copa (costa sur de Costa Rica).

Uno de los autores¹ comprobó que 0,01 g del extracto alcohólico seco de sus semillas es suficiente para proteger un cobayo de una dosis letal del veneno de cobra, si el extracto se le aplica una media hora antes de la inyección del veneno.

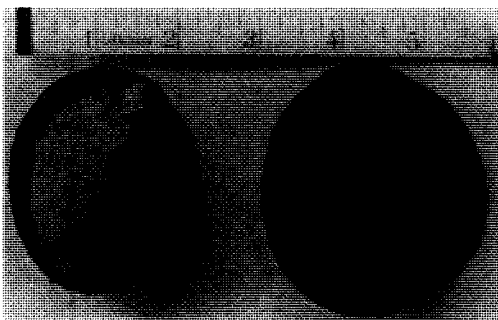


FIGURA Nº 2.—Frutos del cedrón. El fruto partido muestra en su interior la semilla. (El sabor de la carne de esta fruta recuerda a los melones que tienen un sabor muy amargo. El color y la estructura de la cáscara se asemejan a los del durazno).

Este experimento demostró que la tradición de nuestros indígenas, la que atribuía a las semillas del cedrón una acción defensiva contra el veneno de serpiente, tenía una base cierta, al menos respecto a los efectos neurotóxicos del veneno. Esto nos indujo a seguir ocupándonos de esta planta. La creencia popular también habla de su eficacia contra la fiebre. El cedrón debió haber encontrado un uso, en especial contra la fiebre amarilla y probablemente en el caso de la malaria. Nos pareció comprobar su eficacia contra ésta última.

No conocemos trabajo alguno que se haya ocupado, en forma sistemática, de la anterior aplicación, lo que no es de extrañar debido a la poca propagación del árbol de cedrón. Todas las publicaciones sobre este árbol y sobre su acción antipirética proceden de una época en la que aún no se habían descubierto los parásitos de la malaria.

Obtención de la cedrina

Para obtener la cedrina, las nueces contenidas en las semillas del fruto fueron secadas, molidas y mezcladas repetidas

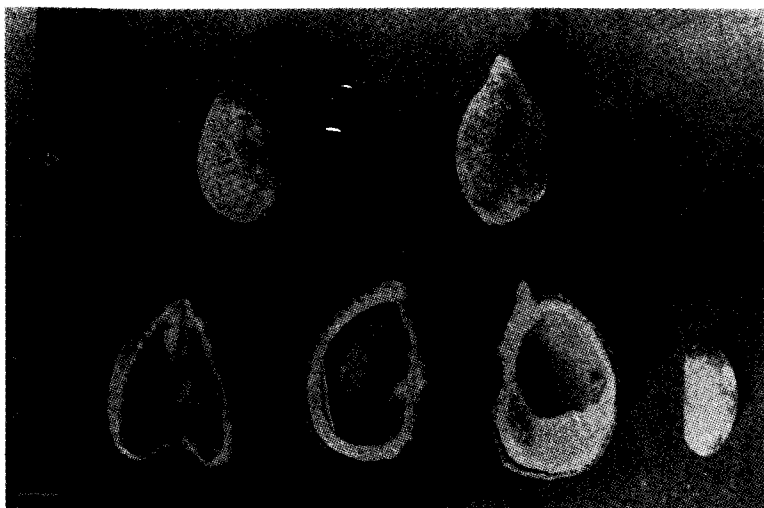


FIGURA N° 3.—Semillas de cedrón mostrando la nuez que contienen.

veces con éter, para así liberarlas de sustancias solubles en éter, que pudieran causar diarrea; y luego mantenidas varios días en alcohol. El extracto alcohólico se mezcló por partes iguales con agua, se hirvió, se filtró y se secó. Con el residuo se preparó una solución acuosa al 10%, la cual es muy amarga y no precipita con solución de lugol ni con reactivo de Tanret, ni tampoco con cloruro de oro, lo que indica la ausencia de alcaloides. En cambio, se hidroliza fácilmente con ácido clorhídrico diluido, con una formación creciente de glucosa.

La sustancia activa es, evidentemente, un glucósido, el cual corresponde a la "cedrina" descrita por Tanret. En estado seco, el producto es amorfo, de color amarillo naranja, fuertemente higroscópico, parecido a la peptona, y da una fluorescencia verdusca ante la luz de Wood, pero que es diferente a la fluorescencia de las sales de la quinina.

Una solución al 10% de este producto se envasó en ampollas y se esterilizó en autoclave.

EXPERIMENTOS *IN VITRO*

1. Protozoarios (ciliados y flagelados del agua) se destruyen totalmente frente a una fuerte dilución.
2. La sangre citratada no se coagula.
3. La coagulación normal de la sangre se retrasa.
4. Mezclado con suero sanguíneo no se forman precipitados.
5. No es hemolítica.

EXPERIMENTOS CON ANIMALES

1. La inyección subcutánea e intramuscular no produce necrosis de los tejidos (en cobayos, gallinas, monos). En un conejo se desarrolló, después de la inyección subcutánea, una pequeña necrosis de la piel. La inyección intravenosa fue soportada perfectamente por los conejos.
2. La dosis letal para cobayos es de 0,05 g por kilogramo de peso (el doble, administrado mediante una sonda estomacal, es bien soportado). Un cobayo recibió diariamente, en el curso de un mes la mitad de la dosis letal mínima, sin que se presentara señal de envenenamiento. Un conejo resistió la inyección diaria, por vía subcutánea, de 0,01 g por kilogramo de peso corporal y después de un tratamiento de 40 días aumentó de peso. Un mono de 8 kilogramos de peso recibió diariamente 0,1 g (en 1 ml) durante seis días; 0,2 g (en 1 ml) durante 8 días, y fue sacrificado después de este tiempo en estado de coma.
3. Un aumento lento de la dosis, comenzando con la mitad de la dosis letal, muestra que no se produce habituación ni tampoco un efecto acumulativo marcado.

Signos de envenenamiento: los animales (cobayos, conejos, monos) tratados con grandes dosis muestran

signos claros de envenenamiento: pérdida del apetito, apatía, debilidad, adelgazamiento, calambres, diarrea pero vómito no. Solamente el mono tuvo vómito en los últimos días. Los animales finalmente morían en estado de coma sin mostrar otros síntomas.

Autopsias

1. Mono (*Ateles geoffroyi*): peso 8 kg. Recibe 0,1 g diarios durante 6 días y 0,2 g diarios durante 8 días. Dosis total 3,2 g. Claro adelgazamiento. Al microscopio no se observan cambios aparentes en los órganos internos. Todas las vísceras se encuentran muy congestionadas de sangre (acumulación venosa). La mucosa intestinal tiene una apariencia normal. La orina, tomada de la vejiga, contiene numerosos cilindros granulosos; no presenta albúmina.
La observación microscópica de los riñones y del hígado no muestra cambios especialmente vistosos en las células de parénquima. La coloración del núcleo tiene aspecto normal en todas las porciones de tejido. Los epitelios de los tubos renales se presentan edematosos, en algunos canalículos se observan células del epitelio expulsadas. Otras se encuentran hinchadas y llenas de masas homogéneas que se colorean intensamente de rojo con eosina (albúmina o sustancias hialinas). Los capilares glomerulares están ensanchados y llenos de sangre. Con la coloración Sudán se demuestra que ni en el hígado ni en los riñones ha ocurrido un aumento apreciable de grasa intracelular. La investigación microscópica del corazón, pulmón, bazo, dio un resultado negativo.
2. Cobayos: en la autopsia se encuentra únicamente una acumulación venosa en todos los órganos. La investigación microscópica no indica cambios apreciables en los tejidos.

Con base en las investigaciones realizadas y los resultados de las autopsias, se llega a la conclusión de que la cedrina es una sustancia que en los animales, aplicada en determinadas dosis, produce envenenamientos mortales y que posiblemente actúa

sobre el sistema nervioso central, sin causar cambios apreciables en los órganos parenquimatosos o en los intestinos. En envenenamientos crónicos se aprecian cambios degenerativos en el epitelio renal (mono).

TRATAMIENTO CONTRA LA MALARIA

I. Los primeros intentos de tratamiento contra la malaria se realizaron con una solución alcohólica del extracto de semillas de cedrón, la que fue diluida a la mitad con agua y se aplicó oralmente en cantidad de 30 ml, 2-3 veces al día. Este líquido, debido al contenido de sustancias grasas, tiene un aspecto turbio y un fuerte sabor amargo, bastante desagradable. No ha sido fácil por lo tanto, convencer a los pacientes de tomar esta mixtura. Además, el producto produce malestar y diarrea. En dos casos en que se aplicó *per os* una solución al 1% del extracto seco, el tratamiento fue bien resistido. En estos casos de los que se describen dos a continuación, no ocurrió ni vómito ni diarrea.

Nº 1. C.Q.S., 14 años. Ingreso: 6 de set, 1928.

Malaria crónica. Fiebre. Sangre: *Pl. vivax* e *inmaculatum* (esquizontes y gametos). Orina normal. Tratamiento: Cedrón (solución al 1% del extracto seco) *per os*.

6-7 set.	15 ml 2 veces al día
8-9 set.	50 ml diarios. Buena salud. Temperatura normal.
10-14 set.	30 ml diarios
15-16 set.	50 ml diarios. Orina: normal.
17 set.	100 ml. Buena salud. Orina normal.
18 set.	65 ml.
19 set.	El tratamiento se suspende (tratamiento continúa con quinina) Orina: normal. Sangre: unos pocos parásitos (<i>Pl. inmaculatum</i>).

Nº 2. (véase Figura Nº 4). J.Q.S., 8 años. Ingreso: 6 de set, 1928. Fiebre con escalofríos, dolor de cabeza, anemia. Bazo: no palpable. Sangre: *Pl. vivax*. Orina: normal. Tratamiento: Cedrón (solución al 1% de sustancia seca) *per os*.

7 set. 15 ml. Bien asimilado.
 8 set. 30 ml. Bien asimilado.
 9 set. 50 ml. Bien asimilado.
 10 set. 30 ml. Sin vómito ni diarrea.
 11 set. Se suspende el tratamiento con cedrón debido a comienzos de toserina (se continúa el tratamiento con quinina). Sangre: numerosos parásitos.
 Orina: Normal.

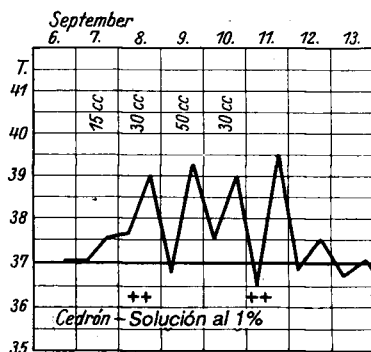


FIGURA N° 4.—Gráfico de temperatura del paciente N° 2.

II. Se continuaron los experimentos mediante inyecciones. Ya que la malaria adquirida artificialmente es más fácil de influenciar que aquella adquirida en forma natural, quisimos tratar primero, para una mejor orientación, algunos casos en los cuales se había practicado una malarioterapia en el manicomio local.

N° 3. (véase Figura N° 5). R. C., 24 años.

A esta paciente se le inyectó el 25 de setiembre de 1928 con la sangre de un paciente terciario. El 14 de setiembre aparecieron los primeros indicios de fiebre. El 16 de setiembre se comprobaron numerosos parásitos en la sangre.

Tratamiento: Cedrón (5%) intramuscular.

19 oct. 2,0 ml.
 20 oct. 3,5 ml.
 21 oct. 5,0 ml.
 22 oct. 5,0 ml. Ningún efecto secundario. Orina: normal.

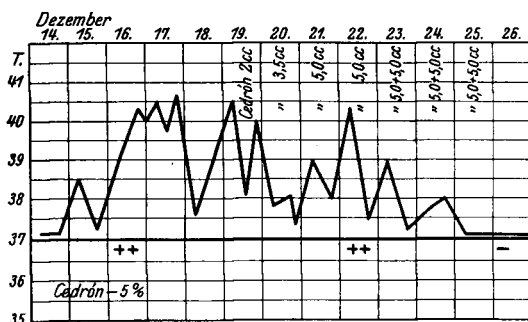


FIGURA N° 5.—Gráfico de temperatura del paciente N° 3.

- 23 oct. Dos veces al día, en la mañana y en la noche, 5,0 ml.
- 24 oct. Sin fiebre. Sangre: negativa. Se suspende el tratamiento. Dosis total 2,77 g.

Veinte días después presenta una recaída, la cual fue tratada con quinina.

El cuadro sanguíneo, antes y después de tratamiento, dio los siguientes resultados:

Fecha	Hemoglobina	Eritrocitos	Leucocitos	Poli	Linfo	Mono	Eos
29-9-1928	60%	4 800 000	8 400	50%	39%	10%	1%
19-10-1928	60%	4 800 000	4 000	53%	15%	30%	2%
27-10-1928	80%	3 200 000	11 000	57%	28%	13%	2%

III. Después de estos ensayos orientadores, nos dispusimos a tratar pacientes de nuestro hospital, los cuales habían adquirido la malaria en forma natural. Primero se trató una serie de pacientes con inyecciones por vía intramuscular, que no provoca dolor y en general es bien aceptada.

N° 4. (véase Figura N° 6). A.A. 17 años. Ingreso: 11 de enero, 1929.

Desde hace 4 semanas fiebre con escalofríos. Bazo: levemente aumentado. Sangre: *Pl. vivax*. Orina: normal.

Tratamiento: Cedrón (9%) intramuscular.

- 12 enero 4,5 ml, sin vómitos.
 13 enero 5,0 ml.
 14 enero 4,5 ml. Temperatura normal. Sangre: negativo.
 15-18 enero 6,0 ml diariamente. Estado satisfactorio, algo de mareo después de la inyección. Temperatura normal. Sangre: negativo. Orina: normal.
 18 enero En la orina aparecen cilindros granulosos. Sin albúmina. El tratamiento se suspende. Dieta de leche.
 19 enero Pocos cilindros en la orina. Estado subjetivamente satisfactorio.
 20 enero Orina sin cilindros
 28 enero El paciente abandona el hospital. Temperatura normal. Orina: normal. Sangre: negativa. Bazo todavía algo aumentado.
 4 febrero Regresa con fiebre al hospital. Sangre: *Pl. vivax*. Recaída. Tratamiento con quinina.

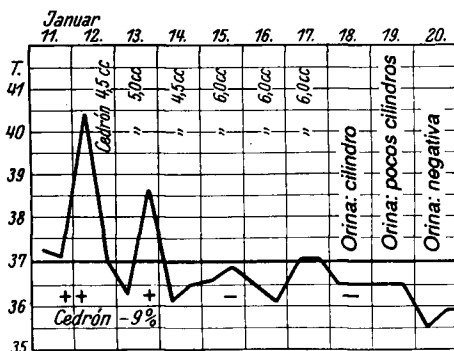


FIGURA N° 6.—Gráfico de temperatura del paciente N° 4.

N° 5. R. Q., 19 años. Ingreso 8 de enero de 1929.
 Fiebre con escalofríos. Sangre: *Pl. vivax* (recidiva).
 Tratamiento: Cedrón (10%) intramuscular, 5 ml diariamente (10 a 16 enero).

- 10 enero Resiste bien la inyección. Sin vómito.
 12 enero Temperatura normal. Sangre: negativa.

- 13-15 enero Nada anormal. Vómito después de la comida.
 16 enero Cilindros granulosos en la orina. Albúmina negativa. Tratamiento se suspende. Dieta.
 19 enero Pocos cilindros en la orina.
 20 enero Orina: negativa. Nada anormal. El paciente entra como enfermero a trabajar en el hospital y hasta ahora setiembre de 1929 no presentó recaídas.

Nº 6. C.J.S., 21 años. Ingreso: 25 de marzo, 1929.
 Desde hace dos semanas presenta fiebre con escalofríos. Bazo aumentado. Sangre: *Pl. vivax*. Orina: normal.
 Tratamiento: Cedrón (9%) intramuscular, 6 ml diariamente.

- 26 marzo Sensación de vómito después de la inyección.
 27 marzo Vómito una vez. Sensación de mareo.
 28 marzo Sin fiebre. Sangre: *Pl. vivax*.
 29 marzo Algunos cilindros granulosos y hialinos en la orina. Dieta.
 30 marzo Vómitos. Sangre negativa.
 31 marzo Orina: negativa. Buena salud.
 2 abril Tratamiento se suspende. Buena salud. Temperatura normal. Orina: negativa. Sangre: negativa.
 4 abril Abandona el hospital.

Nº 7. A.V., 20 años. Ingreso: 17 de abril, 1929.
 Desde hace dos días con fiebre (recidiva). Bazo palpable y doloroso. Sangre: *Pl. vivax*. Orina normal.
 Tratamiento: Cedrón (10%) intramuscular. 3 ml. diariamente.

- 17 abril Sensación de vómito.
 18 abril Nada anormal. Pocos parásitos en la sangre. Sensación de mareo.
 19 abril Vómito. Sangre negativa
 22 abril Huellas de albúmina en la orina
 23 abril Se encuentra un cilindro en la orina. Sin albúmina. Bazo normal. Se suspende el tratamiento.
 24 abril Abandona el hospital.

Nº 8. J.L.T., 20 años. Ingreso: 8 setiembre, 1928.

Malaria crónica. Desde hacía 5 días con fiebre, sensación de mareo, cansancio. Bazo aumentado, sensible a la presión.

Sangre: *Pl. inmaculatum* (anillos). Orina: leucocitos.

Tratamiento: Cedrón (7,5%) intramuscular.

9 set. 5,0 ml. Nada anormal.

10 set. 7,0 ml. Dolor de cabeza. Vómitos. Sensación de mareo.

11 set. 7,0 ml. Estado normal. Orina: leucocitos.

12 set. Sangre: negativa. Orina: negativa. Temperatura normal. Abandona el hospital por deseo propio.

Nº 9. R.C.I.G., 21 años. Ingreso: 11 de marzo, 1929.

Con fiebre desde hace tres semanas. Hemorragias por la nariz. Vómitos. Bazo palpable. Sangre: *Pl. inmaculatum* (esquizontes y gametos). Orina: negativa.

Tratamiento: Cedrón (9%) intramuscular.

13 marzo 6,0 ml. Vómitos dos veces. Fuerte sensación de mareo. Sudoración.

14 marzo 6,0 ml. Vómitos.

15 marzo Pocos cilindros en la orina. La dosis se disminuye a 3,0 ml. Sangre: esquizontes y gametos.

16 marzo 3,0 ml. Resiste mejor la inyección. Orina: negativa. Sangre: solo gametos, ningún esquizonte.

17 marzo 5,0 ml. Una vez vómito. Orina: negativa. Sangre: aún algunos gametos presentes.

18 marzo Sangre: negativa. Estado satisfactorio. Dado de alta por deseo propio.

IV. Ya que se observó que en un grupo considerable de casos se presentaban cilindros en la orina, se trató, en algunos casos, de comenzar el tratamiento con pequeñas cantidades para ir luego aumentándolas poco a poco. Simultáneamente, intentamos observar si en algunas ocasiones ocurría adaptación del parásito al medicamento. En algunos pacientes, alternativamente, se suministraron 5 ml de cedrina y al día siguiente 3 ml.

Nº 10. S.D., 26 años. Ingreso: 13 de mayo, 1929.

Fiebre desde hace mes y medio. Anemia. Ictericia. Orina: normal. Sangre: *Pl. vivax*. Bazo muy aumentado, sensible a la presión.

Tratamiento: Cedrón (10%) intramuscular, dosis progresiva.

16 mayo 1,0 ml. Sensación de mareo.

17 mayo 2,0 ml. Nada anormal.

18 mayo 3,0 ml. Vómito dos veces.

19 mayo 4,0 ml. Temperatura normal. Sangre: negativa.
Sin vómito. Orina: normal.

20-26 mayo 5,0 ml diarios (el 22 de mayo no se aplicó ninguna inyección con el objeto de inyectarlo al día siguiente en ayunas). Estado normal. Bazo algo disminuido, poco sensible a la presión.

27 mayo Orina: algunos cilindros hialinos. El tratamiento se suspende.

28 mayo Orina: normal.

7 junio Estado satisfactorio. Bazo: normal. Sangre: negativa. Abandona el hospital.

Nº 11. E.G.M. Ingreso: 14 de junio, 1929.

Fiebre desde hace un mes. Sangre: *Pl. inmaculatum* (anillos). Orina normal.

Tratamiento: Cedrón (10%) intramuscular alternando 3 y 5 ml (16 a 24 de junio).

16 junio 3,0 ml. Bien aceptado.

17 junio 5,0 ml. No hubo vómito.

18-24 junio Orina normal. Temperatura normal. Sangre: negativa. Sin vómitos y sin sensación de mareo.

25 junio Abandona el hospital.

V. Debido a que en experiencias con animales, encontramos que las inyecciones intravenosas son bien aceptadas (un conejo de 2 kg resistió una inyección de 0,5 ml de una solución al 10% sin que se presentaran efectos inconvenientes, se practicó en algunos pacientes el tratamiento con inyecciones intravenosas, utilizando una solución de cedrina al 5% en dosis progresivas.

Nº 12. J.F.M., 27 años. Ingreso: 22 de mayo, 1929.

Fiebre con escalofríos. Recidiva. Sangre: *Pl. vivax*. Bazo bastante aumentado, poco sensible a la presión. Orina: normal.

Tratamiento: Cedrón (5%) intravenoso.

25 mayo	1,0 ml. Sabor amargo en la boca poco después de la inyección. En la tarde, vómitos.
26 mayo	2,0 ml. Estado satisfactorio.
27 mayo	3,0 ml.
28 mayo	4,0 ml diarios. Sin vómitos. Desde el 29 de mayo sin fiebre. El 30 de mayo, sangre negativa.
8 junio	Abandona el hospital.

Nº 13. P.B., 20 años. Ingreso: 22 de mayo, 1929.

Fiebre desde hace dos días. Sangre: *Pl. vivax* y *Pl. inmaculatum*. Bazo palpable sensible a la presión. Orina: normal.

Tratamiento: Cedrón (5%) intravenoso.

25 mayo	1 ml. Bien aceptado.
26 mayo	2 ml. bien aceptado.
27 mayo	3 ml. Sabor amargo en la boca después de la inyección. Sin vómito o mareos. Orina: normal.
28 mayo	4 ml. Nada anormal. Sangre: solamente gametos Trópica.
2-6 junio	6 ml. Dos veces vómito. Orina: negativa.
Desde el	
6 junio	Sangre negativa. Bazo casi normal. Se suspende el tratamiento.
8 junio	Abandona el hospital.
5 julio	Recidiva.

VI. En algunos casos ensayamos el tratamiento por vía digestiva, mediante píldoras que fueron preparadas del extracto alcohólico seco del cedrón.

Nº 14. (véase Figura Nº 7) A.J.G., 16 años. Ingreso: 1º de mayo, 1929.

Fiebre con escalofríos. Bazo palpable, sensible a la presión. Sangre: *Pl. vivax*. Orina: normal.

Tratamiento: píldoras de Cedrón de 0,25 g.

- 3 mayo 2 píldoras. Bien asimiladas.
 4-6 mayo 4 píldoras. Sangre: fuertemente positiva (*Pl. vivax*). Ataques de fiebre se mantienen. Orina: negativa.
 7 mayo 6 píldoras. Vómito.
 8 mayo 4 píldoras y una inyección de 3 ml (10%) intramuscular. El tratamiento se continúa con inyecciones.
 9 mayo 4 ml.
 10 mayo 3 ml. Sin fiebre. Sangre: pocos parásitos. Orina: normal.
 11-13 mayo 3 ml. Vómito dos veces. Sangre: negativa. Orina: normal. Estado satisfactorio. Bazo normal. El tratamiento se suspende.
 31 mayo Recidiva.

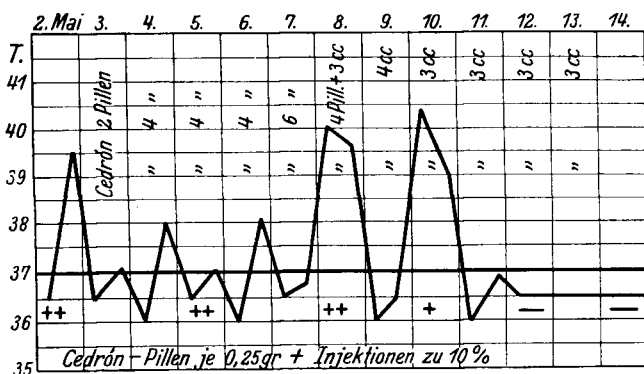


FIGURA N° 7.—Gráfico de temperatura del paciente N° 14.

N° 15. V.B.B., 24 años. Ingreso: 24 de abril, 1929.

Fiebre con escalofríos. Sangre: *Pl. vivax*. Orina: normal.

Tratamiento: píldoras de cedrón de 0,25 g, 4 píldoras diarias.

- 29 abril Sin fiebre. Sangre negativa. Orina normal.
 10 mayo Recidiva.

VII. En el caso de un paciente con malaria crónica (Trópica), con cuyo historial clínico y curva de temperatura no contábamos, iniciamos el tratamiento con inyecciones intramusculares de cedrón en una solución al 10%. Se apreció una leve mejoría, pero persistió un leve aumento de temperatura y no se pudo lograr la eliminación de los parásitos. Se suspendió el tratamiento con cedrón, continuándose con inyecciones de quinina por la vía intramuscular. Luego de la tercera inyección, el paciente sufrió un ataque de fiebre de aguas negras con hemoglobinuria y numerosos cilindros en la orina. Se trataba de un ataque leve y el enfermo convaleció al poco tiempo.

Debido a que en otros casos habíamos comprobado lesiones leves en los riñones como consecuencia del tratamiento con cedrón, creímos en la posibilidad de que el tratamiento previo con cedrón pudiera haber provocado una especie de sensibilización y, como consecuencia, que el tratamiento con quinina condujera a un ataque de fiebre de aguas negras. Sin embargo, no hemos observado nada similar en ningún otro caso en quienes sustituimos el tratamiento de cedrón por el de quinina. Por tal razón hemos supuesto que la aparición de la fiebre de aguas negras es única consecuencia del tratamiento con quinina, y no tiene ningún fundamento relacionarla con la cedrina.

Como ejemplo de la inocuidad del cedrón, puede servir de ejemplo el caso de un paciente con fiebre de aguas negras, quien fue tratado con cedrón durante tres días. Al tercer día desaparecieron los parásitos de la sangre y la fiebre cesó. A partir del sexto día se continuó el tratamiento con quinina, sin que se presentara contratiempo alguno.

Nº 16. (véase Figura Nº 8) M.R.N., 25 años. Ingreso: 7 de junio, 1929.

Fiebre con escalofríos (malaria crónica). Anemia fuerte.

Bazo: llega hasta el ombligo y está muy sensible a la presión.

Corazón: Arritmia leve y ruido sistólico. Sangre: *Pl. immaculatum* (anillos). Orina: normal. Heces: Anquilostomas.

8 junio 3 ml. Bien aceptado. Orina: normal.

9 junio 5 ml. No hay diarrea. No hay vómito.

- 10 junio 3 ml. Temperatura: normal. Tendencia al vómito.
Dolor débil de cabeza.
El tratamiento se suspende.
- 11 junio Sangre: negativa.
- 12 junio Tratamiento con quinina y azul de metileno.
Nada anormal.

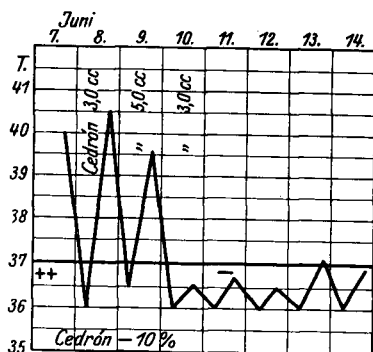


FIGURA N° 8.—Gráfico de temperatura del paciente N° 16.

N° 17. (véase Figura N° 9) R.M.M. Ingreso: 20 de marzo, 1929.

Fiebre con escalofríos. Malaria crónica. Sangre: *Pl. vivax* e *inmaculatum*. Bazo fuertemente aumentado. Hígado y bazo muy sensibles a la presión. Anemia. Heces: anquilostomas, áscaris y tricocéfalos. Orina: normal. Corazón: leve aumento de la frecuencia del pulso y ruido sistólico.

Tratamiento: cedrón (10%) intramuscular.

- 2 abril 5 ml. Vómito.
- 3 abril 5 ml. Dolores en la región del bazo.
- 4 abril 5 ml. Temperatura normal. Pocos parásitos en la sangre.
Orina: normal. Estado subjetivo satisfactorio.
- 5 abril 5 ml. Vómito.
- 6 abril 3 ml. Diarrea con sangre. Albúmina y cilindros en la orina. Sangre negativa. El tratamiento se suspende.

- 7 abril Estado de coma. Pulso acelerado, irregular, débil. Vómito, diarrea. Se suministra alcanfor y cafeína.
- 8 abril Muerte a las 10:30 a.m.
- 8 abril Autopsia a la 1:00 p.m.
- Anemia. Miodegeneración cordial. Degeneración parenquimatosa de los riñones. Hipertrfia y pigmentación del bazo (peso 290 g) y del hígado (peso 1510 g). Periplenitis crónica. Gastroenteritis con hemorragia aguda. Anquilostomiasis. Ascaridiasis. Tricocefaliasis.

Histología

Bazo e hígado: modificaciones típicas de la malaria.

Riñones: hinchazón y descamación del epitelio y masas albuminoides en algunos canales urinarios. No hubo necrosis. No se presentan infiltración de grasas en el epitelio. No se observan pigmentos de la malaria.

Intestino: hemorragias, edema y exudación de la mucosa. En algunos sitios, lesiones superficiales con destrucción del epitelio y necrosis de las capas superficiales.

Corazón: degeneración albuminoide y disociación de las fibras del miocardio.

Sangre: no hay parásitos ni indicación de pigmentos de la malaria en sangre de los capitales.

La investigación bacteriológica del contenido intestinal dio como resultado: *Bacterium coli*.

En este caso se supone qué la causa de la muerte fue el resultado de una aguda insuficiencia cardíaca, no obstante que la temperatura y los resultados de los análisis de sangre, en el

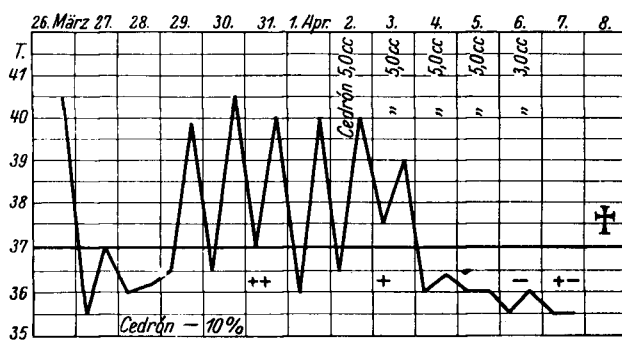


FIGURA N° 9.—Gráfico de temperatura del paciente N° 17

curso del tratamiento, fueron normales. El vómito, la presencia de albúmina y cilindros en la orina, la diarrea sanguinolenta y el estado final comatoso del paciente nos condujeron a creer en la posibilidad de un envenenamiento por causa del cedrón, o bien una extrema sensibilidad anormal del paciente. En ninguno de nuestros experimentos con animales habíamos observado cambios en el intestino. En cambio, en las autopsias, habíamos tenido ya la oportunidad de observar con frecuencia agudas gastroenteritis hemorrágicas parecidas a la observada, en las cuales tuvimos la oportunidad de hacer cultivos buscando bacilos del grupo de las paratifoideas. Aunque en este caso solamente encontramos *Bacterium coli*, no descartamos la posibilidad de que haya adquirido una infección intestinal en el hospital y que el corazón, vulnerable por la malaria y la anemia parasitaria, a consecuencia de esa infección sufriera una aguda insuficiencia cardíaca. Además, se pudo comprobar en otros casos que cantidades iguales de series de ampollas y en igual dosis, fueron resistidas sin daño alguno. De las historias clínicas se revela que otros enfermos de malaria incluso han recibido aún dosis mayores del me-

dicamento. Tal vez se explica la insuficiencia cardíaca ocurrida como una consecuencia directa de la malaria, en cuyo estado denominado "forma cardíaca" aún en tratamientos con quina puede conducir a la muerte. En pacientes débiles y especialmente cuando hay complicaciones por anquilostomiasis y daños en el corazón y los pulmones asociados a ésta, es necesario considerar que el tratamiento con cedrón puede ofrecer serios peligros.

RESUMEN

Solamente con mucho empeño logramos tener a nuestra disposición el material necesario de semillas de cedrón para la preparación de los extractos; ya que nadie impedía la destrucción de los árboles de cedrón y mucho menos se presentaba interés por su siembra. Antiguamente se lograba importar semillas de cedrón de los Estados Unidos. Sin embargo, actualmente lo intentamos sin resultado alguno. Tuvimos entonces que recurrir al envío de personal al campo, en la época de maduración de los frutos, para seleccionar algunos árboles y poner a nuestra disposición las semillas.

Por motivo de esa dificultad en el abastecimiento del material, el número de casos tratados fue bajo, lo que no nos permite llegar a resultados que nos dejen derivar adecuadas conclusiones.

Nosotros tratamos exclusivamente por medio de variaciones en el método de tratamiento y de seguimiento exacto del curso de la enfermedad, llegar a ciertas comprobaciones, cuyos resultados deberán ser verificados en un material numeroso. Nuestras observaciones se pueden resumir como sigue:

1. **Tratamiento por vía oral:** el sabor desagradable y los resultados no muy favorables, y por sí mismos completamente negativos del tratamiento per os, en casos que posteriormente dieron buenos resultados mediante inyeccio-

nes (Paciente N° 14), nos condujeron a renunciar a ese tratamiento. Se logró, tal vez, una mejoría clínica o una cura, pero los parásitos no desaparecieron de la sangre. Los indígenas pueden haber obtenido por consiguiente y en el mejor de los casos, solo resultados aparentes, aun cuando el tratamiento fuera sistemático y por largo tiempo.

2. **Inyección Intramuscular:** estas fueron bien resistidas en las dosis y concentraciones que al efecto utilizamos. Frecuentemente las inyecciones fueron seguidas por náuseas más o menos fuertes, síntomas de mareos y vómitos. Sin embargo, estos efectos secundarios desagradables pueden evitarse, en muchos casos, aplicando las inyecciones en horas tempranas en la mañana y en ayunas. En la mayoría de los casos observamos, después de 3 a 4 días de iniciado el tratamiento, la desaparición de los parásitos y la ausencia de la fiebre. Aún más, pudimos determinar la desaparición de los gametos Trópica.

La inflamación del bazo disminuyó y las dolencias subjetivas se mejoraron rápidamente. Es necesario, en todo caso, controlar diariamente la orina, ya que pudimos observar en un alto número de pacientes la expulsión de cilindros en la orina (en la mayoría de los casos sin prueba positiva de albúmina), lo que indica un débil daño degenerativo del epitelio renal. Al disminuir la dosis, o al suspender el tratamiento, desaparecen los cilindros de la orina inmediatamente.

3. **Inyección intravenosa:** con inyecciones intravenosas, manteniendo las mismas dosis, se logra la curación clínica y la desaparición de los parásitos de malaria de la sangre. No se observaron efectos secundarios desagradables (Pacientes N° 12 y 13). Al menos, nos parece que el tratamiento intravenoso no presenta contraindicaciones.
4. **Recidivas:** sobre la frecuencia de recidivas después de los tratamientos practicados por nosotros, no podemos dar datos, puesto que la mayoría de los pacientes dejan el hospital sin someterse a ninguna observación posterior. En al-

gunos casos, pudimos nosotros mismos observarlas, sin embargo ocurrieron transcurrido el mismo tiempo con que ocasionalmente se dan después de un tratamiento con quinina. Uno de los pacientes (Nº 5) es enfermero en nuestro Hospital y hasta ahora (setiembre 1929) se ha mantenido libre de recidivas.

CONSIDERACION FINAL

La cedrina pareciera ser un medicamento eficaz contra la malaria. Debido a que pertenece al grupo de los glucósidos, la investigación químico-farmacéutica de la cedrina podría abrir nuevos caminos a la terapia de la malaria.

Finalmente queremos agradecer al señor Dr. F. Alvarado y al señor Dr. M. Luján por habernos facilitado su material clínico. Al señor R. Quijano queremos agradecerle su ayuda generosa para la obtención de las semillas de cedrón.

NOTAS

1. Picado C., *Traitement diastasique de l' envenimation cobraique expérimentale. Compt. rend. Soc. Biol.* 98 : 1130, 1928.

NUEVO TRATAMIENTO DE LA VIRUELA

Habiendo tenido ocasión de estudiar el efecto de la cedrina sobre el veneno de cobra¹ y sobre los hematozoarios del paludismo humano² y constatando que tanto en el caso del parásito del paludismo, como en el caso de un veneno cuyo trabajo es de orden diastásico, en parte cuando menos, fuimos tentados de experimentar los efectos de este glucósido sobre los ultravirus y algunas enfermedades que producen. Este intento se justificaba ampliamente por el hecho de que, si bien es cierto que los ultravirus son considerados como parásitos por la mayoría de los investigadores, otros, más sagaces o más osados, piensan que las infecciones a ultravirus entran en el orden de las alteraciones diastásicas transmisibles en serie. En esos días no disponíamos sino de virus vaccinal; luego estudiamos la infección difterovaricólica de gallinas y de palomas y finalmente de la viruela en el hombre.

I. CEDRINA Y VIRUS VACCINAL EN EL CONEJO

Besredka³ mostró que si se inyecta virus vaccinal en el peritoneo de un conejo, teniendo cuidado de respetar la piel, el animal queda tan sensible a la vacunación cutánea como si fuera nuevo. Esta constatación fue justamente una de las que sirvieron de base a su doctrina sobre la vacunación local. Sabemos, por otra parte, que si inyectamos, en cantidad suficiente, la linfa vaccinal por vía intravenosa, a un conejo, y si, al mismo tiempo epilamos una región cualquiera, a los pocos días (4 a 5 generalmente) vemos producirse en la región depilada una erupción varioliforme típica (Figura N° 1). Ahora bien, si a un conejo le in-



FIGURA Nº 1.—Erupción varioliforme en un conejo inyectado por vía intravenosa con linfa vaccinal.

yectamos por vía intravenosa una mezcla constituida por la dosis útil de linfa vaccinal más 0,02 g de cedrina, y si cada uno de los 5 días que siguen inyectamos 0,02 g de cedrina, constatamos que en la región depilada el día de la primera



FIGURA Nº 2.—Conejo inyectado como el Nº 1, pero tratado por cedrina. Ninguna erupción se produce.

inyección de linfa vaccinal + cedrina no se produce ninguna erupción (Figura Nº 2). Otro tanto sucede si inyectamos la linfa vaccinal por una vena y algunas horas después, la cedrina por otra, y si continuamos con la cedrina en los 4 días que siguen⁴.

(En la nota que citamos omitieron, por error, el decir que después de la inyección de linfa vaccinal continuamos con la cedrina en los 5 días que siguen a igual dosis). Pareciera que la cedrina ha destruido el virus vaccinal, pues si al cabo de dos semanas vacunamos por escarificación dérmica estos conejos vemos que quedan tan susceptibles a esta vacunación como los animales nuevos. Sin embargo, a pesar de las apariencias, el caso no es así; en efecto si a estos conejos tratados por linfa vaccinal + cedrina, les hacemos, al cabo de dos semanas, una nueva inyección endovenosa de linfa vaccinal (sin cedrina en este caso) seguida de la depilación correspondiente, vemos que la erupción cutánea tampoco aparece. Es decir que la piel ha quedado inmunizada contra la infección endógena y no contra la infección exógena. La explicación de estos hechos es la siguiente: tanto en los conejos primovacunados por escarificación dérmica como en los conejos tratados por la vacuna + cedrina, se forman anticuerpos fácilmente puestos en evidencia por la fijación del complemento y por tener un suero que preserva los animales nuevos. Estos hechos pueden tener una importancia práctica más grande que la de orden puramente teórico, pues justamente la viruela se adquiere como una infección general y las pústulas dérmicas tienen origen endógeno, por oposición a las viruelas de inoculación directa o variolización que sí son de origen exógeno como la vacuna del Cow-pox. Estas diversas modalidades de inmunizarse explicarían, por otra parte, las inmunidades criptogénicas tan corrientes para diversas enfermedades. No basta pues, decir que se está inmunizado contra la enfermedad, sino que hay que saber cómo es que se está ya que la enfermedad que no puede franquear una puerta de entrada puede invadirnos por otra vía.

Tal es la nueva noción que se desprende de estas experiencias.

II. CEDRINA E INFECCION DIFTERO-VARIOLICA AVIARIA

Hay que tomar en cuenta que la infección diftero-variólica aviaria produce una serie de brotes sucesivos, que las reinfecciones encuentran al sujeto en marcado estado de alergia⁵ y que la infección es auto-inoculable por nuevas roturas dérmicas has-

ta que se establezca la inmunidad, lo cual sucede, a veces, muchas semanas más tarde. Si queremos determinar el valor antagonista de un producto, debemos hacerlo tomando en cuenta la primera erupción que aparece generalmente cerca del sexto día después de la inoculación experimental. Al principio nos absteníamos de producir escarificaciones dérmicas y nos sucedió frecuentemente que, en el caso de los pollos, el sujeto no presentara ni epitelomas ni placas pseudo-membranosas, sino la forma catarral. (Todas nuestras experiencias confirman la concepción unitaria del virus en sus tres manifestaciones: difteria, epitelomas, catarro). Para los estudios ulteriores, al momento de inocular el virus por vía endovenosa, hacemos en la cresta y barbas de los pollos testigo y de los tratados, una sola escarificación mediante un corcho atravesado por agujas y cuyas puntas sobresalen; logrando así obtener igual número de punzadas, de igual profundidad e igualmente separadas una de otra.

Tratamos palomas con virus proveniente de palomas naturalmente infectadas y los pollos recibieron virus proveniente de pollos, pues sabido es que el virus colombino ataca también las gallináceas, mientras que el virus gallináceo no ataca las palomas. En nuestro caso cada cual recibió su propio virus y nos acercamos así a la enfermedad natural.

A) Palomas: tomamos 4 pichones ya emplumados, pero que aún no sabían volar; así estábamos seguros de que no habían antes contraído una infección capaz de inmunizarlos. Todos se inyectan con 0,1 centímetro cúbico de emulsión de epiteloma al 1/50 en 0,5 centímetro cúbico como volumen total y por vía intravenosa – dos quedan como testigos y los otros dos reciben, junto con el virus 5 miligramos de cedrina: esta dosis se repite diariamente. El día octavo los testigos tienen nódulos en la parte pectoral que fue desplumada al momento de infectarlos; la cavidad bucal presenta placas diftéricas. Los tratados no presentan nada en el pecho y uno de ellos tiene una placa diftérica en la región palatina (única). Continuamos inyectando los 5 miligramos diarios de cedrina hasta el día doce en que suspendemos el tratamiento. A esta fecha las

palomas tratadas están perfectamente, mientras que los testigos siguen empeorando y tienen ya nódulos hasta en las patas. Más tarde las palomas que habían sido tratadas, pero que se dejaron en la vecindad inmediata de las otras también se contaminan, pero después de un período no menor del doble del período normal de incubación y que, por lo tanto, no debemos atribuir a nuestra infección experimental. En varias otras experiencias con palomas pudimos notar que aunque introdujéramos variantes diversas en cuanto a las dosis y modos de administración de la cedrina y aún cuando no se yugulase la infección, las aves tratadas presentaron siempre infecciones menos graves que las testigo.

B) Pollos: en una experiencia preliminar, en un lote de pollos de dos meses, infectados experimentalmente con una inyección intravenosa enorme de emulsión virulenta (0,1 centímetro cúbico de jugo de epiteloma fresco al 1/10) notamos que en los testigos el promedio de bubas y placas diftéricas al séptimo día de infectados fue de 53 por animal, mientras que los pollos tratados durante esos 7 días por 0,02 g de cedrina al día, no dieron sino 43. Notamos, además, que de dos pollos que presentaron una erupción absolutamente confluyente, en cresta, barbas y región periorcular, el tratado sanó primero y las carúnculas quedaron sin placas lívidas como en el testigo. Más o menos cada 4 días se producía un brote nuevo de nódulos y placas que pronto desaparecía en los tratados. El primer animal que quedó definitivamente curado fue también un pollo tratado. En otras experiencias algunos, aunque no todos, de los pollos que recibieron una mezcla de virus más cedrina efectuada al instante de inyectarse, y que continuaron tratándose luego con cedrina durante 12 días, no presentan manifestaciones de la enfermedad.

Finalmente, si de la emulsión virulenta al 1/50, tomamos 0,3 centímetro cúbico y la mezclamos con 0,3 centímetro cúbico de cedrina al 10% y dejamos dos horas en contacto, obtenemos una mezcla que inoculada a un pollo por vía intravenosa, no le produce ningún malestar general, se forman una o dos vesículas en la cresta o barbas y el animal queda curado definitivamente.

La Figura N° 3 nos muestra dos pollos que recibieron la misma cantidad de emulsión virulenta por vía intravenosa; cresta

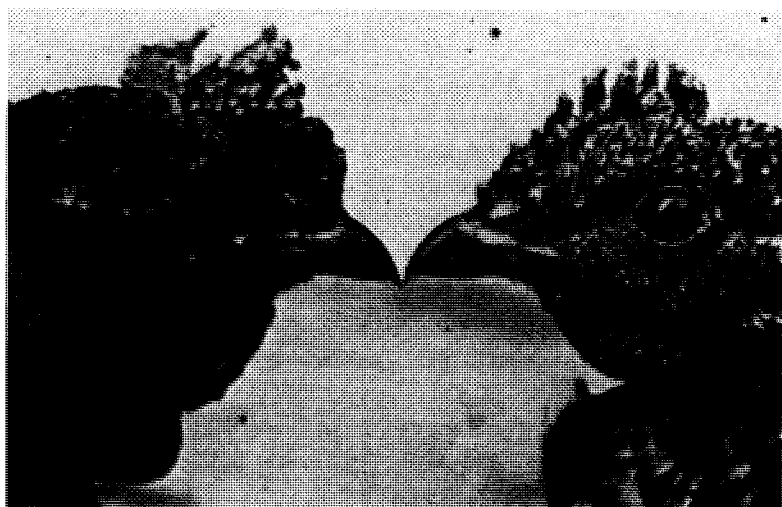


FIGURA Nº 3.—Pollos inyectados con virus de la viruela aviaria por vía intravenosa. El de la derecha se ha tratado con cedrina; el de la izquierda sin tratamiento.

y barbas recibieron la misma impresión escarificante (agujas en corcho). Uno queda como testigo y presenta al noveno día 113 vesículas, el otro se trata tres días con 0,06 g diarios de cedrina y luego con 0,04 g diarios durante seis días; presenta entonces 71 vesículas mucho menos pronunciadas que las que se presentan en el testigo. El tratamiento por la cedrina puede, pues, según las ocasiones: impedir la formación de bubas, disminuir su número, reducir su tamaño, abreviar el período de la enfermedad y mejorar el estado general del animal infectado.

III. VIRUELA HUMANA

Los hechos que hemos descrito, particularmente la supresión total de la erupción vaccinal del conejo, si la infección se efectúa por vía endovenosa, nos hicieron suponer que la inyección de cedrina practicada al hombre atacado de viruela en

el período de fiebre y antes de que la erupción aparezca, podría morigerarla y quizás impedirla. Solo en una gran epidemia podría presuponerse cuáles individuos habrían de brotarse y aplicar en ellos el tratamiento abortivo. Pero como además constatamos en los conejos que aquellos que se vacunan por vía dérmica mediante escarificaciones y que reciben el tratamiento de cedrina, presentan lesiones muy atenuadas y que evolucionan más rápidamente que en los testigos, juzgamos que la cedrina aplicada en los comienzos de la erupción, podría beneficiar a los atacados por la viruela.

En ese tiempo no teníamos viruela en Costa Rica, pues la última epidemia databa de más de 20 años. Con el objeto de hacer experiencias y aprovechando la ayuda pecuniaria de la Junta Directiva de nuestro Hospital, enviamos entonces a Panamá, atacado entonces por la peste, a nuestro compañero de Laboratorio, Don Luis Bolaños, que desinteresadamente se ofreció para ello. Nada pudo hacerse en Panamá, pues el último enfermo abandonaba el Hospital Gorgas el mismo día que el Sr. Bolaños llegaba. Es este el momento de consignar nuestro agradecimiento por las facilidades y buena acogida que obtuvo allí nuestro enviado.

En el mes de marzo llegaron a San José dos nicaragüenses incubando viruela contraída en su país de origen, donde el flagelo se extendía en "Santa Libertad". Tanto el uno como el otro fueron aislados en la casa que se acondicionó para ello, pero no antes de que el contagio quedara establecido. Poco a poco fueron apareciendo nuevos casos que ingresaron al aislamiento, más o menos tardíamente, a pesar de los meritorios esfuerzos del Ministerio. El Dr. Don Solón Núñez, Ministro de Salubridad, nos autorizó desde un principio para instituir allí nuestro tratamiento. Gracias a ello y a la diaria colaboración de nuestros compañeros de Laboratorio: Don Luis Bolaños que practicó las inyecciones y Don Manuel Picado que tomó las fotografías, el trabajo se llevó a buen fin y a todos testifico profundo reconocimiento.

Antes de historiar brevemente los casos, advirtamos que los hemos colocado, no en orden cronológico, sino tomando en cuenta el lapso de tiempo transcurrido entre la erupción, la iniciación del tratamiento y la duración para sanar.

Sabiendo que en la viruela es quizás tan temible la fiebre de supuración y las infecciones secundarias como la enfermedad inicial, asociamos al tratamiento por cedrina, las inyecciones de levaduras que desde hace varios años empleamos con éxito en infecciones varias piógenas o no⁶. Estas inyecciones están tanto más indicadas cuanto que las levaduras, aun por vía digestiva, han dado excelentes resultados en el tratamiento de las fiebres de supuración de la viruela. En las historias resumidas que siguen, se verán las formas diversas de asociación que empleamos, así como la vía y dosis para las inyecciones de cedrina.

CASO N° 1

G. C. (Figuras N° 4 a 6) El 22 de marzo tenía 39°C de fiebre. Se brotó el 24 y ese mismo día fue conducido al aislamiento. El 31 se comienza a tratar con inyecciones de 5 centímetros cúbicos de cedrina al 10%. Del 1° de abril hasta el 4, inclusive, recibe cada día una inyección intramuscular de cedrina de 1/2 gramo en 5 centímetros cúbicos. A partir del 2 comienza a secar pero hay fetidez, por eso, a partir del 5, se trata con 2 centímetros cúbicos subcutáneos diarios de vacuna de levaduras que mejoran las ulceraciones con rapidez; se continúa con estas inyecciones hasta el 11 de abril en que está completamente seco. El período comprendido entre la erupción y la desecación fue de 18 días. El enfermo queda marcado con oquedades netas.

CASO N° 2

M. A. Z. (Figuras N° 7 a 9). Se brota el 9 de abril pero no es descubierto y aislado sino el 16, en que se comienza a tratar con 5 centímetros cúbicos de cedrina al 10%, intramuscular, con un total de 5 inyecciones. Del 21 al 26 se trata al día con 2



FIGURA N° 4.—Caso N° 1.—Día 13° de brotado y 7° de tratamiento.



FIGURA N° 5.—Caso N° 1.—Día 19° de brotado.



FIGURA Nº 6.—Caso Nº 1.—Día 34º después de brotado. Quedan cicatrices marcadas, particularmente en la nariz y orejas.

centímetros cúbicos de vacuna de levaduras, quedando ya seco y los granos cayendo, para quedar limpio el 28.

Queda con pocas picadas, casi imperceptibles, en la nariz y manchas de color unido sin bordes.

CASO Nº 3

E. A. (Figuras Nº 10 y 11). Se brota el 23 de marzo. El 31 se inyecta con 5 centímetros cúbicos de cedrina intramuscular al 10%. El 1º de abril se repite la inyección. El 2, 3, 4 y 5 recibe, a la vez que la inyección intramuscular de cedrina 2 centímetros cúbicos de vacuna de levaduras bajo la piel. A esta fecha está ya bien; la infección fue muy leve y al paciente le quedan dos cicatrices interciliares y manchas muy leves.



FIGURA Nº 7.—Caso Nº 2.—Día 14º de brotado y 8º de tratamiento.



FIGURA Nº 8.—Caso Nº 2.—Día 21º de brotado.



FIGURA N° 9.—Caso N° 2.—Mes y medio después de brotado.

CASO N° 4

M. D. (Figuras N° 12 y 13). Se brota el 12 de mayo; comienza a tratarse el 15. Recibe, a la vez, cada día cedrina y levaduras a las dosis ya indicadas durante 4 días, época en que comienzan a secar. Se continúa con solo levaduras hasta el 22 en que comienzan a caer las costras. El 26 casi todas han caído. No quedan cicatrices, solamente manchas sin borde obscuro.

CASO N° 5

M. T. A. Se brota el 12 de abril. Del 16 al 20 se trata con cedrina intramuscular. Las vesículas han secado. Se ponen el 22 y el 23 vacunas de levaduras a la dosis de 2 centímetros cúbicos subcutáneos por día. Ya no quedan viruelas sino en los pies, las demás han caído. No quedan cicatrices, solamente manchas sin borde.

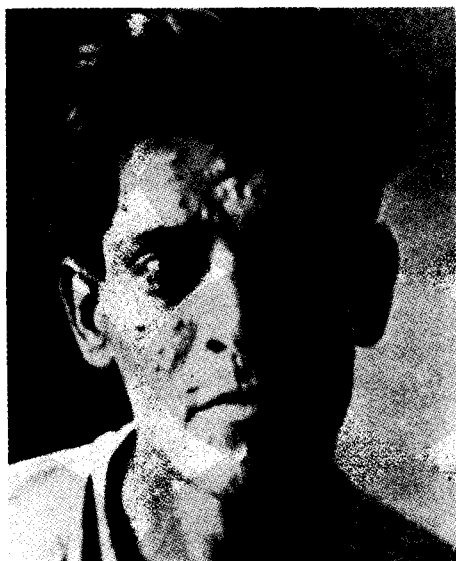


FIGURA N° 10.—Caso N° 3.—Día 11° de brotado y 3° de tratamiento.



FIGURA N° 11.—Caso N° 3.—Día 33° de brotado.

CASO N° 6

R. A. Forma muy benigna. Se brotó el 5 de mayo y el 9 se trata con vacunas de levaduras, exclusivamente. Se trata hasta el 14, en que las pocas vesículas han secado. Esta enferma fue vacunada con éxito 15 días antes de brotarse de viruela y pueda que a ello se deba la benignidad de la enfermedad.



FIGURA N° 12.—Caso N° 4. Día 5° de brotado y 2° de tratamiento.

CASO N° 7

M. L. (Figuras N° 14 y 15). Se brotó el 18 de abril y no fue aislado sino el 28. Tiene una enfermedad muy benigna y como es un caso tardío se trata solamente con levaduras hasta el 4 de mayo en que está casi seco. Queda con manchas poco pronunciadas.



FIGURA N° 13.—Caso N° 4.—Día 34° de brotado.

CASO N° 8

M. O. Se brota el 21 de abril. Se trata de una niña de menos de un año. Por temor, no tratamos con cedrina este caso sino que a partir del día 22 se comienza a tratar con un centímetro cúbico de vacuna de levaduras al día; se sigue tratando hasta el 28 que las pústulas están secas. No quedan cicatrices, solamente manchas que comienzan a desaparecer rápidamente.

La corta edad y el ser hija de una mujer que soportó la enfermedad quedando sin cicatrices y con manchas poco numerosas y poco pronunciadas explicaría, tal vez, el cortísimo período de evolución.

CASO N° 9

J. A. Se brota el 17 de mayo y lo aíslan el 21. Tiene unas pocas vesículas purulentas a esa fecha. Se trata solamente con

levaduras. El 22 se han secado las de la cara. El 24 solamente hay en los pies; el 26 todo ha secado y se suspende el tratamiento.

CASO N° 10

E. Z. (Figuras N° 16 a 19). Comienza a brotarse el 7 de abril. El 8 se inyecta con 8 centímetros cúbicos de cedrina al 5%, por vía intravenosa, y así los días que siguen. El 11 está la cara en pústulas y muchas de las manchas de la espalda se atrofian sin llegar a pápulas. El 13 comienzan a secar las vesículas del pecho y de la espalda. El 15 está muy bien como estado general. Se suspende la cedrina y se continúa con inyecciones de levaduras. El 16 las vesículas de la cara comienzan a reabsorberse sin hacer grano. El 19 se suspende el tratamiento, pues todo se ha secado por reabsorción, como si se hubiese tratado de vesículas de caucho infladas con aire.

CASO N° 11

C. N. (Figuras N° 20 a 24). Se brota el 30 de marzo. El 1° de abril se inyecta con 5 centímetros cúbicos intramusculares de cedrina al 10%. El caso es muy grave, la postración es completa. Hay albúmina en la orina y por ese motivo no inyectamos más cedrina. Se sigue tratando con 2 centímetros cúbicos subcutáneos diarios de vacuna de levaduras. El 6 no puede hablar ni abrir los ojos. El 7 hay una fuerte hemorragia nasal y todos creímos en su muerte. El 8 amanece muy bien. Los ojos están abiertos, habla perceptiblemente y tiene hambre (desde el 3, sólo algunos sorbos de agua había tomado). El 10 la espalda y el pecho están secos. El 11 la cara comienza a secar. El 15 está seco del todo. Se sigue inyectando con inyecciones de levaduras hasta el 22 inclusive. No quedan sino pocas picadas en la nariz y manchas poco pronunciadas en el cuerpo.

CASO N° 12

V. S. (Figuras N° 25 a 28). Este caso pudimos seguirlo mejor que los demás, pues se trataba de un empleado de nues-

tro Hospital que en cuanto se brotó fue aislado por el Sr. Superintendente del Establecimiento, Dr. Don Rafael Calderón Muñoz, quien bondadosamente me permitió tratarlo desde ese día en



FIGURA N° 14.—Caso N° 7.—Día 10° de brotado y 1° de tratamiento.



FIGURA N° 15.—Caso N° 7.—Día 28° después de brotado .

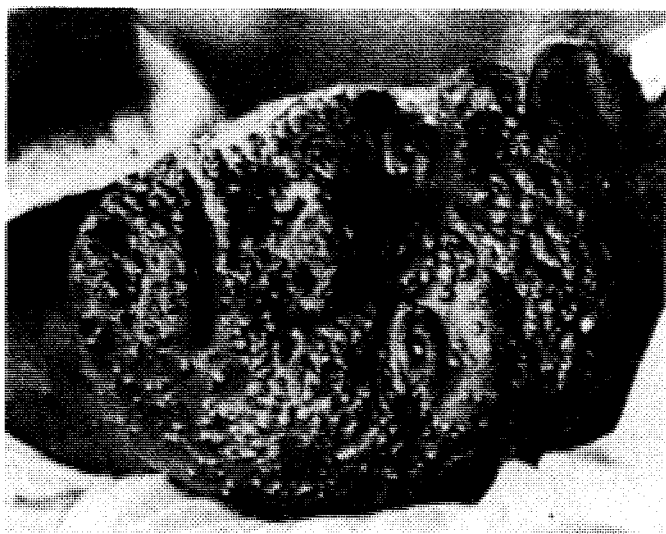


FIGURA N° 16.—Día 6° de brotado y 4° de tratamiento.



FIGURA N° 17.—Caso N° 10.—Al 19° día de brotado hay reabsorción de las viruelas.



FIGURA N° 18.—Caso N° 10.—A los 23 días la epidermis está lisa sin formación de costras.



FIGURA N° 19.—Caso N° 10.—Un mes después de brotado.

que recibe 5 centímetros cúbicos de cedrina al 10%, intramuscular. Se comienza el 31 de marzo en que se brotó y se sigue así hasta el 5 de abril, fecha en que recibe a la vez la última inyección de cedrina y la primera vacuna de levaduras. Se sigue con las levaduras solas. El 5 está secando y el 12 está concluida la evolución de la enfermedad. Como puede juzgarse por las fotografías adjuntas, el caso no era leve y este enfermo salió del trance sin una sola cicatriz y quedó sin manchas en la cara, manos y antebrazos. En el cuerpo quedaron manchas leves.

CASO N° 13

P. R. (Figuras N° 29 a 31). El 17 de mayo es llevado al Hospital para su examen; tiene la cara inflamada y llena de pápulas. Los médicos que lo examinan tienen dudas acerca de la naturaleza de la enfermedad. Lo inyectamos con 10 centímetros cúbicos de cedrina por vía intravenosa y 2 centímetros



FIGURA N° 20.—Caso N° 11.— Día 5 de brotado y 3° de tratamiento.

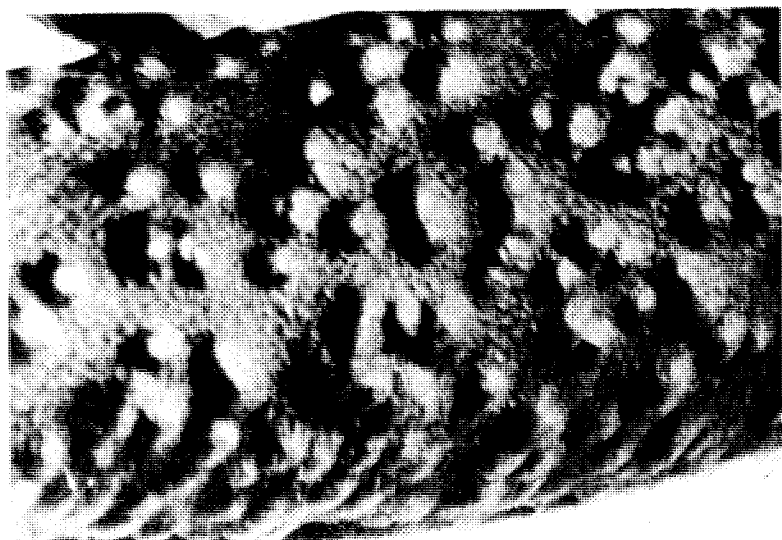


FIGURA N° 21.—Caso N° 11.—Antebrazo —tamaño natural— al 7° día de brotado.



FIGURA N° 22.—Caso N° 11.—El 14° día de brotado.



FIGURA N° 23.—Caso N° 11.—Antebrazo al 14° día, una vez seco.



FIGURA N° 24.—Caso N° 11.—Un mes después de brotado.

cúbicos de levaduras. Es trasladado al aislamiento general. El 18, las pápulas de la cara parece que van a desaparecer. Se trata como el día anterior, el 19, las pápulas de la cara se acentúan y comienza a brotarse en el pecho y en la espalda. Recibe 10 centímetros cúbicos intravenosos de cedrina y 2 centímetros cúbicos subcutáneos de levaduras. El 20 todo parece secar y se trata como el día anterior. El 21 hay vesículas purulentas en la espalda, se trata lo mismo por última vez. Como algún médico dijera que se trataba de vacuna generalizada (el enfermo había sido vacunado unos 15 días antes, pero no tiene vacuna local), tomamos pus de una vesícula y probamos con ella un conejo nuevo que no presentó vacuna, pero que probado nuevamente 10 días después, con linfa vaccinal, se mostró receptible. De todos modos, el médico encargado resuelve separarlo del aislamiento general y llevarlo a la casa en que se aíslan los sospechosos. El 22 está completamente bien y le quedan solamente manchas negras poco pronunciadas en la espalda y algunas en



FIGURA Nº 25.—Caso Nº 12.—Día 7º de brotado y 7º de tratamiento.



FIGURA Nº 26.—Caso Nº 12.—Día 12º de brotado. La cara está limpia.



FIGURA Nº 27.—Caso Nº 12.—Al 23º día de brotado. Ni la más leve cicatriz. Las manchas van desapareciendo.



FIGURA Nº 28.—Caso Nº 12.—A los dos meses nadie creería que padeció de viruela.

la palma de las manos, pero que nunca llegaron a vesículas. El enfermo queda por unos días más en la casa de los sospechosos y luego lo dejan libre. Por consecuencia, este enfermo, según creemos nosotros, no figurará como varioloso en las listas.

Nosotros buscamos *Treponemas* en las lesiones locales sin éxito alguno. La reacción de Wassermann es negativa, pero el suero de este enfermo, estudiado comparativamente con los sueros de otros variolosos del aislamiento, fija el complemento, en presencia de antígeno vaccinal, tan intensamente como la mayoría y aún más que algunos.

DISCUSION

- A) El caso Nº 1, comenzado a tratarse 8 días después de brotado, duró para secar 18 días y quedó con huecos en la piel. El caso Nº 2, comenzado el 8º día, duró en secar 17

días, y el N° 3, comenzado también el 8° día, duró solamente 12, pero la infección fue muy leve; quedaron en ambos picadas muy finas y escasas.

- B) El caso N° 7 se comenzó a tratar con sólo levaduras el 10° día, era muy benigno y sin embargo duró en secar 17 días, quedando con manchas poco pronunciadas.
- C) Los casos 4, 5 y 6 se comenzaron a tratar el 4° día después de brotados y duraron en secar de 12 a 14 días, quedando los enfermos con manchas leves sin borde oscuro.
- D) Los casos 8 y 9 duraron sólo 10 días en estar secos y fueron comenzados el 2° y el 5° día de brotados; en ninguno de ellos había signos alarmantes, sino al contrario, muy benignos.



FIGURA N° 29.—Caso N° 13.—Al 2° día de iniciado el brote y 2° de tratamiento.



FIGURA Nº 30.—Caso Nº 13.—Vesículas de la espalda aparecidas al segundo día.

- E) Los casos 10 y 11 fueron bastante serios, sobre todo el último, se comenzaron a tratar el 2º día y duraron 12 y 17 días, respectivamente, quedando con leves picaduras.
- F) El caso Nº 12 fue al menos tan intenso como los Nos. 1 y 10. Se comenzó a tratar el primer día de brotado, no duró sino 12 días para que cayeran las costras y quedó prácticamente sin nada.



FIGURA Nº 31.—Caso Nº 13.— Al 17º día de haberse brotado, no percibiéndose sino algunas verrugas naturales.

- G) El caso Nº 13, que fue tratado el primer día y por vía intravenosa (único a 1/2 gramo de cedrina por esta vía) quedó bien el 5º día. Si alguien se empeña, sin embargo, en que no fue viruela..., está bien, no nos hace falta.

Bien sabido es que en la viruela, el brote del tronco es posterior al del rostro, por consiguiente y considerando su edad, las viruelas del tronco fueron tratadas antes que las del rostro y en ellas pudimos asistir a un fenómeno neto de absorción de muchas de ellas que llegaron solamente a mácula o pequeña pápula, regresando luego sin llegar jamás a vesícula, el número de estas viruelas es de un 30 a 40%. Las manchas de la espalda presentan, en los enfermos tratados, menores contrastes que

en los no tratados. En estos últimos el tiempo transcurrido entre el brote y la caída de las costras fue de 29 a 30 días y los enfermos quedaron, sea con cicatrices, sea con manchas más claras que el resto de la piel y bordeadas por un ribete de tono más intenso que la piel natural.

CONCLUSIONES

1. El tratamiento por la cedrina instituido precozmente, disminuye las lesiones iniciales de la viruela.
2. Las inyecciones de levaduras impiden o morigeran las infecciones secundarias.
3. El tratamiento de la cedrina y de las vacunas de levaduras ha reducido a la mitad, en el 80% de los casos tratados, la duración del período de enfermedad, saliendo los enfermos casi intactos del trance.

BIBLIOGRAFIA

1. **Compt. Rend. Soc. Biol.** T. XCVIII, pág. 1130. 1928.
2. Esta Revista, año XV, pág. 380. 1929.
3. **Bull. de l' Inst. Pasteur**, pág. 477. 1922.
4. **Compt. Rend. Soc. Biol.** T. CIII, pág. 309. 1930.
5. Verge (J). **L'affection diphtero-variolique des Oiseaux**. Thèse Doctorat Vétérinaire. Alfort. 1926.
6. **Compt. Rend. Soc. Biol.** T. XCVII, pág. 225. 1927.

VACUNA SENSIBILIZADA CONTRA VIRUELA

Si el empleo de vacunas bacterianas sensibilizadas, según el procedimiento de Besredka, entró en la práctica corriente, no sucede así con las vacunaciones contra las enfermedades producidas por ultravirus; entre éstas, la morriña es probablemente la única enfermedad cuya vacunación fue beneficiada por este procedimiento.

Se está de acuerdo en admitir que los efectos colaterales fastidiosos debidos a la vacunación contra la viruela, entre las cuales se encuentra la encefalitis que es sin duda la más temida, se deben a una exaltación de la virulencia de las cepas.

Para remediar estos inconvenientes, nos esforzamos por preparar una vacuna sensibilizada que, sin perder sus propiedades de vacunación, fuese poco virulenta. El suero antivaccinal fue provisto por un conejo que recibió, varias veces, linfa de la vacuna por vía intraperitoneal, cutánea y endovenosa. La vacuna fue preparada mezclando, en partes iguales, suero y linfa vaccinal glicerizada. Se puede conservar esta mezcla en refrigeración durante 24 a 48 horas, sin dañar su vitalidad, pero preferimos preparar la mezcla, llevarla 10 minutos a 37°C, y emplearla de inmediato.

Las primeras vacunaciones hechas en niños de 3 a 8 años (una sola estría de 5 mm) dieron vesículas de algunos milímetros con muy poca inflamación, fiebre ligera o nula, caída de los granos al cabo de 18 a 20 días (30 para los testigos) y cicatrices puntiformes. Ensayamos entonces la vacunación intradérmica: los resultados fueron los mejores. La inyección de 0,05 centímetros cúbico de la mezcla virus anti-suero fue seguida, en el décimo día, por la formación de una aureola roja (Figura N° 1)

con una ligera inflamación y un poco de fiebre, pero no hubo, normalmente, formación de vesícula y por lo mismo no hubo infección local de temer.

La misma linfa vaccinal, en la misma dilución, pero sin anti-suero, produce por vía intradérmica, una pústula que llega a ser más bien una vesícula. En los niños vacunados con ayuda del virus + anti-suero se forma un nódulo intradérmico, grueso como un guisante, el cual comienza a desaparecer al cabo de un mes; el niño queda inmune a las vacunaciones por escarificación dérmica. En los ancianos vacunados, refractarios a las vacunaciones por escarificación, se da la formación de nódulos intradérmicos. El nódulo parece testimoniar una vacunación positiva.

La figura adjunta muestra al centro una fotografía de una vacuna intradérmica no sensibilizada, que evolucionó bajo la for-

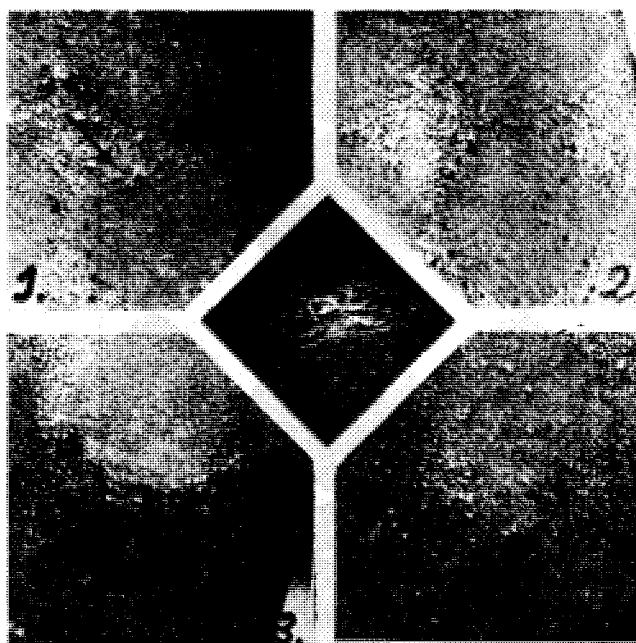


FIGURA N° 1.—Vacuna intradérmica, décimo segundo día. No sensibilizada al centro. 1, 2, 3 y 4 sensibilizada. El punteado indica la zona del eritema. La flecha muestra una vesícula en la N° 1.

ma de vesícula en el padre, y la de sus cuatro niños, que fueron vacunados al mismo tiempo, por vía intradérmica, pero utilizando la vacuna sensibilizada. En uno de esos niños se produjo una vesícula muy pequeña (Nº 1) en los otros no hubo más formación de nódulos (Nº 2-3-4).

Empleando esta vacuna, estamos en capacidad de reducir y hasta de hacer desaparecer las infecciones locales; las reacciones generales disminuyen y se puede impedir la supuración, las curaciones y otros cuidados locales. No quedan cicatrices o bien, son puntiformes. Es probable, por otro lado, que las vacunaciones por estría única, practicadas con ayuda de una vacuna sensibilizada, no sean jamás seguidas de las temidas localizaciones, tan peligrosas por los desgastes que causan y también porque sirven de arma a los enemigos de la vacunación contra la viruela, práctica actualmente necesaria dado el progreso que toma de nuevo la enfermedad.

(Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica)

Calderón Muñoz, R. y Picado Twight, C. **Ensayo de tratamiento de la tuberculosis pulmonar por "homopeptonas"**. San José: Imprenta Alsina, 1931.

ENSAYO DE TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR POR "HOMOPEPTONAS"*

R. Calderón M.
C. Picado Twight

Desde hace muchos años uno de nosotros (Calderón), había deseado tratar la tuberculosis pulmonar humana por medio de bacilos tuberculosos digeridos, en la creencia de que la ingestión constante de bacilos, fuese en algunos enfermos fuente de curación.

La dificultad, por no decir imposibilidad, de obtener los productos originados por lisis diastásica a expensas de los bacilos de Koch, nos hizo pensar, hace algún tiempo, en sustituir la "peptona" bacilar por los productos de digestión integral de la excreción bronquial bacilífera, y con estos productos, debidamente dosados, proceder a un ensayo de tratamiento por medio de inyecciones subcutáneas, en pacientes voluntarios de nuestro hospital.

La preparación de las peptonas fue llevada a cabo por don Luis Bolaños, asistente del Laboratorio del Hospital. Las inyecciones y observación constante de los enfermos quedaron a cargo de don Arsenio Solano, enfermero del establecimiento. Labor asidua tanto de uno como de otro, ha permitido seguir los enfermos desde hace más de un año y les damos por ello nuestro agradecimiento. Otro tanto debemos decir de las radiografías, llevadas a cabo por el Dr. Vega y la señorita Brunetti. Don Manuel Picado nos ayudó en el trabajo de fotografía y diseño de curvas.

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Lic. don Alberto Echandi, presidente de la Junta de Caridad por la publicación de este trabajo.

* Comunicación hecha a la Facultad de Medicina en sesión del 6 de mayo de 1931 por su presidente Dr. R. Calderón Muñoz.

CONSIDERACIONES TEORICAS

Sabido es que las peptonas diversas han dado resultados excelentes en el tratamiento de varias enfermedades. Las auto-vacunas piógenas específicas han sido empleadas con éxito en algunos casos: gonorrea entre otros. El pus aséptico de abscesos de fijación de origen humano o equino ha sido tan empleado que ya se encuentra en el comercio y ello nos da una idea de la difusión del método. La tuberculina o por mejor decir, el conjunto de toxinas y venenos secretados por el bacilo de Koch, debían estar presentes, también en la expectoración bacilífera, y ello en las mejores condiciones deseables, pues provenían de su elaboración en un medio humano, y puesto que en los últimos tiempos se ha obtenido éxito con el tratamiento tuberculínico (Boquet y Negre), esto reforzaba nuestra creencia en la utilidad del tratamiento por las homopeptonas. Por otra parte, la esplenoterapia (porcina) ha dado a Bayle (de Cannes) muy halagüeños resultados, probando así que la tuberculosis pulmonar puede ser beneficiosamente tratada por sustancias orgánicas no específicas.

Añadamos que en días recién pasados hemos visto que han podido obtenerse francas mejorías y hasta curaciones de cánceres gracias al empleo de autolisados de cánceres humanos homólogos.

En nuestras inyecciones de homopeptonas deben encontrarse los siguientes principios, capaces cada uno de ellos, a nuestro juicio, de activar y ayudar la curación de la tuberculosis:

1. Los diversos productos de lisis de albuminoides de la expectoración.
2. Coodiastatas termoestables de origen piógeno homólogo.
3. Venenos tuberculígenos elaborados en medio humano.
4. Sales minerales de expoliación bacilar.

En nuestras inyecciones no hay bacilos presentes, no es pues *homovaccinoterapia*. No hay elementos celulares, no es tampoco *homocitoterapia*. Puesto que todos sus componentes provienen de la excreción bronquial invadida por el bacilo de

Koch y como todos ellos son solubles y a la vez termoestables, nuestro método debe ser considerado como *homopeptonoterapia tuberculosa específica*.

Antes de describir la técnica y unas breves historias clínicas séanos permitido decir que la, al parecer injustificable falta de una amplia experiencia preliminar en animales, se debe al hecho de necesitar peptonas de expectoraciones de misma especie y que ellas faltan en los animales de laboratorio.

TECNICA

A) *La diastasa*: proviene de nuestra piña, es la **bromelina**, y se extrae fácilmente saturando el jugo de la fruta con sulfato de magnesio. La bromelina es así precipitada y sobrenada. Se recoge en un filtro y deseca a 37°C sin que haya necesidad de purificarla. Puede así conservarse en frascos bien tapados hasta por un año, al menos; al cabo de este tiempo sus propiedades proteolíticas disminuyen y por eso, a cada cosecha de piñas hemos renovado nuestra provisión.

Las propiedades digestivas de la bromelina son tan intensas que inyectada bajo la piel de un cobayo a la dosis de un centígramo, produce en él tal deterioro que lo mata con un desgaste semejante al producido por un veneno de Toboba (*Bothrops*).

B) *Expectoraciones*: cuando no se conocen los efectos de las peptonas que dará cada enfermo, hay que recoger por separado el material de cada uno de ellos y peptonizarlo por separado para proceder luego a una prueba que debe comenzarse con muy pequeñas dosis y que deberá ser practicada en los enfermos que van a tratarse y no en otros, menos aún en animales. Así podremos tomar en cuenta, no solamente la toxicidad propia de la expectoración de cada enfermo que la suministra, sino también la susceptibilidad individual (anafilaxia, alergia) de cada uno de los enfermos que han de ser tratados, es decir, la interacción entre el donador y el receptor.

Una vez que hemos eliminado los donadores peligrosos y que ya tenemos varios donadores útiles, podemos juntar en un

frasco de Erlenmeyer, las expectoraciones de unos cinco enfermos, por partes iguales. Añadimos bromelina seca en la proporción de 1% y cloroformo, también al 1% para impedir la putrefacción. Capuchonamos con tela de caucho y llevamos por veinticuatro horas a la estufa a 37°C agitando de tiempo en tiempo. Luego autoclavamos 20 minutos a 115°C; filtramos, dosamos el extracto seco del filtrado y concentramos para obtener una dilución al 1%. Ponemos en ampollas de 2 y de 5 centímetros cúbicos; autoclavamos nuevamente y ya tenemos listo el material inyectable.

INYECCIONES

Después de controlar en cobayo, que el líquido no es tóxico a la dosis de 0,04 g por kilo, en una sola inyección, y que tampoco produce intoxicación crónica por inyecciones diarias de dos centigramos por kilo, durante varias semanas consecutivas, procedimos a ensayar en el hombre. Nuestros enfermos fueron todos adultos, con lesiones pulmonares reveladas radiográficamente y con expectoración bacilífera. Tomamos en un principio, individuos que presentaban fiebre, los unos, y carente de ella, los otros.

Para juzgar la sensibilidad individual practicamos a los enfermos una intradermorreacción con una gota de dilución de peptona al 1%.

Como testigos, establecimos dos series:

- A) Unos enfermos fueron tratados por inyecciones, también subcutáneas, de una peptona comercial (Freres) siempre al 1%.
- B) Otros fueron tratados a mismas dosis y con igual frecuencia por una peptona obtenida de sangre humana (residuos de Wassermann negativos), digerida por la bromelina en las mismas condiciones que lo fueron las expectoraciones bacilíferas.

Como regla para ir haciendo progresar las dosis inyectables, nos fijamos la siguiente: comenzar con 0,5 centímetro

cúbico al 1%; si hay aumento de temperatura consecutivo a la inyección, repetir la misma dosis al cabo de cuarenta y ocho horas, y así, hasta que ninguna reacción se produzca, luego aumentar a 1 centímetro cúbico, y si no hay reacción, seguir aumentando 1 centímetro cúbico cada dos días hasta llegar a 5 centímetros cúbicos.

Una vez que llegamos a este límite y en perfecta tolerancia, dividimos los enfermos en dos lotes: los unos siguieron tratándose cada dos días y los otros solamente una vez por semana. Como pronto notáramos que estos últimos parecían ir mejor, dejamos la totalidad a 5 centímetros cúbicos una vez por semana.

A veces las inyecciones fueron seguidas de escalofríos, elevación de temperatura y presencia de sangre en los esputos. Los enfermos se quejaron, también, a veces, de dolores en la región torácica y curvaturas. Al cabo de cierto tiempo, ninguna de estas reacciones se producía. Ni una sola vez se presentó ningún accidente ni siquiera medianamente serio y ello nos hace creer que siguiendo cuidadosamente el sistema de dosis progresivas con ligeros aumentos entre una y otra, y si las inyecciones van espaciadas de semana en semana, nuestras inyecciones son de lo más tolerable que pueda pedirse.

RESULTADOS

A) *Temperatura*: en los casos febriles y aun cuando hubiere grandes irregularidades térmicas, las inyecciones parecen traer pronto una regularidad y estabilización (Curvas N° 1 y N° 2), y en los casos apiréticos, parece no haber alteraciones (Curvas N° 3 y N° 4).

B) *Sudores nocturnos*: van paulatinamente desapareciendo.

C) *Apetito*: aumenta.

D) *Peso*: aumenta poco a poco o se mantiene en plataforma, es decir, en la forma más deseable, pues sabido es que son del todo engañosos los aumentos bruscos.

E.R.

Edad = 47 años

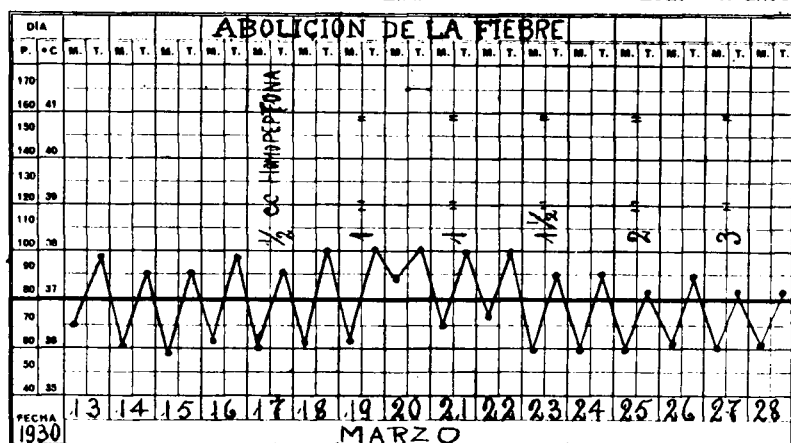


FIGURA N° 1.—Curva N° 1.—Iniciación de tratamiento en presencia de fiebre.

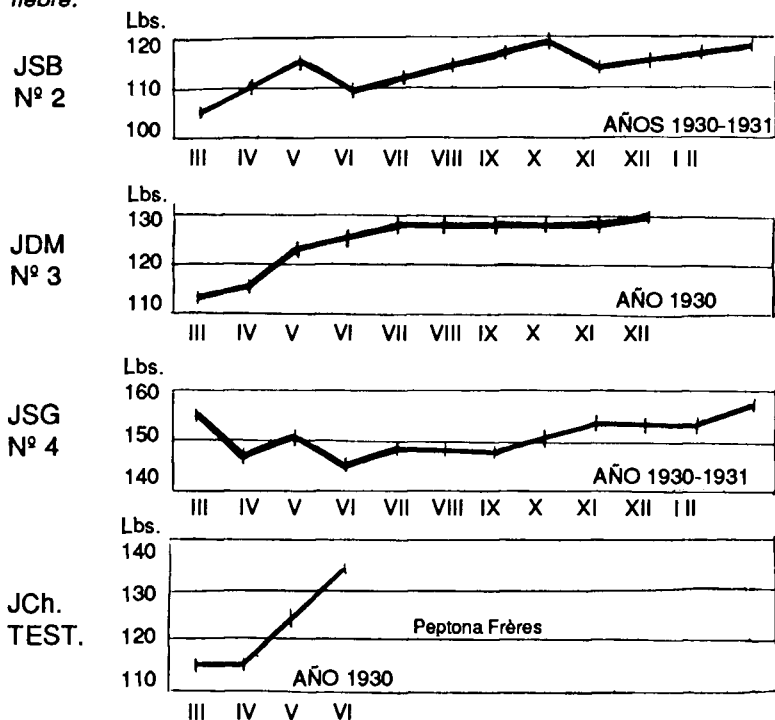


FIGURA N° 2.—Curvas de peso de los tres casos en referencia y el de un caso testigo.

E) *Síntomas subjetivos*: los enfermos dicen sentirse mejor desde poco tiempo después de iniciado el tratamiento y se quejan menos de cansancio y de dolores.

F) *Radiografías*: los reportes de la sección radiológica del Hospital, acusan en todos los casos tendencias netas a la fibrosis y calcificación.

G) *Esputos*: en todos los casos seguidos por varios meses, la tos es cada vez menos frecuente, los espustos dejan de ser hemorrágicos y se vuelven cada vez más claros.

H) *Bacilos de Koch*: siendo numerosos en un principio, van poco a poco disminuyendo en número y de tres casos seguidos por más de un año, hay uno que aún tiene escasos bacilos, y otros dos dejaron de presentar bacilos desde hace ocho y nueve meses respectivamente, es decir, que al cabo de tres y de cuatro meses de tratamiento, los bacilos no han podido volver a ser revelados, a pesar de frecuentes exámenes con preparaciones gruesas coloreadas por el método de Biot, cuya excelencia es bien conocida.

Testigos. Alguna mejoría fue obtenida en los casos tratados por la peptona comercial Frères, mientras que la peptona de sangre humana dio un efecto casi nulo. En vista de ello creímos deber nuestro suspender tal tratamiento, pues no teníamos derecho a jugar las probabilidades de curación, por remotas que fueran, de esos enfermos. Uno de ellos, tratado por la peptona comercial fue tan benéficamente influenciado que él mismo pidió seguir siendo tratado y al cabo de cuatro meses mostró gran aumento de peso, estado general muy bueno, radiografías muy mejoradas y ausencia de bacilos en el esputo. (J. Ch. en la curva de pesos). El paciente se creyó curado y partió para Guanacaste, su lugar de residencia, ofreciéndonos mantenernos al corriente del estado de su salud, pero... nada sabemos desde hace seis meses.

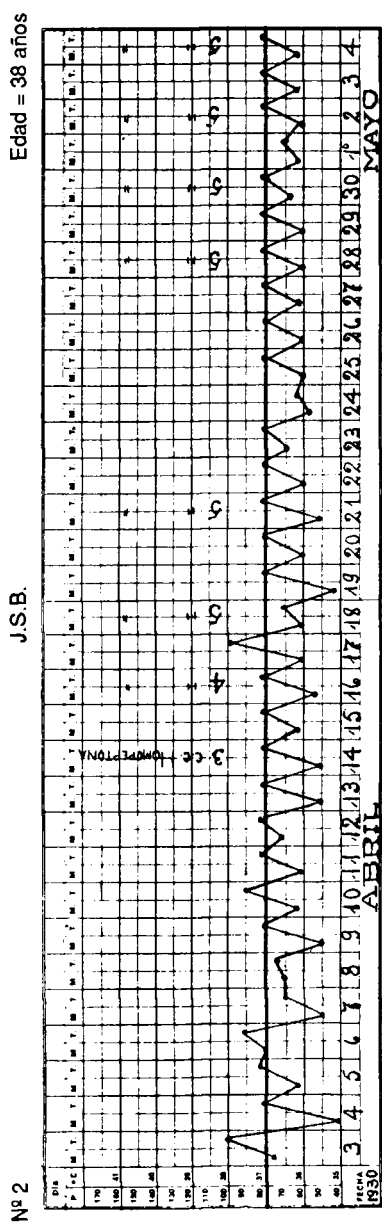


FIGURA Nº 3.—Caso A.—Iniciación del tratamiento.

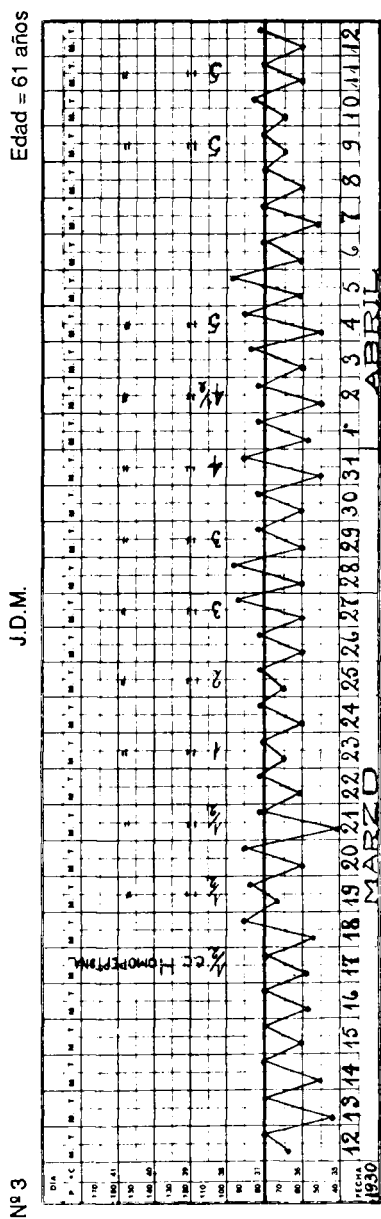


FIGURA Nº 4.—Caso B.—Iniciación del tratamiento.

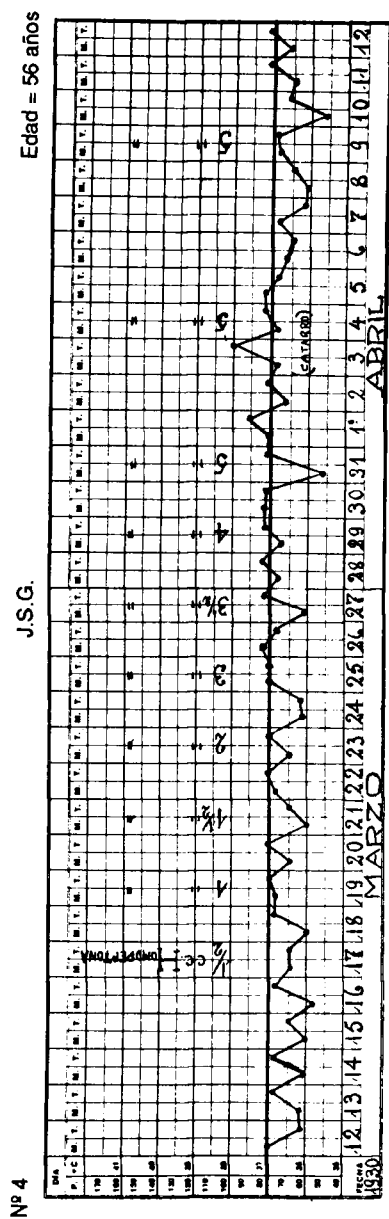


FIGURA Nº 5.—Caso C.—Iniciación del tratamiento.

CASOS TRATADOS

Nuestro público sabe que los enfermos de tuberculosis que vienen a nuestro Hospital son casos avanzados y cuya suerte final es fácil de pronosticar; quisimos, sin embargo, comenzar nuestras experiencias con este material clínico, no para hacernos la ilusión de resolver el problema de su curación sino para ponernos en condiciones de que si hubiere (como efectivamente lo hubo), resultados halagüeños, nos quede la fundada esperanza de que en casos recientes y en gente joven y con todos los cuidados requeridos, las mejorías y aun las curaciones definitivas fuesen posibles de obtener.

Nuestras condiciones de aislamiento y carencia de medios no nos permitieron seguir muchos enfermos a la vez, y aunque hubiéramos dispuesto de colaboración y medios pecuniarios abundantes, no hubiéramos podido tampoco contar con enfermos perseverantes.

Fuera de los testigos, el número de enfermos que hemos seguido ha sido:

Por lo menos de 2 meses	2
Por menos de 3 meses	2
Por menos de 5 meses	1
Por menos de 6 meses	1
Por más de un año	3

Resumiendo al mínimum, la historia clínica de cada uno de estos tres últimos pacientes, tendríamos:

Caso A.

J. S. B. 38 años. (Curva N° 2). (Figuras N° 6 y 7).

Ingresó al Hospital: 28 de marzo de 1930.

Diagnóstico tuberculosis: 1° de abril de 1930.

Tratamiento comenzado: 14 de abril de 1930.

Temperatura: Irregular, corregida con el tratamiento.

Peso: Véase gráfico (Figura N° 2).

Estado general antes del tratamiento: sudores nocturnos, pérdida de peso y apetito; mucha tos. Tuberculosis pulmonar declarada.

Exámenes bacteriológicos: solamente tuvo un examen de esputo negativo. En los últimos exámenes con dificultad se encontraban pocos bacilos, habiendo necesidad muchas veces de repetirlos.

Radiografías: fibrosis y calcificación acentuándose.

Estado general; fecha presente: la tos desapareció por completo lo mismo que el dolor de pecho y espalda y los sudores nocturnos. Ha aumentado mucho de peso. Dejó el tratamiento para ingresar al Sanatorio Durán.

Caso B.

J. D. M. (Curva N° 3). (Figuras N° 8 y 9).

Ingreso al Hospital: 9 de abril de 1926 por primera vez; el 4 de mayo de 1927 ingresó por segunda vez.

Diagnóstico tuberculosis: 10 de abril de 1926.

Tratamiento comenzado: 17 de marzo de 1930.

Temperatura: no fue afectada por las inyecciones.

Peso: véase gráfico (Figura N° 3).

Estado general antes del tratamiento: pérdida de peso y apetito, sudores nocturnos, expectoración abundante y mucha tos.

Exámenes bacteriológicos: hasta mayo 17 de 1930, se encontraron esputos con abundantes bacilos; a partir de esa fecha, a pesar de repetidos exámenes, hechos mes a mes, no se han podido encontrar.

Radiografías: avance destructivo en el vértice derecho. Izquierdo bueno. Tendencia general a fibrosis.

Estado general; fecha presente: casi no hay tos; muchos exámenes de esputos negativos. El dolor de pecho y espalda que tenía ha desaparecido lo mismo que los sudores nocturnos. El estado general es muy bueno; tiene apetito y ha aumentado mucho de peso.

Exámenes Hematológicos del Caso B

Marzo 3 de 1930 Mayo 16 de 1931

Wassermann	—	—
Besredka	+ —	—
Hemoglobina	85 %	90%
Glóbulos Rojos	4 000 000	5 500 000
Glóbulos Blancos	19 000	7 200
Polinucleares	48 %	74 %
Linfocitos	42 %	20 %
Mononucleares	7 %	6 %
Eosinófilos	3 %	1 < %

Caso C.

J. S. G. (Curva N° 4) (Figuras N° 10 y 11).

Ingresó al Hospital: 15 de julio de 1929.

Diagnóstico tuberculosis: 15 de julio de 1929.

Tratamiento comenzado: 17 de marzo de 1930.

Temperatura: no afectada por el tratamiento.

Peso: véase gráfico (Figura N° 4).

Estado general antes del tratamiento: cansancio, sudores nocturnos, pérdida de peso y de apetito. Tuberculosis pulmonar declarada.

Exámenes bacteriológicos: bacilos abundantes al principio. De junio de 1930 hasta la fecha negativos.

Radiografías: fibrosis acentuándose. Evolución hacia tuberculosis cerrada.

Estado general; fecha presente: muy bueno; temperatura y pulso normales, lo mismo que la respiración; no hay sudores nocturnos y tiene muy buen apetito, aumentando mucho de peso. Salió del Hospital y se fue a trabajar duramente al campo desde hace varios meses. Volvió en mayo de 1931. El examen de esputo continúa negativo por bacilo de Koch. Se siente perfectamente y su aspecto es del todo satisfactorio. Ha hecho una jornada de tres horas a pie, por malos caminos, sin sentir la menor molestia. Nótese que la Reacción de Wassermann, negativa antes, es ahora positiva y a pesar de ello el Besredka es negativo.

Exámenes Hematológicos del Caso C

Marzo 3 de 1930 Mayo 16 de 1931

Wassermann	—	++
Besredka	+—	—
Hemoglobina	85 %	95%
Glóbulos Rojos	3 933 000	6 500 000
Glóbulos Blancos	9 800	9 600
Polinucleares	47 %	62 %
Linfocitos	47 %	32 %
Mononucleares	6 %	4 %
Eosinófilos	1 < %	2 %

CONCLUSIONES

1. Las inyecciones de peptonas diversas pueden ser útiles en algunos casos de tuberculosis pulmonar.
2. Las peptonas de sangre humana no parecen ser superiores a las peptonas comerciales.
3. Las peptonas homólogas específicas benefician netamente a los tuberculosos tratados con ellas.

Nota.—A última hora encontramos la referencia siguiente: Al VII Congreso Nacional de la Tuberculosis, tenido en Burdeos a fines de marzo y principios de abril, del año en curso, Ch. Richet Fils y P. Haudoroy comunican el hecho de haber constatado que ciertos esputos de tuberculosos, particularmente cuando se diluyen en agua peptonada contienen un principio que destruye por disolución los bacilos de Koch. Esta disolución puede llegar a ser tal que la misma inoculación al cobayo queda negativa. La calefacción en autoclave parece favorecer este principio lítico.

¿Tienen algo que ver estos hechos con los apuntados por nosotros?

*(Trabajo del Hospital de San Juan de Dios.
San José, Costa Rica, mayo de 1931)*

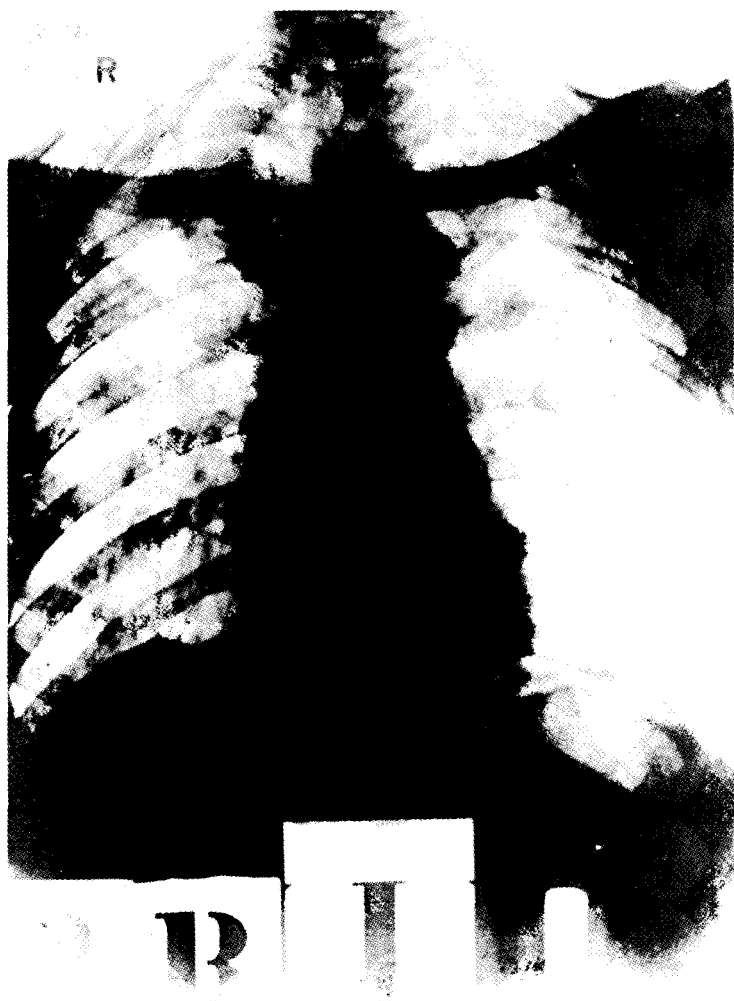


*FIGURA N° 6.—Caso A.—Al iniciarse el tratamiento.
Radiografía del 31 de marzo de 1930.*



FIGURA N° 7.—Caso A.—Radiografía hecha al cabo de ocho meses de tratamiento.

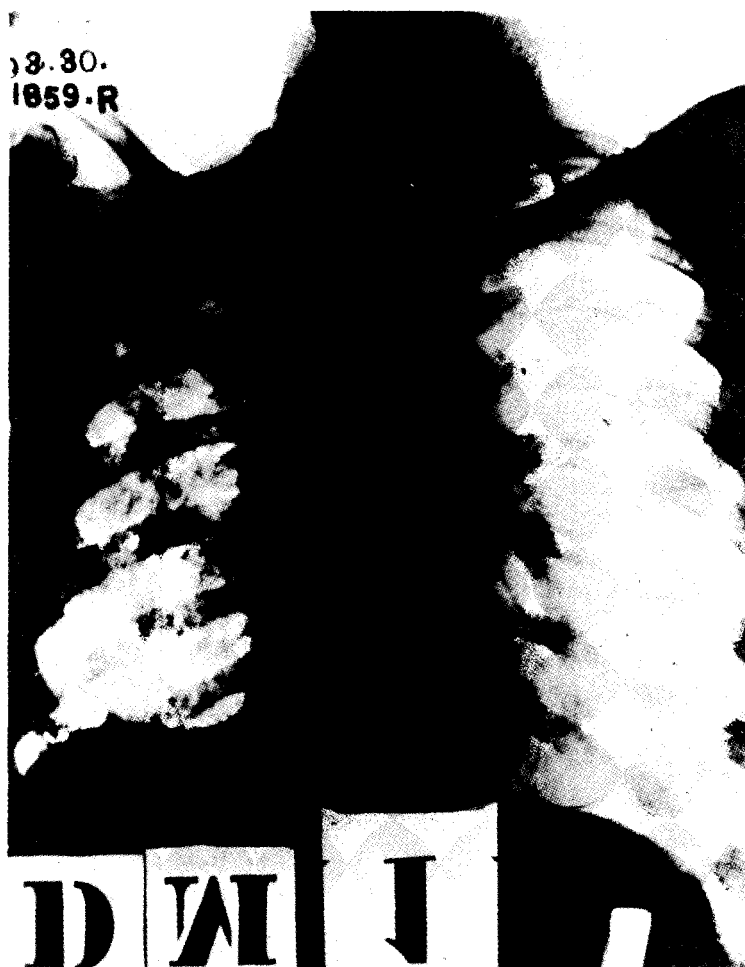


*FIGURA N° 8.—Caso B.—Al iniciarse el tratamiento.
Radiografía del 9 de marzo de 1930.*

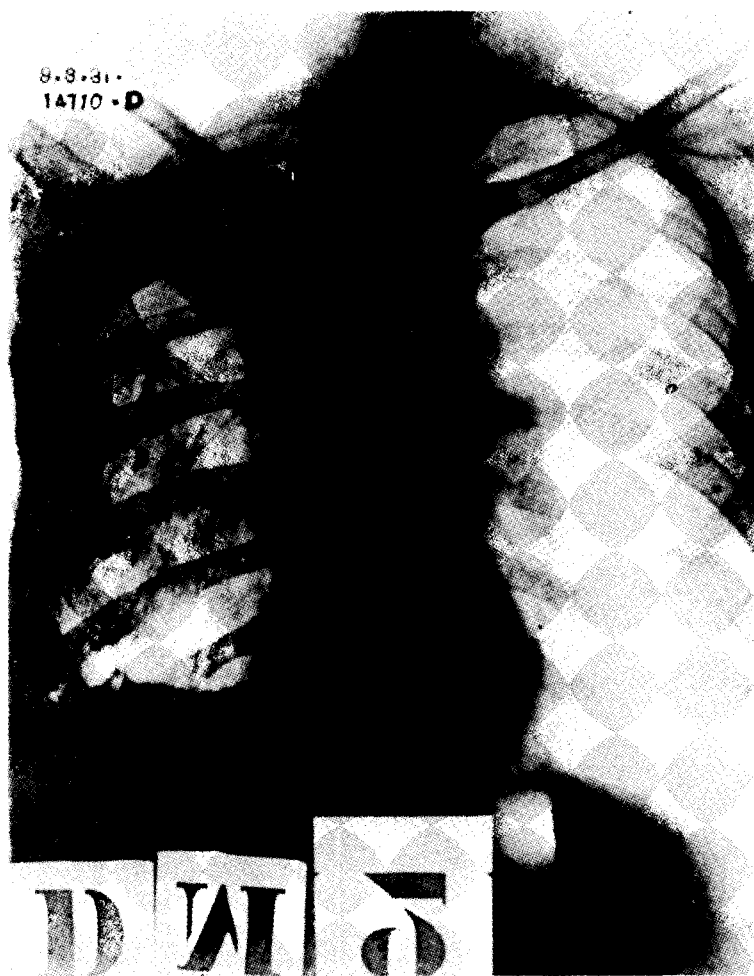


FIGURA N° 9.—Caso B.—Radiografía hecha al año de tratamiento.



*FIGURA N° 10.—Caso C.—Al iniciarse el tratamiento.
Radiografía del 10 de marzo de 1930.*



FIGURA Nº 11.—Caso C.—Radiografía hecha a los once meses de tratamiento.

INMUNOTERAPIA NO ESPECIFICA (TIFOIDEA-PNEUMONIA)

I. LA ESPECIFICIDAD EN LA INMUNIDAD

A. El concepto de especificidad

La primera concepción que aceptaba la **especificidad en la Inmunidad** hubo pronto de dar carta de ciudadanía a la concepción de **Inmunidad de grupo** y para conciliar una y otra, se invocó la parentela y la afinidad: así por ejemplo, si el suero hemolítico anti-caballo hemolisa los glóbulos de tal especie, también extiende su poder lítico a los glóbulos de asno y de cebra. No solamente había esta afinidad para los Equidae, sino que también, y aunque en menor grado, para los glóbulos de tapir; se ha querido ver en ello una prueba biológica que viene a reforzar inesperadamente la doctrina evolucionista, poniendo de manifiesto la parentela filogenética entre los tapires y los solípedos actuales. Los dominios hemolíticos del suero anti-humano, cubriendo la totalidad de los monos antropomorfos, cobijaría no sólo el orden todo de los cuadrumanos, sino que alcanzaría aun a los Lemúridos en su carácter de Prosimios.

Si a un suero inactivado anti-buey, que también sensibiliza glóbulos de cabra, añadimos glóbulos de una u otra especie, vemos que los resultados son diferentes: si añadimos glóbulos de buey y luego centrifugamos, el suero queda desprovisto de sensibilizatrices anti-cabra. Si lo que añadimos al suero primitivo son glóbulos de cabra, constatamos, al centrifugar, que la sensibilizatriz globular anti-buey, queda

intacta. Para explicar estos hechos, apelamos a la afinidad. Las discusiones sobre concepciones antropomórficas envenenan la ciencia de la inmunología por largos años hasta que la adjudicación por mitades de un premio Nobel a Metchnikoff y a Ehrlich por sus doctrinas sobre la inmunidad parece ser simbólica y hecha para mostrar que las concepciones sobre la inmunidad no han de excluirse las unas a las otras para que sólo una de ellas ocupe el trono de la reina, sino que muchas pueden llegar y ocupar asiento, las unas al lado de las otras, teniendo cada cual sus propios derechos y respetando los de sus vecinas.

Así las cosas, el descubrimiento de Forsmann desorienta: si a un conejo se le inyecta una suspensión de riñones molidos de cobayo, obtenemos un suero que destruye los glóbulos rojos de carnero. A la misma época Froin et Lisbonne obtienen por inyección al conejo por vía intraperitoneal, de los lipoides de yema de huevo, insolubles en acetona, un suero hemolítico contra perro, caballo, carnero, cabra y buey.

Como en estos casos no pueden invocarse ni la parentela zoológica ni tampoco las afinidades, se piensa en la parentela química y en las asociaciones antigénicas y de esta manera van explicándose muchos hechos pero no todos. El poder antigénico específico de las anatoxinas, la resistencia a la infección que adquieren los cobayos que se frotan rudamente; la inmunidad local, la resistencia a la infección, provocada por los reflejos condicionales, se apartan por completo de la concepción primitiva. La inmunización de orugas ligadas al medio cuerpo, de manera que ninguna comunicación humoral o citológica tenga lugar entre ambas mitades, reveló a Metalnikoff que quizás la sola influencia nerviosa se muestre capaz de conducir la inmunidad de un segmento al otro.

Todo esto nos muestra que si bien hemos de admitir una inmunidad específica primordial, junto con ella aparecen inmunidades paraespecíficas, cuya presencia a veces nos sería imposible explicar por parentela filogenética o por parentela química; ello no obsta para que nosotros utilicemos en terapéutica tales propiedades una vez conocidas.

B. Observaciones sobre Inmunidad no específica

Las enfermedades del grupo de la viruela nos ofrecen un campo muy propicio para hacer observaciones: omitiendo adrede hacer consideraciones sobre si el virus vaccinal es o no es, en sus orígenes, idéntico al virus variólico, lo cierto es que a la época actual no son al menos la misma variedad y ello no obsta para que la vacuna Jenneriana preserve contra el virus vaccinal, contra la viruela y contra el alastrim, pero mientras que la viruela preserva recíprocamente contra el virus variólico y contra el virus vaccinal, el alastrim no inmuniza contra el virus vaccinal. Todos conocemos el modismo: "A la vejez, viruelas", que hace resaltar el hecho de que a los viejos no da viruela si no es excepcionalmente, estén vacunados o no. Es notorio, por otra parte, que los viejos son poco receptores para la vacunación Jenneriana aunque jamás hubiesen sido vacunados.

Se han invocado las infecciones leves e inaparentes para explicar la inmunidad a varias enfermedades producidas por los virus filtrantes que va obteniéndose con la edad; tal es el caso de la fiebre amarilla, pero para la viruela y más aún para la infección vaccinal, tal explicación parece inadmisibile; más aceptable es la concepción de **inmunidad no específica** obtenida por infecciones sucesivas de otra *índole y cuya superior jerarquía proteja también contra otras infecciones*.

Sobre la inmunidad jerárquica experimental contra las toxinas, más adelante, en estas líneas, tendremos ocasión de referirnos a ella; por ahora bástenos recordar que la mortalidad infantil a causa de las diversas enfermedades es mucho menor en los niños vacunados con B. C. G. que en los testigos; la premunición contra la tuberculosis aparece pues, una vacunación heteróloga por orden superior jerárquico.

II. VACUNOTERAPIA NO ESPECIFICA

En 1927 publicamos un trabajo¹ en que describíamos una vacuna no específica que favorecía curaciones rápidas en gran

número de casos de forunculosis, dermatitis y blefaritis estafilocócica.

Pero donde esta vacuna se mostró verdaderamente eficaz fue en el tratamiento de las fiebres tifoidea y paratifoideas.

Durante siete años hemos empleado esta vacuna y los resultados han continuado siendo muy halagüeños, tanto en las tifoideas y fiebres paratifoideas como en las pneumonías y en la Sprue. Durante este tiempo varios investigadores han trabajado, independientemente de nosotros (dado que nuestra nota no es citada en los trabajos posteriores al nuestro) y los resultados que ellos han obtenido, confirman nuestra concepción de la vacuna curativa no específica:

John Y. Sugg and James M. Neill², encuentran que el suero anti-*Saccharomyces cerevisiae* no solamente aglutina el pneumococo tipo II, sino que preserva al ratón de la infección pneumocócica experimental. Además, las experiencias de absorción hechas con este suero, fueron idénticas a las obtenidas con el suero anti-pneumocócico tipo II.

G. Lemoine³ obtiene excelentes resultados en el tratamiento de las estreptococias, entre las cuales incluye la escarlatina y lo mismo sobre las fiebres tifoidea y paratifoideas, con un extracto de levaduras.

Aunque pocos crean que la Sprue sea causada por las levaduras a que Ashford atribuyó la causa, muchos autores sí admiten el efecto benéfico obtenido con las vacunas preparadas con tales levaduras. Es pues, muy probable que tales mejorías o curaciones no tengan por origen sino una vacunoterapia no específica, aunque el autor la creyese específica.

En esta misma revista⁴ publicamos los resultados que esta vacuna, sola, o asociada con cedrina, nos dio en el tratamiento de la viruela.

Durante estos años transcurridos desde que describimos nuestra vacuna, hemos tratado de mejorarla y para ello hemos ensayado diversas especies de levaduras cultivadas en el medio inicial y hemos visto que los resultados son buenos, pero inferiores a los obtenidos con nuestra especie primitiva. Hemos empleado el líquido de fermentación solo, o las leva-

duras solas recogidas en suero fisiológico, y los resultados no son comparables a los obtenidos con la vacuna en su propio líquido de fermentación.

Hemos variado la composición del mosto fermentable sin ventajas aparentes. Las inyecciones intravenosas en la tifoidea no presentan inconvenientes, pero tampoco ventajas apreciables. Por último quisimos asociarlas a las inyecciones intravenosas de urotropina y aunque los resultados fueron buenos no creemos que la ganancia fuere mucha. Esto no quiere decir, por supuesto, que nuevas investigaciones no conduzcan a mejorar las cualidades de esta vacuna que creemos de amplio porvenir.

Antes de considerar nuestros casos, creemos útil considerar los tratados con vacuna estafilocócica:

V. Bie ⁵, comenzó a tratar en esa fecha, tanto los enfermos de tifoidea, como los de paratifoidea, por inyecciones intramusculares de una vacuna constituida por bacilos de Eberth y como en las paratifoideas obtuviera los mismos resultados benéficos, concluyó de acuerdo con sus predecesores que tal vacunoterapia no era otra cosa que proteinoterapia no específica, y substituyó entonces los bacilos de Eberth, por estafilococos y obtuvo los mismos resultados favorables.

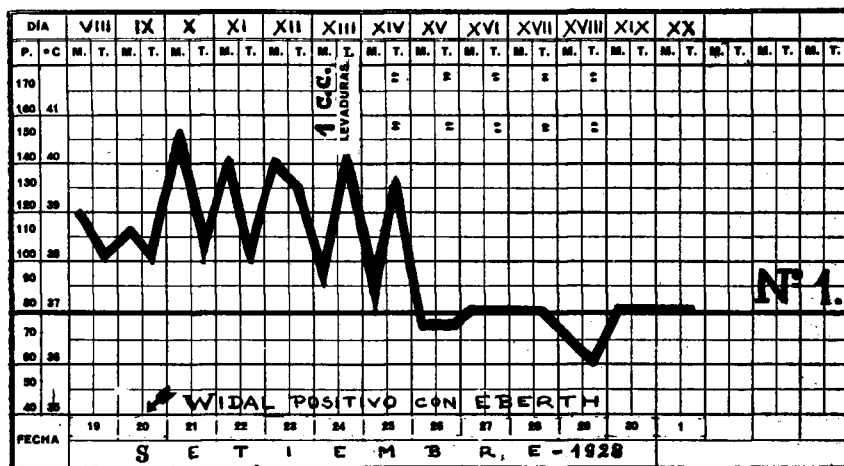
Más tarde el mismo autor relata⁶ los resultados obtenidos en 51 casos graves de fiebre paratifoidea B, con signos clínicos semejantes a tifoidea, tratados por la vacuna estafilocócica: de ellos 39 dieron buen resultado; 4 un resultado dudoso y en 8 fue ineficaz. Cincuenta y cuatro casos bastante graves de tifoidea fueron también tratados; el resultado fue bueno en 35 casos, dudoso en 3 y sin efecto en 9; en siete de estos últimos se terminó con la muerte. Estas siete muertes fueron: 1 de un individuo que entró al Hospital en estado agónico; 2 que sucumbieron a hemorragias intestinales y pneumonía; 3 a una pneumonía, y 1 sin complicaciones aparentes. La terminación en lisis, de la fiebre, en los casos sin complicaciones, comenzó a los 8 días de haber iniciado el tratamiento; las pneumonías parecen no ser influenciadas favorablemente por la vacunoterapia estafilocócica.

Casos tratados con nuestra vacuna

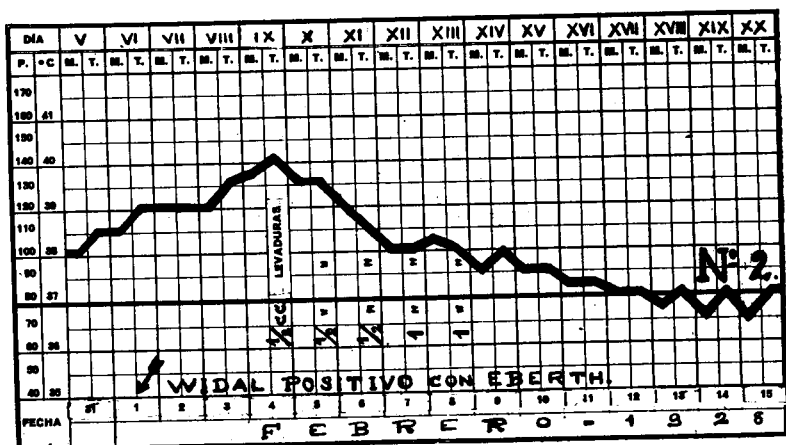
Siendo muy numerosos los casos tratados y siendo muchos de ellos pertenecientes a clientela particular de algunos médicos de este país, no podríamos dar cifra exacta de los casos tratados. En dos ocasiones, y en casos con graves hemorragias intestinales, nuestras vacunas fueron inútiles y terminaron con la muerte; fuera de estos dos casos fatales, el tratamiento siempre se mostró eficaz. No creemos útil referirnos largamente a estos casos y nos limitaremos a decir que creemos necesario:

1. Una alimentación constituida por jugos de frutas y legumbres molidas cuidando muy especialmente que no haya ni trazas de albúminas de origen animal.
2. Continuar el tratamiento por 3 ó 4 días después de no haber fiebre, pues hemos visto recaídas.

De los casos corrientes, tomaremos cuatro, referentes a médicos diferentes y nos contentaremos con la publicación de las curvas de temperatura.



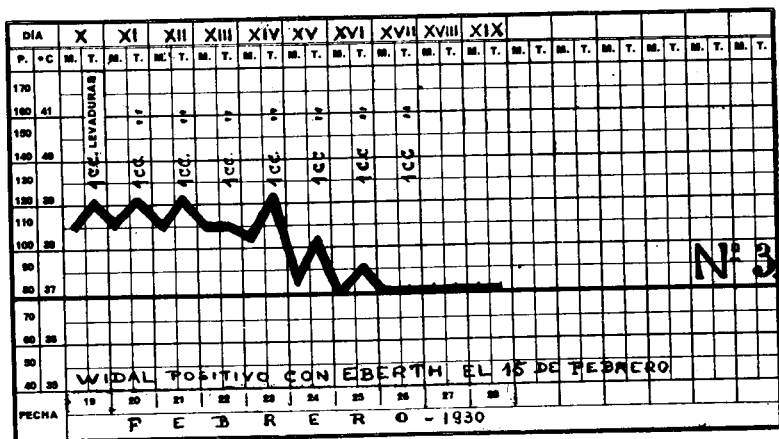
CURVA Nº 1.—J. J. G. Caso tratado en el Hospital. El 24 había inconsciencia total y las pulsaciones eran de 140 por minuto. El 26 todo está en orden y el enfermo sigue bien.



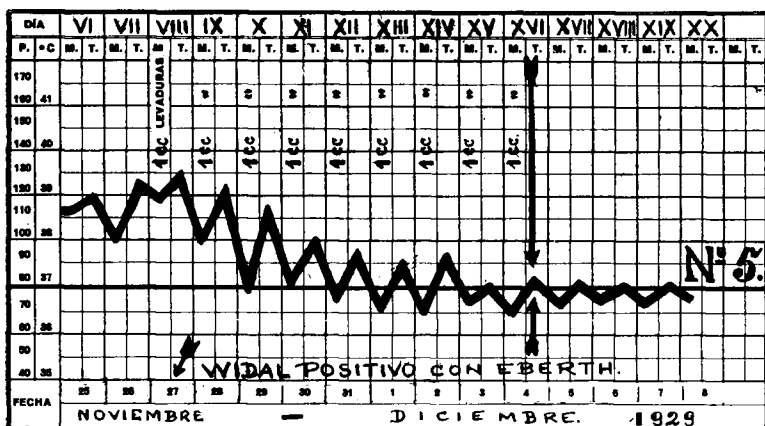
CURVA N° 2.—A. A. Caso tratado por el Dr. Marcial Rodríguez. La lisis en este caso es excepcionalmente regular.

Por otra parte nos referiremos, tomando otras cuatro curvas, a una epidemia desarrollada en San Blas de Cartago hace dos años. Los enfermos atacados por tifoidea fueron trasladados al Hospital de la ciudad de Cartago.

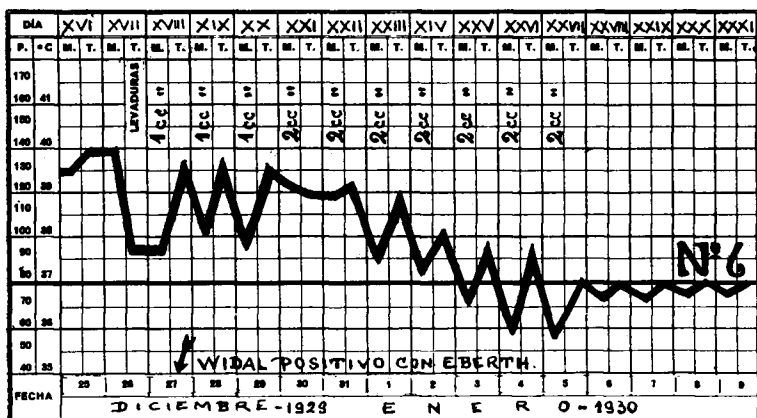
El Dr. Don Solón Núñez, Ministro de Salubridad (que como hemos dicho fue nuestro primer colaborador en este nuevo trata-



CURVA N° 3.—C. M. B. Caso tratado por el Dr. R. Calderón Muñoz. A menudo la fiebre no cede a las primeras inyecciones.



CURVA Nº 5.-I. G. Epidemia de San Blas. Las flechas indican la suspensión de las inyecciones. Las recibidas fueron suficientes para curarlo.



CURVA Nº 6.-E. C. Epidemia de San Blas. Caso particularmente grave pues hay una úlcera en un pecho. Se presentaron hemorragias intestinales el día XVII y el XX de enfermedad. Hay bastante albúmina en la orina durante los cuatro primeros días del tratamiento. Luego la albúmina va disminuyendo; cesan las hemorragias y la enferma cura. Otros casos igualmente graves han sido tratados con igual éxito.

tratamiento. Estos enfermos que se habían dado cuenta de la eficacia de las vacunas, protestaron ante nuestro empleado de que el tratamiento les hubiese sido suspendido.

Nos referimos a este caso, pues nos muestra:

1. La necesidad de eliminar la dieta láctea;
2. Que no hay que fiarse de la curación aparente y abandonar el tratamiento, pues no sólo esta epidemia, sino en muchos otros casos, hemos visto que al cesar las inyecciones después de llegar a 37°C, vuelve la temperatura a subir para comenzar nueva lisis al reanudar las inyecciones de levaduras.

III. SEROTERAPIA NO ESPECIFICA

El hecho de que el suero normal de adulto sea casi tan eficaz en el tratamiento de la escarlatina como el suero de convaleciente ha hecho suponer que ello se debe a una inmunidad específica obtenida en el pasado, por infecciones inaparentes; esto es poco probable y parece más admisible el considerarlo como **seroterapia homóloga no específica**. Es posible también que muchos de los éxitos obtenidos en la apendicitis y complicaciones de la tifoidea, por los sueros antigangrenosos de Weinberg se deban, aunque no siempre (dado el origen intestinal de los microbios de la gangrena gaseosa), a seroterapia no específica. Otro tanto habríamos de decir del tratamiento de la ozena por los sueros antidiftéricos y ello también explicaría los buenos resultados que nuestro compañero el Dr. Don Mariano Rodríguez, ha obtenido en las complicaciones gonocócicas, mediante el tratamiento por inyecciones de suero antidiftérico¹³.

Es, sin embargo, el capítulo referente a la inmunidad contra los venenos de serpiente, el que más nos ilustra sobre la inmunidad no específica y sobre las relaciones inmunológicas, imposibles de prever, entre unos y otros venenos, entre éstos y las diastasas y, lo que es más, entre los venenos y las toxinas microbianas y aún entre venenos y ultravirus.

Desde sus primeras investigaciones, Calmette⁸ constató que los sueros antivenenosos son inactivos en relación con las toxinas diftérica y tetánica, pero que, por el contrario, el suero

antitetánico neutraliza, por mezcla, el veneno de cobra, aunque este suero sea incapaz de preservar al animal si se inocula en forma preventiva horas antes del veneno. Bueno es hacer notar desde ahora que las investigaciones del glorioso maestro Calmette fueron llevadas a cabo con los sueros conocidos entonces (anti-cobra y anti-víbora) y que justamente el prestigio del maestro hizo que nadie hasta días recientes, quisiera ensayar los nuevos sueros contra venenos de serpiente, en relación con las toxinas microbianas; luego veremos que sí valía la pena.

Billard⁹ mostró que los cobayos inmunizados activamente contra la toxina diftérica, quedaban también inmunizados contra algunas dosis mortales mínimas de toxina tetánica y de veneno de víbora. La inmunización contra la toxina tetánica, fuera de la inmunidad específica, confería también inmunidad contra el veneno de víbora, pero no contra la toxina diftérica. Si la inmunización se verifica con el veneno de víbora, la inmunidad obtenida no alcanza las toxinas tetánica y diftérica. Es, pues, evidente que existe una **jerarquía antigénica** en estas neurotoxinas.

Guithens y Butz¹⁰ encontraron el hecho paradójico de que los caballos inmunizados con el veneno de *Crotalus atrox* dan un suero que protege contra 1,5 miligramos (o sea 10 dosis mortales mínimas) del veneno homólogo, pero protege contra 2 miligramos (15 dosis mortales mínimas) de veneno de *Crotalus oreganus*. Los autores suponen que parte de los venenos no es tóxica sino formada por toxoides capaces de generar anticuerpos comunes y que las diferentes proporciones de venenos y de toxoides que hay en cada especie explicarían esta mayor afinidad por los antígenos heterólogos. De cualquier manera que sea, lo cierto es que los venenos de los diversos *Crotalus* norteamericanos, probados con un mismo suero, también **se colocan en orden jerárquico**.

Vellard¹¹ ha mostrado que el suero antibotrópico es entre los sueros antivenenosos el que posee en mayor grado la propiedad de neutralizar los venenos de serpientes alejadas zoológicamente de los *Bothrops* americanos.

Por otra parte Mme. Phisalix constató que los animales inmunizados contra el veneno de sapo, resisten a la inoculación

del virus rábico. Ch. Roux constató que lo mismo sucede en los animales inmunizados contra el veneno de víbora.

Por nuestra parte¹² hemos constatado:

1. Que el suero antidiftérico es inactivo en relación con el veneno crotálico y que ni este suero ni el antitetánico, ni el anti-*oedematiens* ni el anti-histolítico tienen influencia alguna sobre el veneno de *Bothrops atrox*;
2. Que el suero anti-disentérico atenúa algunos de los efectos locales de este veneno; y
3. Que el suero obtenido de un conejo que hemos inmunizado contra la Bromelina (diastasa proteolítica de la piña), neutraliza *in vitro* e *in vivo*, las propiedades proteolíticas flogógenas, hemoragíparas y hemolíticas, del veneno de *Bothrops atrox*.

Bien se nos alcanza que no podemos invocar una parentela química entre los *Bothrops*, los bacilos disentéricos y el fruto de una bromeliácea. La concepción de una **jerarquía en los anticuerpos**, semejante a la jerarquía de los antígenos, puesta en evidencia tan claramente por Billard, sería más satisfactoria al espíritu.

En vista de los trabajos anteriores y del éxito del suero antivenenoso en las neumonías, quisimos estudiar experimentalmente el efecto de los sueros antivenenosos sobre las toxinas diftérica, tetánica y disentérica, que al efecto nos fueron bondadosamente remitidas por el Instituto Pasteur de París.

Toxina diftérica

Empleamos cobayos de 500 g y consideramos como dosis mortal mínima, la necesaria para matar los animales en 3 días (1 centímetro cúbico a 1/400). La toxina se inoculara bajo la piel abdominal y del otro lado, e inmediatamente después, el suero. Con 0,5 centímetro cúbico de suero antibotrópico de Butantan (que neutraliza 2,4 mg por centímetro cúbico de *Bothrops jararaca*), se pueden inocular 2 D.M.M. en 0,5 centímetro cúbico sin que el animal presente las menores trazas de intoxicación. Pasa lo mismo si el suero se inyecta en forma preventiva

24 horas antes. Por el contrario, los cobayos que reciben suero anticrotático, en forma preventiva o simultánea, presentan una intoxicación más bien agravada, pues mueren a las 24 horas.

Toxina tetánica

Tomamos como dosis mortal mínima, la que mata un cobayo de 500 g en 3 días (1 centímetro cúbico a 1/20000). La toxina se inocula bajo la piel y del otro lado el suero. El suero antibotrópico a la dosis de 0,5 centímetro cúbico permite soportar 5 dosis mortales mínimas sin que la menor curvatura espinal indique la intoxicación tetánica. Los cobayos que la víspera recibieron igual cantidad de suero, resisten también. Los que fueron tratados con suero anticrotático sucumben al mismo tiempo que los testigos.

Toxina disintérica

La dosis mortal mínima es aquella que mata por vía endovenosa un conejo de 2 kilos en 3 días. Los conejos que reciben 4 dosis mortales mínimas seguidas de 3 centímetros cúbicos de suero antibotrópico mueren al mismo tiempo que los conejos que reciben 3 centímetros cúbicos de suero anti-disintérico del Instituto Pasteur. Con 5 centímetros cúbicos de suero antibotrópico o con 5 de suero antidisintérico, los conejos no presentan ningún malestar. 5 centímetros cúbicos de suero anticrotático, en vez de retardar la muerte, la aceleran.

El caso de la toxina disintérica es particularmente interesante dado que la neutralización *in vivo* se lleva a cabo con las mismas cantidades del suero específico, que con las de suero antibotrópico.

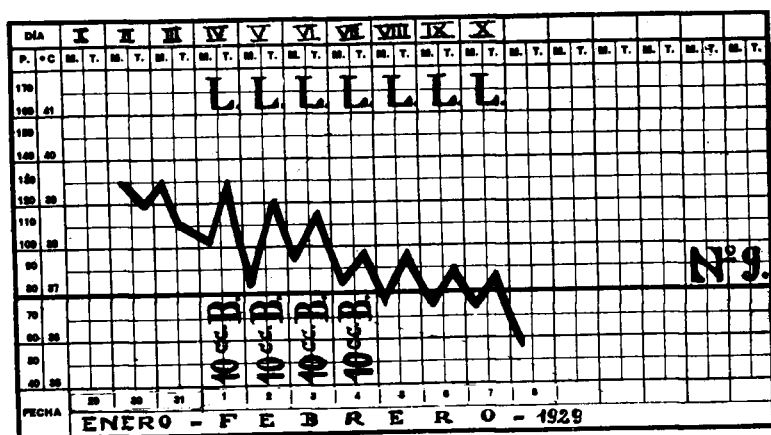
Pneumonías y Suero Antibotrópico

Varios experimentadores dicen haber tenido buenos resultados en el tratamiento de la fiebre biliosa hemoglobinúrica, por

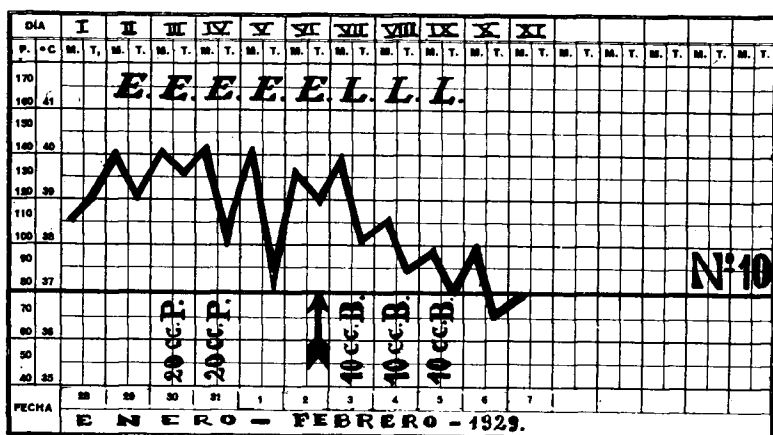
el tratamiento por el suero anti-cobra; Taylor¹³ cita la influencia benéfica del suero antibotrópico en la púrpura hemorrágica y el Dr. Guier de esta localidad, ha tenido también la ocasión de constatar mejorías (transitorias en este caso) por el suero antibotrópico.

Legendre y D'Arusmond¹⁴ han descrito una experiencia hecha durante una epidemia de pneumonía en una guarnición de raza negra: mientras que el suero anti-pneumónico a razón de 80 a 100 centímetros cúbicos por día no redujo la mortalidad sino en 50%, el suero antivenenoso a razón de 10 centímetros cúbicos por día, redujo la mortalidad a 13%.

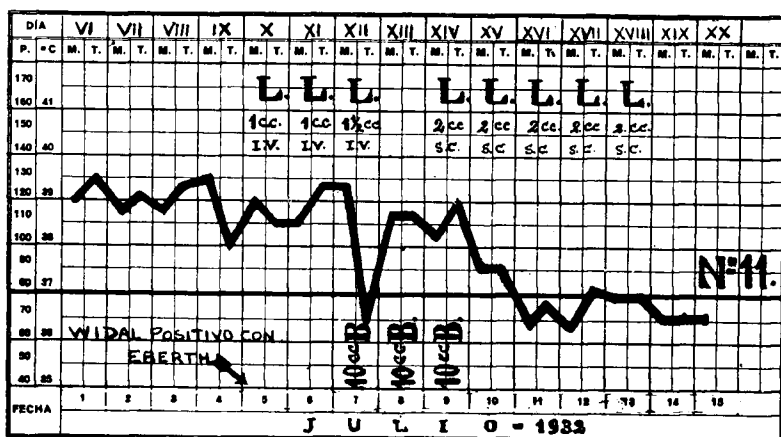
Estos eran los hechos que nosotros conocíamos cuando, a fines de enero del año 1930, veo, de pronto, a mi madre, ya muy postrada y débil, agonizando, casi, debido a un ataque de pneumonía en su tercer día. Sabiendo que a una persona vieja y débil, pues contaba 66 años de edad, no pueden aplicarse grandes cantidades de suero, necesarias para el anti-pneumónico, no vacilé un instante en aplicarle 10 centímetros cúbicos diarios de suero antiofídico, polivalente, junto con la vacuna curativa no específica descrita por nosotros.



CURVA Nº 9.—C. de P. Pneumonía tratada con inyecciones de suero antibotrópico de Butantan (B.) y con inyecciones de levaduras (L.) un centímetro cúbico al día.



CURVA N° 10.—Dr. J. A. *Pneumonía.* — E=10 cm³ de electargol. P=suero anti-pneumocócico. La flecha indica la invasión de ambos pulmones y el peligro de gangrena. B=suero antibotrópico. L=vacuna de levaduras.



CURVA N° 11.—J. P. S. *Tifoidea y pneumonía.* Caso del Dr. Carlos Manuel Jiménez. L=levaduras (I. V.; intravenosas). (S. C.; subcutáneas). B= suero antibotrópico. El día XII tenía gran cantidad de pneumococos en el esputo y en la sangre 40 000 glóbulos blancos por milímetro cúbico.

En el instante mismo en que recogía el suero para mi madre, supimos que nuestro amigo el Dr. Julio Aguilar estaba en trance de muerte debido a una neumonía; inmediatamente le telegrafiamos aconsejándole usar el suero anti-*o*fídico. Nuestro amigo no empleó tales sueros y vacunas sino tres días más tarde y cuando ya se temía una gangrena pulmonar. Las curvas adjuntas (Nos. 9 y 10) dan una idea de la terminación en lisis, comenzando al tercer día en el caso de la madre del autor, y después de emplear Electrargol y suero anti-pneumocócico en el caso de nuestro amigo médico. Después de estos, varios otros casos han sido tratados con igual éxito.

La curva N^o 11 con que terminamos este trabajo, se refiere a un enfermo que tratábamos con inyecciones de levaduras para curar su tifoidea, pero como se complicara con una neumonía, particularmente grave, instituímos el tratamiento por el suero antibotrópico y obtuvimos los excelentes resultados que la curva manifiesta.

CONCLUSIONES

1. La inmunoterapia activa no específica puede llevarse ventajosamente a cabo por las levaduras diluidas en su propio medio de fermentación, una vez terminada ésta.
2. La inmunoterapia activa no específica de la fiebre tifoidea es más eficaz que la vacunoterapia específica y no presenta peligros como ésta última.
3. La inmunoterapia pasiva no específica puede realizarse por los sueros antibotrópicos que se han revelado como los más ricos en anticuerpos heterólogos.
4. La seroterapia de las neumonías se realiza más eficazmente con el suero antibotrópico que con el suero específico.
5. Tanto la inmunoterapia no específica activa como la seroterapia no específica, deben ser instituidas en todos aque-

llos casos de intoxicaciones bacterianas o celulares para las cuales no tengamos los sueros específicos. Si la intoxicación del paciente pertenece a un orden jerárquico inferior a los de nuestros antígenos o anticuerpos, llevamos todas las probabilidades de éxito.

Laboratorio del Hospital de San Juan de Dios

NOTA

1. *Comptes Rend. Soc. Biol.*, tomo 97, pág. 225, 1927.
2. *Studies on Immunological Relationship among the Pneumococci. Journ. Exp. Med.* tomo 49, pág. 183, 1929.
3. *Des résultats thérapeutiques donnés par une antitoxine extraite de cultures de Saccharomyces. Nord Médical*, tomo 36, pág. 676, 1929.
4. Año 16, N° 185, 1931.
5. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, tomo 90, pág. 886, 1924.
6. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, tomo 94, pág. 602, 1926.
7. *Paris Medical*, tomo 17, pág. 434, 1927.
8. *Ann. Inst. Past.*, tomo 9, pág. 225, 1895.
9. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, tomo 95, pág. 546, 1926.
10. *Bulletin of the Antivenin Institute of America*, vol. 2, pág. 100, 1929.
11. *Ann Inst. Past.*, tomo 44, pág. 150, 1930.
12. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, tomo 110, pág. 467, 1932.
13. *Bull. Antivenin Inst. of America*, tomo 3, pág. 42, 1929.
14. *Bull. de l' Acad. de Med.*, 29 janvier 1929.

Picado Twilight, Clodomiro. *Immunité passive hétérologue. Antitoxines bactériennes du sérum bothropique*. Nota de C. Picado presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*. 110 : 467 - 468, 1932.

INMUNIDAD PASIVA HETEROLOGA. ANTITOXINAS BACTERIANAS DEL SUERO ANTIBOTROPICO

Los trabajos de diferentes autores muestran que existe cierto parentesco químico entre diversos antígenos. A. Calmette¹ encontró que el suero antitetánico neutraliza, *in vitro*, el veneno de cobra; según Billard², el cobayo vacunado contra el tétano o la difteria posee cierta inmunidad frente al veneno de vipéridos; finalmente, Vellard³ estableció que el suero antibotrópico neutraliza los venenos de serpientes zoológicamente alejadas de los *Bothrops*.

Por nuestra parte⁴, hemos demostrado que los sueros antidiftérico, antitetánico, antioedemático y antihistolítico son inactivos frente al veneno de *Bothrops atrox*; por el contrario, el suero antidisentérico atenúa algunos de los efectos locales de este veneno (efecto nulo sobre el veneno de la cobra) y el suero antibromelina (diastasa proteolítica de la piña), neutraliza, *in vitro* e *in vivo*, las propiedades proteolíticas, flogógenas, hemorragíparas y hemolíticas del veneno de *Bothrops*. En estos últimos casos, es muy difícil invocar a las relaciones químicas entre *Bothrops*, piña y bacilos disintéricos. La concepción de una jerarquía de los anticuerpos, parecida a la admitida por Billard para los antígenos, sería muy satisfactoria para el espíritu.

Por otra parte, Legendre y d' Arusmond⁵, encontraron que en el tratamiento de la neumonía, el suero antivenenoso se mostró hasta más eficaz que el suero antineumocócico. Pudimos constatar que sucedía lo mismo con el suero antibotrópico. También quisimos estudiar experimentalmente la acción del suero antibotrópico sobre las toxinas bacterianas.

En razón de los trabajos que acabamos de citar, escogimos para nuestro estudio las toxinas diftérica, tetánica y disentérica, que gentilmente nos fueron enviadas por el Instituto Pasteur de París.

I. Toxina diftérica

Empleamos cobayos de 500 g y consideramos como dosis mortal mínima (D.M.M.) aquella que mata los animales en tres días (1 centímetro cúbico a 1/400).

La toxina fue inoculada subcutáneamente, en el vientre e, inmediatamente después, el suero, del otro lado. Con 0,5 centímetro cúbico de suero antibotrópico (del Instituto Butantan, y que neutraliza 2,4 mg por centímetro cúbico de veneno de *Bothrops jararaca*), se pueden inocular 2 D.M.M. en 0,5 centímetro cúbico sin que el cobayo presente la menor traza de intoxicación. Es lo mismo si el suero es inoculado 24 horas antes. Por el contrario, los cobayos que recibieron el suero anticrotático, de la misma procedencia, presentaron una intoxicación más bien agravada, ya que sucumbieron al cabo de 24 horas.

II. Toxina tetánica

Tomamos como D.M.M. aquella que mata al cobayo de 500 g en 3 días (1 centímetro cúbico a 1/20000). La toxina es inoculada subcutáneamente y del otro lado el suero. El suero antibotrópico, en dosis de 0,5 centímetro cúbico, permite soportar 5 D.M.M. sin que la menor curvación espinal se produzca.

Los cobayos que recibieron la noche anterior la misma cantidad de suero resistieron también. Aquellos que fueron tratados por el suero anticrotático sucumbieron al mismo tiempo que los testigo.

III. Toxina disentérica

La D.M.M. es aquella que mata por vía endovenosa un conejo de 2 kg en 3 días. Los conejos que recibieron 4 D.M.M.,

seguidas de 3 centímetros cúbicos de suero antibotrópico, mueren, igualmente que aquellos que recibieron 3 centímetros cúbicos de suero antidisentérico del Instituto Pasteur. Con 5 centímetros cúbicos de suero antidisentérico o antibotrópico, los animales no presentaron ningún malestar. La misma dosis (5 centímetros cúbicos) de suero anticrotático parece agravar la intoxicación.

Sería difícil buscar una explicación teórica a esos hechos, según las concepciones unicistas o pluralistas de los anticuerpos; pero el hecho de saber que los sueros antibotrópicos son inminentemente ricos en anticuerpos heterólogos (neumónicos, diftéricos, tetánicos, disentéricos), nos deja sospechar que encierran también otros anticuerpos para los microbios o toxinas celulares contra las cuales no se poseen aún sueros específicos y que los enfermos afectados por enfermedades caracterizadas por tales intoxicaciones podrían sacar provecho de esta seroterapia heteróloga.

(Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica)

NOTAS

1. **Ann. de l' Inst. Pasteur**, 1895, t. 9, p. 225.
2. **C. R. de la Soc. de Biol.** 1926, t. 95, p. 546.
3. **Ann. de l' Inst. Pasteur**, 1930, t. 44, p. 150.
4. **Serpientes venenosas**. Costa Rica, 1931.
5. **Bull. de l' Acad. de Méd.**, 29 janvier 1929.

FUSARIOSIS DEL CAFE EN COSTA RICA*

La literatura sobre enfermedades fusarias del café en el mundo es muy escasa. Delacroix⁴ atribuye a *Fusarium coffeicola* un ataque leve a las hojas del café en Africa. Averna Saccá² informa sobre la presencia de *F. pallens* en las raíces de cafetos atacados por *Rosellinia* y en viveros invadidos por *Colletotrichum* sp. en Brasil. También se lo encuentra en lesiones radicales producidas por nemátodos. El autor indica que *F. coffeicola* produce en Brasil un ennegrecimiento de los granos que causa su caída prematura.

Fawcett⁵ describe el ataque por *Fusarium* de los cafetos en Puerto Rico, con destrucción de la corteza en la base del tallo. Considera que el hongo aprovecha y continúa las lesiones producidas por herramientas e insectos. La enfermedad puede ser reproducida inoculando plantas con fragmentos de tejidos enfermos. Arndt y Dozier¹ describen el ataque de *F. martii* subsiguiente a los daños del grillo del café. Como resultado del ataque, la corteza se torna negra y los arbustos desprenden sus hojas. Una consideración de los hechos anteriores acusan al mal en discusión como una enfermedad nueva, causada por un hongo no descrito.

HISTORIA

Es muy probable que la enfermedad en cuestión no es otra que la llamada "chasparria" por nuestros agricultores. Ha estado

* En la *Revue de Pathologie Végétale et d' Entomologie Agricole* se publicó en 1931 un artículo de C. Picado titulado "*Fusarirose des caféiers à Costa Rica*". No se reproduce por tener un contenido muy similar a éste.

presente por varios años en cafetales, pero no ha llamado la atención porque su presencia se ha limitado a pocas plantas dispersas. En los últimos dos años la enfermedad ha ido en aumento decididamente y de pronto, en forma inesperada, ocurrió un brote luego de que los árboles habían soportado bastante bien un período largo de sequía durante los años 1929 a 1930. La precipitación pluvial de los últimos cinco años fue la siguiente:

<i>Año</i>	<i>Metros</i>	<i>Pulgadas</i>
1927	2,233	87,91
1928	2,295	90,35
1929	1,775	69,88
1930	1,153	45,39
1931 (sólo 11 meses)	2,420	95,27

Luego del inicio de la estación lluviosa de este año (1931), en lugar de iniciar un nuevo crecimiento, los arbustos dejaron caer sus hojas y los retoños nuevos se secaron y se ennegrecieron. Plantaciones enteras, de muchos acres de extensión, se defoliaron completamente.

La enfermedad pareciera haber tenido sus comienzos en la provincia de Heredia y gradualmente progresó hacia el Este, siguiendo aparentemente la dirección del viento. Más tarde, la enfermedad apareció en grado considerable en Alajuela y, más recientemente, hemos visto casos aislados como a 15 km del centro de la infestación, independientemente de la clase de suelo.

PERDIDAS

En el presente es imposible hacer una estimación precisa de las pérdidas como resultado de la enfermedad. Si bien muchas de las plantas atacadas murieron, muchas más se recuperaron pero mostraron un crecimiento anormal. En algunos lugares, la enfermedad comenzó antes del inicio de la época lluviosa y cuando los granos estaban madurando. Como resultado, el rendimiento de este año será bastante menor. Las plantas enfermas, aunque en recuperación, producirán cada vez menos, has-

ta que la cosecha no llegue a pagar los gastos. El cultivo del café será entonces abandonado.

Los productores expertos estiman que la cosecha en las áreas afectadas se reducirá en un 25 por ciento. Con los precios actuales, esto representa una pérdida aproximada de \$100 000.

SINTOMAS

Durante el curso de la enfermedad se producen síntomas internos y externos. Los síntomas externos difieren dependiendo de si la enfermedad se desarrolla en la primavera o en el otoño.

En el primer caso, las plantas son atacadas severamente y la marcha de la enfermedad es más rápida. Con las primeras lluvias de la primavera los árboles saludables inician su nuevo crecimiento y comienzan a florecer. Las lluvias fuertes siguen a esos chubascos tempraneros, de dos a cuatro semanas más tarde, y con ellas sobreviene el activo desarrollo vegetativo. Las plantas enfermas, sin embargo, dejan de renovar el crecimiento activo con la llegada de la estación lluviosa plena y en su lugar, los retoños jóvenes y tiernos, producidos por las primeras lluvias, mueren y se tornan negro carbón (Figura N° 1). En algunos casos los árboles empiezan a desprender sus hojas, los nuevos retoños dejan de crecer y no se ennegrecen, pero producen hojas y ramas anormales. Las plantas nuevas, podadas a medio metro del suelo, producen nuevos retoños pero anormales. Los campos enfermos abandonados tienen plantas con sus copas muertas pero con una proliferación abajo de ramas delgadas e improductivas.

En el otoño, las plantas son atacadas cuando el crecimiento vegetativo es lento y los granos empiezan a madurar. No hay la rápida defoliación que caracteriza a los síntomas en primavera, pero en su lugar la enfermedad aparece gradualmente y su curso es bastante lento (Figura N° 4). La invasión, sin embargo, es persistente y al final las ramas en fruto son destruidas. Los granos de esas ramas no tienen semilla y solamente aquellos frutos que maduraron antes de que las ramas empezaran a secarse, tienen apariencia normal.

Además de esos síntomas obvios, hay otros más difíciles de detectar, tales como la división de la corteza de las ramas verdes; un amarillecer gradual de las hojas, comenzando a lo largo de las venas, antes de ser desprendidas. En las ramas muertas se forman áreas secas y hundidas de corteza y tejido necrótico.

Si la corteza de una planta enferma es pelada cuidadosamente, son evidentes unas líneas o filamentos que van desde las raíces hacia arriba a lo largo del tejido vascular. Algunas veces esas líneas se extienden a las lígulas nodulares y la médula. La corteza de tales plantas es fácilmente desprendida alrededor de la parte baja del tallo y la parte superior de la raíz. Una planta cuidadosamente arrancada presenta un gran número de raicillas parcialmente desintegradas, ennegrecidas y algunas veces totalmente necrosadas. A menudo la lesión se extiende a las raíces primarias y secundarias.

ETIOLOGIA

La enfermedad es producida por *Fusarium anisophilum*, n. sp. Su estado perfecto es la *Nectria anisophila*, n. sp., la cual se desarrolla en árboles de sombra enfermos.

AISLAMIENTO DEL HONGO

El hongo ha sido aislado fácilmente por inoculación aséptica de fragmentos de raíz o corteza infectada sobre agar azúcar⁶. De este medio el hongo ha sido transferido sistemáticamente a una solución de Richard⁷ para su crecimiento posterior. También ha sido cultivado en arroz (autoclavado con un volumen igual de agua), papa, zanahoria, frijol tierno y agua de coco autoclavada, previamente hervida y filtrada.

CARACTERISTICAS DEL CULTIVO

Los cultivos iniciales sobre agar azúcar, de 3-5 días de edad, siempre producen un color rosado suave que cambia pronto. Sus subcultivos son casi blancos o anaranjados,

vermellón intenso o rojo violáceo. Luego del segundo día, se producen conidias unicelulares de $3\ \mu \times 6\ \mu$, especialmente en las colonias rojas. En las colonias blancas o naranja, se encuentran conidias largas, delgadas, bi-, tri- o penta-septadas con finales curvos que miden $4\ \mu \times 40\ \mu$.

Puesto que la producción de un color dado no puede ser considerada como un indicador de la unidad de la especie en estudio, se elaboraron algunos ensayos para dilucidar este punto. Varios subcultivos se hicieron crecer en solución de Richard a la cual se había agregado una solución al 1% de sulfato de cafeína por cada 100 centímetros cúbicos de medio. Todos los cultivos, independientemente de su color original, produjeron colonias de color salmón. En pocas semanas se produjeron tanto micro como macroconidias. Cuando se transfirieron a medios inclinados, se produjeron macroconidias en 6 días, aun en los tipos menos esporulantes. La presencia de cafeína fue igualmente antiséptica para todos los subcultivos y lo mismo puede decirse de la presencia de ácido láctico.

Los micelios viejos cultivados en solución de Richard producen un olor agrio cuando se muelen. Cuando se les deja oxidar al aire el olor pronto recuerda el que producen los chinches. Cuando al *F. cubense*, una especie muy similar al *F. anisophilum*, se lo trata de manera similar, produce un olor agradable parecido al de las frutas, especialmente si se cultiva sobre arroz.

Se encontró que cultivos continuos en medio líquido con el mismo hongo inhiben el crecimiento si la misma especie se emplea repetidamente como inóculo. Para este efecto, los subcultivos aparentemente distintos de *F. anisophilum* y *F. cubense* fueron cultivados en frascos con solución de Richard, exponiendo una gran superficie del medio para el crecimiento del hongo. El medio fue filtrado cada dos semanas y reinoculado con el hongo correspondiente. Después de la tercera inoculación, el medio ya no era favorable para el crecimiento del hongo, aun cuando una cantidad proporcional de las sales nutritivas fueran suministradas a cada frasco. Los diferentes subcultivos de *F. anisophilum* independientemente de su color y características, dejaron de crecer cuando se los interplantó en el medio de culti-

vo en los que habían crecido, pero cuando cualquiera de ellos fue plantado en el medio fluido en el que *F. cubense* se había desarrollado, lograron muy buen crecimiento. Cuando se plantó el *F. cubense* en su propio medio de cultivo, dejó de crecer; pero, sin embargo, cuando se plantó en cualquiera de los medios en que las varias cepas de *F. anisophilum* habían estado creciendo, también logró un buen crecimiento.

Este método de vacunación específica del medio líquido no ha sido empleado para diferenciar las formas imperfectas del hongo, pero lo estimamos como más promisorio que los ensayos serológicos actuales.

Dentro de las limitaciones de nuestros cultivos *in vitro*, sentimos justificado establecer la unidad de la especie por las siguientes razones:

1. Mutación o pérdida de color; algunas veces en el mismo agar inclinado.
2. Igual coloración en presencia de cafeína.
3. Producción de micro y macroconidias sin importar el inóculo original.
4. Sensibilidad igual a los antisépticos.
5. Producción de las mismas sustancias olorosas.
6. Igual reacción hacia el medio vacunado.

CUERPOS DE FRUCTIFICACIÓN

Luego de que las plantas enfermas han perdido sus hojas y sus ramas empiezan a secarse, se forman pequeñas vesículas epidérmicas, particularmente detrás de la cicatriz de la hoja, que contienen los esporodoquios. Estos producen macroconidias. Generalmente, los conidióforos tienen cuatro segmentos. Si son gruesos y cortos, se transformarán en microconidióforos al fin de los cuales está presente, normalmente, una microconidia, aunque algunas veces puede haber dos (Figura N° 9a). En algunas oportunidades los conidióforos no son tan uniformes y se dividen en dos o tres ramas.

En la *F. cubense*, las microconidias y macroconidias son producidas en sucesión por el mismo esporodoquio; mientras

que en el *F. anisophilum*, los conidióforos son diferenciados en uno u otro tipo de conidia.

Las microconidias son ovoides, monoloculares, de un tamaño promedio de $3\ \mu \times 7\ \mu$. Las macroconidias son, en general, casi rectas, con los terminales doblados y de un tamaño promedio de $4\ \mu \times 40\ \mu$. Algunos son hexa o heptaseptados y miden $7\ \mu \times 60\ \mu$. Se encuentran formas intermedias de un septo; que miden $4\ \mu \times 20\ \mu$.

Los conidióforos no siempre se producen en forma inmediata bajo la epidermis; con frecuencia se les encuentra bajo la corteza, directamente sobre el tejido vascular.

Clamidósporas intercalares, esféricas y raramente elípticas, generalmente se forman en placas de agar azúcar o en medios inclinados de zanahoria. Cuando se cultivan sobre frijol rojo, las macroconidias se producen siempre dentro de 8 días independientemente del tipo de inóculo empleado, del medio en que crecía anteriormente, o de su habilidad para producir microconidias en ese medio.

El procedimiento más sencillo para obtener conidias consiste en hacer una emulsión de micelios finamente desmenuzados en agua esterilizada y sumergir retoños jóvenes de café en ella. En el término de dos o tres semanas se producen los conidióforos abundantemente, portando conidias con sus paráfisis sedosas.

EL ESTADO PERFECTO

El estado perfecto del *F. anisophilum* se encontró en las lesiones de árboles de sombra enfermos. Lo hemos clasificado como *Nectria anisophila* n. sp. Su descripción es la siguiente:

Peritecios aislados o en colonias, globulares, simples o con proyecciones desde las vesículas que cubren sus paredes, de color naranja intenso, casi vermellón, con un diámetro de $270\ \mu$ a $340\ \mu$; accidios cilíndricos $70\ \mu$ a $90\ \mu \times 12\ \mu$ a $14\ \mu$; 8 esporas, monoseptadas, usualmente inclinadas, semiseriadas, $14 - 15\ \mu \times 6$ a $7\ \mu$, hialinas, lisas elípticas o fusoides; paráfisis filiformes, ramificándose y torcidas (Figura N° 9).

Esta especie difiere de la *N. inga* Chardón³ por tener peritecios más grandes y por la presencia de paráfisis ramificadas y torcidas. Por germinación la *N. inga* no produce la forma *F. anisophilum*. El estado conidial de la *N. anisophila* reprodujo, con todos sus detalles, la reacción de cultivo y patogénica de *F. anisophilum*. Los cultivos de ascosporas de *N. anisophila* son capaces de reproducir el estado perfecto cuando se cultivan sobre retoños de café en una cámara húmeda, siempre que la fuente de ascosporas haya sido árboles *Inga* y no cafetos. Los subcultivos realizados con dicho hongo, creciendo sobre retoños de café, dejan de producir el estado perfecto cuando se los reinocula en los retoños de café en cámara húmeda. *A su paso por la mata de café como anfitrión, el hongo pierde su habilidad para producir el estado perfecto.* Esto explica nuestro fracaso en obtener el estado ascígeno cuando se hicieron los cultivos de hongos aislados de los cafetos enfermos. La forma *Nectria* se puede obtener de cualquiera de los cultivos aislados del café criándolos en ramas de *Inga* en cámara húmeda.

SECRECIONES DEL HONGO

Para poder estudiar la reacción del anfitrión hacia las secreciones del hongo, los cultivos de *F. anisophilum* se hicieron crecer en 500 centímetros cúbicos de solución de Richard en frascos de 1 litro. El *F. cubense* se desarrolló de manera similar para ser usado como control. Al finalizar un mes, los fluidos del cultivo se filtraron y diluyeron en varias proporciones. En ellas se sumergieron retoños de café jóvenes y plantitas de frijol de 12 días cortadas bajo agua. En cada caso se hicieron los controles correspondientes calentando los diferentes fluidos durante 5 minutos a 100°C.

Los resultados garantizan las conclusiones siguientes:

1. El hongo secreta una diastasa termolábil, capaz de digerir los tejidos del café o de los frijoles en contacto con él.
2. Ocurre un ennegrecimiento de los tejidos del café inmersos en el fluido.
3. Ambas reacciones son fuertemente inhibidas por el calentamiento de los fluidos.

Se hicieron ensayos similares empleando emulsiones de micelio desmenuzado. Las ramas de café sumergidas en ese fluido, sin previo calentamiento, reaccionaron de una forma similar a las plantas enfermas en el campo; las hojas se mayaron, se tomaron cloróticas comenzando por las venas, pronto se cayeron y las ramas murieron. *Existe por lo tanto, una acción tóxica efectiva a distancia capaz de inducir una condición clorótica y un desprendimiento de las hojas.*

INOCULACIONES

Se hicieron inoculaciones directas de suelo y campo. Las inoculaciones de las hojas y las ramas nunca tuvieron éxito; el inóculo empleado fue un cultivo esporulado de pocos días de edad. Las inoculaciones dentro de las raíces gruesas de cafetos viejos también fracasaron y las heridas sanaron normalmente. Plantas en estado de mariposa, esto es, con sólo los cotiledones abiertos, y plantas de un año con seis pares de hojas, fueron sembradas en jarras con suelo esterilizado que fue inoculado con el hongo. En cada maceta se sembraron 3 plantas, 2 fueron dejadas sin alteración y una fue punzada en la corona radicular. Los controles se trataron de manera similar. Las plantas ilesas en el estado de mariposa no parecieron contraer la enfermedad, pero las lesionadas se retrasaron mucho en su crecimiento, reacción no evidente en las plantas de control (Figura N° 4). Por otro lado, las plantas de un año fueron atacadas inmediatamente por el hongo, el que destruyó la corteza desde la base del tallo hasta arriba (Figura N° 5) independientemente de si hubieran sido punzadas o no al plantarlas.

La resistencia de las plantas pequeñas hacia la enfermedad puede explicarse con base en la acción antiséptica de la cafeína hacia el hongo, puesto que ellas contienen prácticamente todo el alcaloide presente en la semilla.

Pareciera que si se dejan las plantas inoculadas a una temperatura de 18° a 22°C, disminuye apreciablemente la actividad del patógeno o aumenta la resistencia de la planta a su invasión. Las plantas de un año, en suelo inoculado pueden permanecer a esa temperatura, aparentemente saludables por lo menos 5 meses. Las mismas plantas, si se trasladan afuera (a

45°C bajo el sol) empiezan a defoliarse a las cinco semanas y para esa fecha la corteza de las ramas se comienza a secar. Se comportan como si fuesen inoculadas al momento de exponerlas al cielo abierto.

En nuestro campo experimental se dispusieron 25 plantas de dos años, traídas de áreas no infectadas, en 5 hileras separadas a 2,5 metros y se inocularon así: la fila del centro se inoculó con pedacitos de raíces enfermas alrededor de cada montículo de tierra al momento de plantarlas. A las hileras restantes se las dejó establecerse y dos semanas después, el suelo alrededor de ellas fue inoculado con cultivos de los hongos. Una única fila no fue inoculada para que sirviera como control relativo. Al final de un mes, la fila inoculada al momento de la siembra tenía 15 ramas completamente defoliadas y que comenzaban a ennegrecerse, mientras que las otras cuatro hileras presentaron un total de 16 ramas defoliadas. Dos semanas más tarde la fila inoculada al plantarla tenía 18 ramas defoliadas; las que se inocularon 15 días después presentaron 7, 10 y 16 ramas defoliadas, respectivamente y las testigo solamente 4 ramas defoliadas. Para este momento los hongos ya se habían dispersado a través del suelo hasta la hilera control y pudieron ser aislados del suelo a su alrededor. Al final de dos meses las plantas ya mostraban síntomas típicos de la enfermedad; los tallos tenían rajaduras coloreadas de gris rodeadas de tejido negro (Figura N° 6) y los retoños nuevos, en la base de las ramas, murieron luego, demostrándose que si bien la defoliación ocurre de las ramas más bajas hacia las superiores, la muerte la sigue luego, comenzando en lo alto y prosiguiendo hacia la base.

La proliferación de raicillas siguió a la destrucción de las raíces por el hongo (Figura N° 7); éste fue recuperado de las raíces enfermas y los esporodoquios estaban presentes en las ramas defoliadas.

Como ya se ha dicho, las inoculaciones efectuadas en las raíces gruesas de cafetos viejos no reprodujeron la enfermedad por cinco meses y el inóculo no penetró en el huésped por la lesión. Luego de este período, sin embargo, las plantas se infectaron. Un examen minucioso reveló que el inóculo se dispersó por el suelo y atacó luego las raíces finas nuevas.

OTROS HUESPEDES

Frijoles: por una contaminación accidental en el laboratorio, se encontró que esta leguminosa es susceptible al *F. anisophilum*. Repetidas inoculaciones demostraron que el frijol negro es resistente, pero las variedades roja y blanca son altamente sensibles. Las raíces fueron destruidas y en la base del tallo se desarrollaron llagas como resultado de la infección, pero el tejido vascular no fue penetrado (Figura N° 8).

Esta planta se utilizó en el campo como un hésped indicador para estudiar la dispersión del hongo en el suelo. Se encontró que en 2 semanas el hongo se difunde 2,5 metros a través del suelo.

Frijol Ilma: una pequeña siembra de esta leguminosa desarrollada cerca de nuestro campo de cafetos inoculado también fue atacada por el hongo.

Malinche (*Poliniana regia*): se ha encontrado en este árbol un caso natural de la enfermedad, cuando se apiló bajo él madera infectada. El hongo *F. anisophilum* fue aislado de los tejidos enfermos.

Arboles de sombra: en vista de que la mayoría de los árboles que dan sombra a los cafetos son leguminosas, se realizó en ellos un examen minucioso. Se encontraron síntomas y lesiones similares a las producidas por la enfermedad del cafeto. Se obtuvieron cultivos de *F. anisophilum* a partir de implantaciones de tejidos de raíces y ramas afectadas. Se encontró que la *Gliricidia maculata*, *Inga* sp. y la *Erythrina* sp. contrajeron la enfermedad. El estado perfecto del hongo, *Nectria anisophila* fue encontrado en las ramas muertas de estos huéspedes.

CONTROL

Mecanismo de Infección: tomando en consideración los largos períodos de sequía y el hecho de que la enfermedad apareció a pocos kilómetros de la capital, en una época en que

el uso de la electricidad para calentar como sustituto de otras fuentes energéticas trajo un descenso en el precio de la madera, nos inclinamos a concebir el origen de esta enfermedad de la siguiente manera: en viejos tiempos la práctica regular entre cafetaleros era la de podar los cafetales y los árboles de sombra, y vender la madera así obtenida ya que existía una demanda grande y un mercado seguro. Esta demanda ha decaído y no hay mercado para esta leña. La práctica de la poda está desapareciendo gradualmente y los cafetaleros que todavía la efectúan, apilan las varillas y ramas ya sea en los cafetales o en lugares cercanos. Cada una de esas estibas se convierte en un criadero de millones de *Nectria* que se han esparcido e invadido los árboles leguminosos y los arbustos de café. Se explica así la dispersión de la enfermedad que ha seguido a las lluvias tenues y su virulencia que aumenta durante la estación lluviosa.

Una vez que el suelo se infecta, el hongo ataca las raíces pequeñas y el destino de la planta depende de la severidad de la infección y de la fertilidad del suelo. En aquellos casos en que la infección es severa, aunque la planta produzca raíces nuevas, el hongo llevará la delantera y la planta se verá seriamente afectada. En suelos pobres, en los que el desarrollo radicular se deprime, aun una infección suave es desastrosa a la plantación. Por otra parte, en suelos buenos, las plantas pueden tolerar y resistir una infección tenue.

La defoliación puede ser atribuida a dos razones:

- Insuficiencia de agua para suplir las demandas de transpiración y fotosíntesis; y
- Acción tóxica de enzimas o secreciones catabólicas del organismo.

Las plántulas sembradas en recipientes llenos con tierra inoculada prosperan muy bien por lo menos por unos meses, siempre que estén bajo cubierto en una atmósfera húmeda y con suministro regular de agua. Estas plantitas pronto pierden sus hojas si se plantan en el exterior a pesar de nuestros esfuerzos de acostumbrarlas gradualmente a los efectos del sol directo. Las raíces de estas plantas que son criadas bajo la sombra y

las de aquellas sin sombra, sufren daños. Las plantas desarrolladas en macetas continuaron viviendo aunque el tejido muerto en la corteza se extiende hasta el cilindro leñoso. Siguió vivas aún cuando la base del tronco está descortezada.

La presencia de los hongos en las ramas se debe a una infección secundaria. A pesar de repetidas inoculaciones y de dispersiones de esporas en las ramas de plantas saludables, no nos fue posible inducir la enfermedad. Todo tiende a probar que la infección ocurre a través de las raíces. Los cultivos de material radical siempre produjeron el *Fusarium anisophilum*, mientras que el cultivo de material de ramas muestra también otros géneros de hongos.

Hace algunos años, varios árboles de *Poinciana regia* fueron importados de la isla de Puerto Rico y se sembraron a lo largo de una vía que conduce al asilo de dementes, cercano a nuestro laboratorio. Un espécimen fue plantado cerca de un cobertizo utilizado para almacenar leña. Puesto que la madera proviene de una zona infectada, le pedimos a nuestro colaborador, Sr. Elías Vicente, la examinara. No solamente encontró gran cantidad de *Nectria*, sino que nos señaló el hecho de que la *Poinciana* que crecía en la vecindad, estaba comenzando a mostrar los síntomas de una enfermedad parecida a la que ataca al cafeto y la *Gliricidia*, cuales son: defoliación, desecación y ennegrecimiento de las puntas de las ramas y vetas negras a lo largo de la región vascular. Procedimos a escarbar y lavar algunas raíces. De su examen encontramos que la corteza radicular presentaba lesiones. De 20 cultivos en agar azúcar en placas de Petri, 17 mostraron al *Fusarium* con todas las características del *F. anisophilum*. La infección fue posible dada la proximidad del árbol a la estiba de madera infectada, ya que los otros árboles *Poinciana* todavía están saludables.

MEDIDAS DE CONTROL

Los estudios de la historia natural del patógeno nos conducen a recomendar las siguientes medidas de control:

1. En regiones infectadas, los semilleros deben hacerse en suelos tan pobres como sea posible con la idea de obtener,

por selección natural, solamente aquellas plantas que sobreviven debido a su resistencia poco usual.

2. En plantaciones nuevas, debe desecharse el uso de árboles de sombra susceptibles a la enfermedad.
3. Se deben podar y quemar las ramas secas y palos de los cafetos así como de los árboles de sombra.

Todas estas medidas preventivas deben adoptarse simultáneamente, y emitirse una legislación para tal efecto. Cualesquiera fuente de infección que no sea destruida podría resultar en la dispersión de la enfermedad por el viento, y la infección de los suelos.

Reconocimientos. Antes de finalizar este artículo, el autor desea expresar su reconocimiento al personal del laboratorio por su servicial colaboración; al Sr. Ingo H. da Silveira – Grillo por su valiosa información acerca del ataque del *Fusarium* al café en Brasil; al Sr. Bienvenido Matienzo del Departamento de Comercio y Agricultura de Puerto Rico por sus valiosas sugerencias en el acopio de bibliografía; al Dr. Elías Vicente por su abnegada ayuda; al Sr. Arturo Roque, Fitopatólogo Asistente de la Estación Experimental Insular de Puerto Rico por su traducción del manuscrito al inglés y a la Estación Experimental Insular de Río Piedras, Puerto Rico, por la publicación del artículo.

Trabajo del Laboratorio del Hospital de San José

NOTAS

1. Amdt, C. H. and Dozier H. L. *The Haitian Coffee Tree Crickte*. Journal of the Dept. of Agriculture of Porto Rico, 15 (2) : 325-335. 1931.
2. Avena Saccá, R. *Molestias Cryptogamicas do Caffeelro*. Secretaria de Agriculture, São Paulo, Brazil. 1917.
3. Chardon, C. E. *Mycological Explorations of Colombia*. Jour. Dept. of Agric. of Porto Rico 14 (4) 195-369. 1930.
4. Delacroix. *Les maladies et les ennemies des Cafelers*. Paris 1900.
5. Fawcett, G. L. *Fungous Diseases of Coffee in Porto Rico*. P. R. Agri. Exp. Station, Bulletin 17. 1915.
6. Agar azúcar: jarabe de azúcar de caña (panela) 10%; peptona 1%; fosfato de amonio 0,5%; Agar-Agar 3%.
7. Solución de Richard: KNO_3 , 10 g; KH_2PO_4 , 5 g; Mg SO_4 , 2,5g; Fe Cl_2 , 0,2 mg; confite de azúcar 50 g; H_2O , 1000 centímetros cúbicos.

EXPLICACION DE LAMINAS

Lámina 49

- FIGURA Nº 1. *Nuevos retoños se marchitan produciendo formas anormales.*
- FIGURA Nº 2. *Arbusto abandonado, copa muerta, ramas anormales saliendo desde abajo.*
- FIGURA Nº 3. *Planta atacada, con su cosecha.*

Lámina 50

- FIGURA Nº 4. *Plantas en el estado de "mariposa". La planta a la extrema derecha fue perforada. Nótese el crecimiento retardado.*
- FIGURA Nº 5. *Planta de un año en suelo inoculado mostrando lesiones a lo largo del tallo.*
- FIGURA Nº 6. *Partición del tallo.*

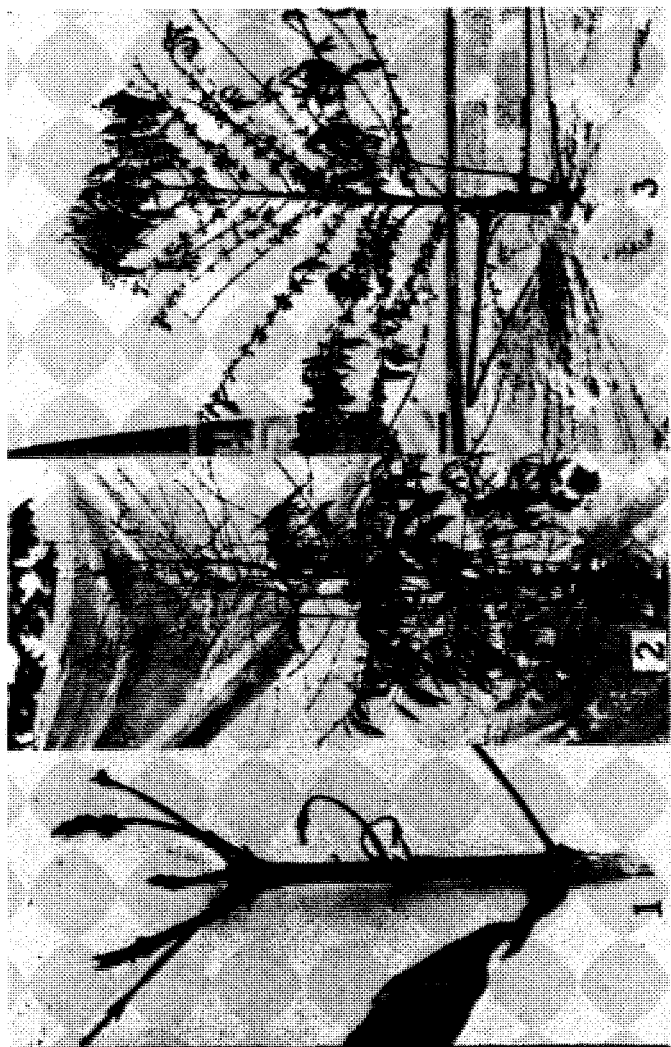
Lámina 51

FIGURA N° 7. *Proliferación de raicillas luego de la destrucción de raíces normales por el **F. anisophilum**.*

FIGURA N° 8. *Frijoles rojos inoculados mostrando llagas. Obsérvese en el centro.*

Lámina 52

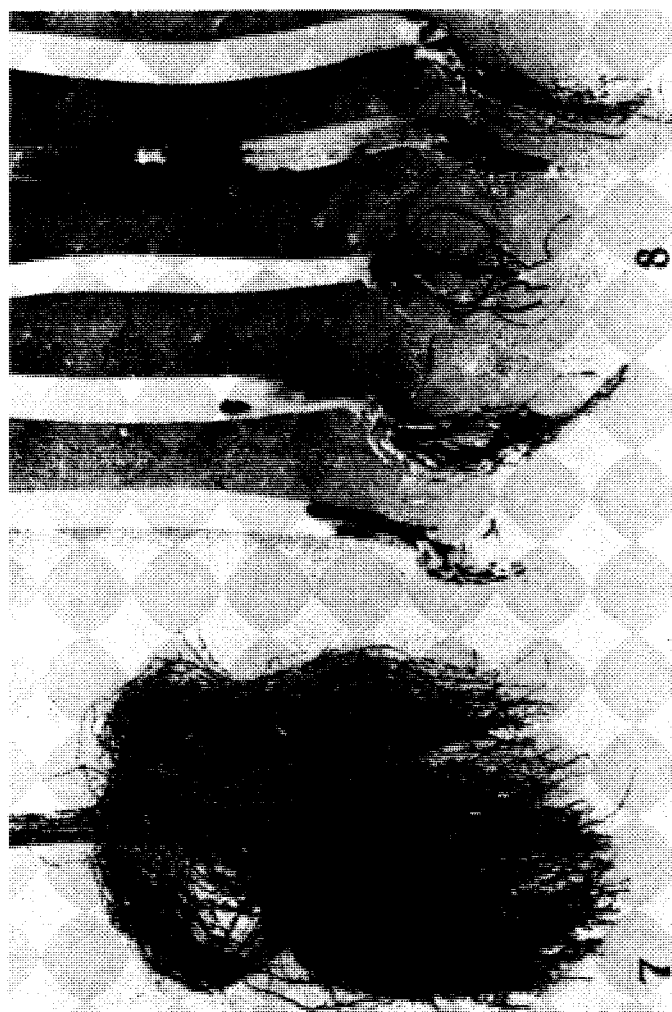
FIGURA N° 9. (a) *Conidióforos con microconidias y macroconidas.*
(b) *Peritecios, (c) accidios, paráfisis y (d) esporas de **N. anisophila**.*



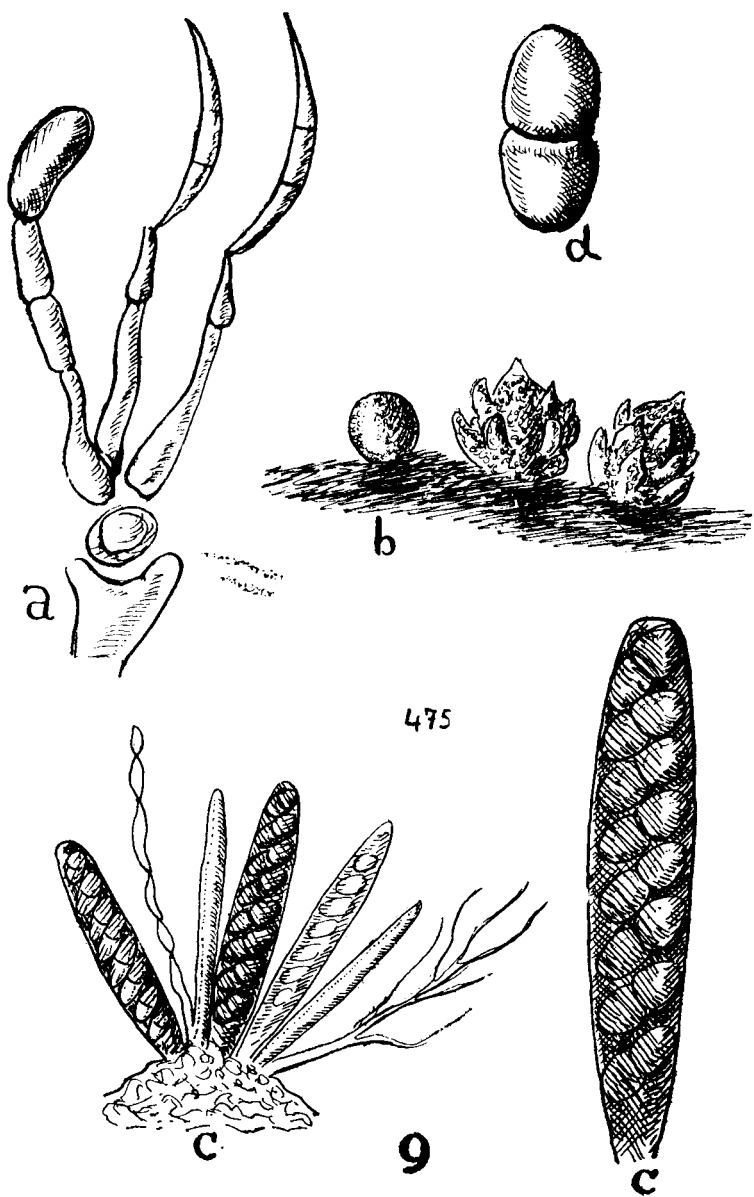
LAMINA 49



LAMINA 50



LAMINA 51



LAMINA 52

COLLETOTRICHUM DE LOS CAFETOS Y LESIONES RADICULARES

W. Small¹ encontró, en Africa, los *Fusarium* acompañados de los *Colletotrichum* en los cafetos con un "debilitamiento progresivo" (Die-Back o Antracnosis).

R. Avena-Saccá² encontró también, en Brasil, los cafetos jóvenes atacados a la vez por los *Fusarium* radiculares y los *Colletotrichum* en los tallos y en las ramas.

Nosotros encontramos³, en Costa Rica, la misma asociación: *Fusarium* que ataca las raíces y *Colletotrichum* atacando las ramas.

Dado que, por una parte, los *Fusarium* no faltan jamás en los cafetos enfermos pero que los *Colletotrichum* sí pueden faltar, y por otro lado, que estos últimos pueden aparecer en las ramas de los cafetos ya dañados, consideramos la enfermedad como una *fusariosis*, causada por *Fusarium anisophilum* n. sp., cuyo estado ascígeno sería *Nectria anisophila* n. sp.⁴.

Muestras de los cafetos enfermos de Costa Rica fueron enviadas a la Estación Mexicana de Fitopatología, por el señor Rojas-Nelson, cafetalero del país. El estudio de las muestras fue confiado al señor Wollenweber, el especialista alemán tan conocido; este experto encontró también un *Fusarium* y un *Colletotrichum*.

De una carta que él envió de México, reproducimos estos párrafos:

"Aislé dos hongos. Una de las especies (Colletotrichum) formó peritecios que permitieron su identificación. Se trata de un Glomerella del grupo Glomerella cingulata Spauld y V. Schrenk. Peritecios parecidos fueron obtenidos

por Small, de ramas de cafetos enfermos provenientes de Uganda. Determiné como *Fusarium lateritium* Nees var. *majus* Wollenweber el otro hongo aislado del mismo material".

No hay, entonces, la menor duda sobre la presencia de la pareja *Fusarium-Colletotrichum* en los cafetos alcanzados por "necrosis progresiva" o "debilitamiento" más o menos acentuados.

Tanto en Africa como en América, la epifitía aparece luego de períodos de sequía. En nuestras regiones, según un estudio de Winogradsky ⁵, la tierra encierra bacterias anaeróbicas, fijadoras del nitrógeno atmosférico, muy activas. Estas acumulan el nitrógeno en la tierra durante la estación seca. Quisimos saber qué efecto producía la presencia de KNO_3 en la virulencia del *Fusarium* de las raíces de los cafetos. Para este efecto, establecimos una serie de macetas en las que sembramos frijoles. Algunas macetas fueron rociadas con una solución de KNO_3 a una concentración de 0,50 g/litro; las otras con agua pura. La virulencia del hongo se encontró exaltada por la presencia de KNO_3 y los chancros de los tallos de los frijoles fueron más grandes y más numerosos. El prolongamiento de las estaciones secas puede entonces producir el doble efecto de debilitar al huésped y de exaltar la virulencia del *Fusarium* ⁶.

Ya que los *Fusarium* son ricos en aldehídos, quisimos observar cuál era la acción de ellos inyectados en el suelo donde crecen los cafetos. Constatamos que a pesar de las múltiples lesiones puramente mecánicas, los cafetos soportaban muy bien estos traumatismos. Lo mismo sucedió con las inyecciones de ácido sulfúrico a 1/10; pero si se inyecta ya sea aldehído fórmico, ya sea aldehído acético, en dosis de 2 a 5%, en cuatro piquetes al día hechos en el suelo a algunos centímetros del cuello, se asiste pronto a un debilitamiento comparable al que sufren las plantas infectadas con *Fusarium*. Los *Inga* a los que se dio un tratamiento parecido, resisten sin molestias aparentes. En los cafetos, cuyas hojas comienzan a ponerse amarillas y a caer a causa de las inyecciones de aldehídos en su región radicular, asistimos a la invasión de ramas por los *Colletotrichum*.

Esto parece mostrarnos que el *Fusarium* sería el parásito primario y el *Colletotrichum* el parásito que aprovecha la debilidad. No está de más decir que la asociación no es necesariamente indispensable.

(Trabajo del Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica)

NOTAS

1. **Bull. y Miscellaneous Information**, Royal Botanical Garden, Kew, 1921.
2. **Molestias Cryptogamicas do Caféiro**, p. 50, São Paulo, Brasil, 1917.
3. **Rev. path. vég. et d'Ent. agr. de France**, Fasc. 10, Décembre 1931, p. 312.
4. **Journal of the Department of Agriculture of Puerto Rico**, vol. 16, no. 4, p. 389, 1932.
5. **Annales de l'Institut Pasteur**, vol. 40, p. 455, 1926.
6. Hechos parecidos fueron citados a propósito de las Royas del Trigo.

UNA ENFERMEDAD DEL BANANO

Desde hace algún tiempo comenzamos a notar en los bananos de los alrededores de San José una enfermedad de la fruta que, posiblemente, por su poca frecuencia anterior ha pasado desapercibida. Hasta la hora actual no parece tener importancia económica ya que los bananos atacados son los que crecen en la altiplanicie del país y que son los de menor valor comercial. En algunos lugares, sin embargo, el porcentaje de racimos enfermos es grande y en estos racimos hemos encontrado, a veces, hasta treinta y tres por ciento de frutas echadas a perder. Como en algunos racimos de los que envía al interior la United Fruit Co., hemos encontrado el daño, ello nos hace creer, sea en un brote esporádico, sea en un comienzo de diseminación de la enfermedad. En cualquier caso, creemos que el hecho no debe pasar desapercibido y, sin perjuicio de ulteriores publicaciones, deseamos desde ahora hacerlo notar, tanto más, cuanto que los plátanos, a veces, son también atacados.

Cuando los bananos no están aún en sazón comienzan a morir por desecamiento progresivo de la extremidad. El daño provoca la maduración precoz del fruto y entonces tenemos la apariencia de algo que no podemos comparar mejor, que a un puro a medio fumar cuya ceniza aun no ha caído; en efecto, al concluir la corteza sana se ve un ribete negro, como carbonizado, seguido inmediatamente de una banda color gris de ceniza, luego siguen bandas onduladas y concéntricas, apenas perceptibles, de color gris ocráceo, que se terminan en la punta renegrida en que casi siempre quedan, también renegridos, restos de la flor. Esta apariencia de ceniza, sugiere algo de naturaleza tenue y deleznable como ella; pero no hay tal, parece hecho de barro

desechado. A veces las puntas de los bananos revientan, otras veces es la corteza. En otras ocasiones la parte desecada cae, quedando pendientes los bananos tronchados.

Daños parecidos en los bananos de la región Caribe han sido atribuidos a un hongo (*Gloeosporium musarum*), que produce: sea puntas negras, rayas negras, o manchas negras. De todos los casos examinados, aislamos siempre un hongo cuyas conidias hacen creer que es un *Gloeosporium*, pero cuyos conidióforos ramificados, lo apartarían del género. Hemos enviado muestras a Europa con el fin de obtener la correcta determinación. Es un *Verticillium*.

(Trabajo del Laboratorio del Hospital de San José, C.R. mayo de 1933)



Bananos enfermos: a la derecha racimo con 30% de frutos dañados; a la izquierda fruto con extremidad desecada y corteza reventada.

SERPIENTES VENENOSAS EXISTENTES EN COSTA RICA

I. *Sobre la especie **Bothrops lansbergii** y formas afines.*

Su veneno y microornamentos epidérmicos.

Nuestro ilustre maestro, Dr. Afranio do Amaral, director del Instituto Butantán, en una revisión publicada con anterioridad¹, logró felizmente desmembrar el grupo del *Bothrops lansbergii* en tres especies: *B. lansbergii*, *B. nasuta* y *B. ophryomegas*, cuya heterogeneidad había sido discutida recientemente por E. R. Dunn².

Durante varios años solamente recibimos en Costa Rica individuos que podían separarse nítidamente en dos especies. En el artículo publicado por nosotros³, las microfotografías 6 y 5 correspondían, respectivamente, a *B. nasuta* y a *B. lansbergii*, esta última conocida por nosotros desde hace algún tiempo y sobre cuya posición específica reinaba en nuestro espíritu alguna duda, a pesar de que estuviésemos convencidos de que era diferente de *B. nasuta*, conforme expusimos en nuestra publicación "**Serpientes Venenosas de Costa Rica**", editada por la Secretaría de Salud Pública de Costa Rica, en 1931.

Fue solamente a fines de 1931 que tuvimos la oportunidad de observar juntas y vivas (Figuras Nº 1) las tres especies que A. do Amaral distinguió entre sí en el referido grupo. Esas especies se pueden describir así:

1. *B. nasuta*: nacida en el laboratorio, con cinco años de edad, siendo la única sobreviviente de un parto de 18 jóvenes

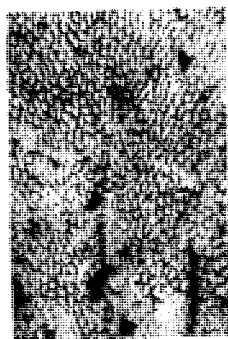
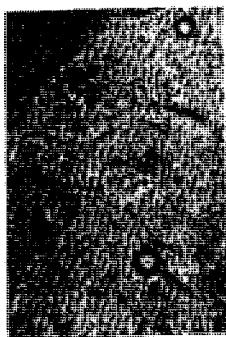
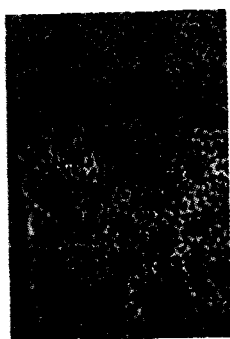
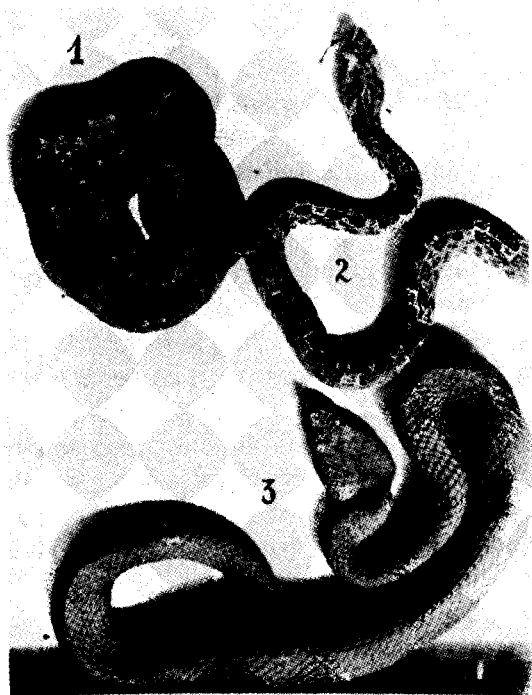


FIGURA N° 1. Aspecto general (foto superior) y microornamentos epidérmicos (foto inferior). 1. De *B. nasuta*. 2. De *B. ophryomegas*. 3. De *B. lansbergii*.

que se devoraron entre sí. Esta mordió en nuestro laboratorio a dos empleados que habían confiado en su lerdeza, verdaderamente falsa, porque es una de las pocas serpientes que puede saltar. Mantúvose devorando ejemplares de lagartijas del género *Anolis* (2 a 3 por semana) y su veneno no mostró diferencias resultantes del régimen alimenticio. Nos podemos, por lo tanto, referir al representante de esta especie como a "una vieja conocida".

2. **B. ophryomegas**: en un desmante llevado a cabo en "El Coyolar" (vertiente del Pacífico), fueron muertos, en pocos días, 180 ejemplares. En una caja que recibí hace algunos meses, fueron colocados cerca de 12. Los separé en grupos de seis, guardando cada grupo en cajas pequeñas recubiertas por tela, en donde viven en buena armonía, amontonándose unos sobre otros sin que jamás se molesten, a pesar de que se muestran bastante agresivos cuando se retiran de la jaula para alimentarlos forzosamente por medio de carne de buey. El mayor de los ejemplares medía 72 cm y produjo 67 mg de veneno seco, lo que representa la cantidad máxima obtenida de esta especie. Parece no haber duda alguna sobre la homogeneidad de sus representantes, los cuales corresponden a lo que habíamos llamado, en publicaciones anteriores, *B. lansbergii*, nombre que, sin lugar a dudas, según la revisión de Amaral que debe ser aceptada, conviene ser sustituido por *B. ophryomegas*.

3. **B. lansbergii**: recibimos hace algunas semanas, dos ejemplares provenientes de "Chitaría" (vertiente Atlántica), cuya "trompa", vuelta hacia arriba, recordaba la "Tamagá", pero cuyo cuerpo, cubierto de escamas poco finas, se asemejaba al de una *B. nummifera*. Estos ejemplares corresponden a *B. lansbergii* de Amaral.

Por el estudio comparativo de los venenos de las tres especies verificamos, contra toda expectativa, que el veneno de *B. lansbergii* es semejante al de *B. ophryomegas* y totalmente diferente al de *B. nasuta*. Lo que se podría esperar si se confía-se solamente en la apariencia de las serpientes, sería la semejanza entre *B. lansbergii* y *B. nasuta*.

El cuadro N° 1 resume las características de sus respectivos venenos:

CUADRO Nº 1.—Características de los venenos de *Bothrops*.

	<i>B. nasuta</i>	<i>B. ophryomegas</i>	<i>B. lansbergii</i>
Mínima mortal para conejo, por vía venosa	1 mg	2,5 mg por kg	2,5 mg por kg
Coagulación de sangre normal de conejo	Abrevia la coagulación (0,1 ml al 1 por mil por ml de sangre)	Impide la coagulación en 8 horas. Coagula en 24 (en refrigeración)	Impide la coagulación en 8 horas. Coagula en 24 (en refrigeración)
Aglutinación de hemáties de conejo	Ligera aglutinación	0	0
Hemólisis de hemáties de conejo	Ligera hemólisis en 7 h.	Ligera hemólisis en 7 h.	Ligera hemólisis en 7 h.
Hemólisis de hemáties humanos	0	0	0
Digestión de gelatina timolada	1 hora.	5 horas 30 minutos.	5 horas 30 minutos.

En referencia a los microornamentos epidérmicos, mientras en *B. nasuta* se presenta un diseño comparable a células finas con paredes delgadas, en *B. ophryomegas* el diseño recuerda a los tejidos vegetales de células alargadas con paredes gruesas, y *B. lansbergii* presenta células diseñadas regularmente como las de *B. nasuta* pero cuyas paredes son tan gruesas como las de *B. ophryomegas* (Figura N° 1).

II. Sobre la especie ***Bothrops godmanni***. Su veneno y microornamentos epidérmicos.

La especie *Bothrops godmanni* (Günther) no ha sido señalada, hasta ahora, en Costa Rica, únicamente en ciertas regiones de Guatemala y de Honduras, a juzgar por las publicaciones herpetológicas que hemos consultado. Desde hace algunos años recibimos serpientes de casi todos los distritos costarricenses y nunca habíamos visto aquella especie, ni sospechábamos, remotamente, de su existencia en el país. Sin embargo, a partir de 1933, comenzamos a recibir ejemplares vivos de esa especie, así como a individuos mordidos por ella, que nos buscaban para tratamiento en el laboratorio que dirijo.

De esta manera, tuvimos la oportunidad de observar cuatro casos de mordidos por *B. godmanni*, a los que inyectamos, con óptimos resultados, antivenenos del Instituto Butantán. En esos individuos pudimos verificar poca acción local y ausencia de hemorragias a distancia, de parálisis y ceguera; más aún, el origen del envenenamiento fue confirmado porque, en dos casos con la misma sintomatología, tuvimos la feliz e insólita oportunidad de examinar la serpiente, que fue muerta luego de haber producido el accidente.

Conforme veremos, la poca gravedad de estos casos de mordedura por *B. godmanni* no es debida a la poca toxicidad de su veneno, sino a la cantidad exigua por ella secretada.

Datos generales sobre ***B. godmanni***

Todos los ejemplares examinados por nosotros provenían de distritos altos (de 1700 a 2400 metros sobre el nivel del mar)

ubicados de 15 a 30 km al N.E. de esta capital, San José. Algunos de ellos provenían de los alrededores de una localidad donde se halla instalado nuestro sanatorio para tuberculosos, localidad bastante visitada hace ya algunos años y en donde hasta ahora no se sospechaba la existencia de serpientes venenosas.

El brusco aparecimiento de numerosos ejemplares de esta especie en tales distritos ha coincidido con el aumento, verificado en ellos, de la especie dendrícola del planalto, *B. nigroviridis*. Casi todos los ejemplares de esta especie capturados últimamente en puntos vecinos a la capital y antes pobres en ofidios solenoglifos, son jóvenes, lo que pareciera corresponder a un fenómeno de migración reciente y eventual concentración de tal especie en esa zona. En el caso de esa especie (*B. nigroviridis*) pensamos que se puede eliminar la hipótesis de que ocurrió una excesiva multiplicación en ese local, por cuanto ella sólo produce cinco hijos cada vez y, por lo tanto, su multiplicación, siendo lenta, no podría haber pasado desapercibida durante años en localidades, como esas, casi todas cultivadas.

Igualmente podemos pensar que tal fenómeno haya ocurrido con relación a la especie *B. godmanni*. La Figura N° 2 representa un adulto de esta especie en actitud característica y la Figura N° 3 reproduce sus microornamentos epidérmicos.

Tamaño máximo observado en *B. godmanni*: 660 mm.

Características del veneno de *B. godmanni*

Cantidad máxima secretada: 23 mg.

Color: amarillo claro, en estado seco.

Toxicidad:

A) *In vivo*.—DML para conejo = 0,5 mg por kilogramo. La muerte sucede a síntomas de asfixia, convulsiones y parálisis en las patas posteriores; trepidación de los músculos abdominales durante cuatro minutos. La mitad de esa dosis no produce tales síntomas.

La acción local es muy enérgica; dosis de 0,1 mg en 1 centímetro cúbico, inoculada por vía hipodérmica en cobayo, produce, en 1 hora y 30 minutos, gran edema, poca hemorragia y destrucción de la piel, como se observa también con el veneno de la cascabela costarricense (*Crotalus terrificus durissus*).

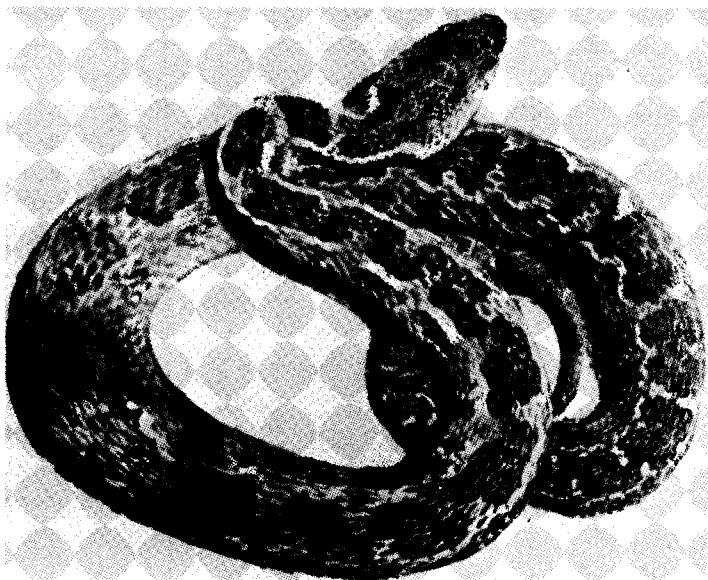


FIGURA N° 2.—B. godmanni, en actitud característica.



FIGURA N° 3.—Microornamentos epidérmicos de B. godmanni.

B) *In vitro*.—Digestión de la gelatina — completa en 1 hora.

Aglutinación de hematíes de hombre y de conejo — nítida (más intensa con los de conejo, tal como se da con el veneno de *Lachesis muta*).

Coagulación de la sangre citratada de conejo — hasta 1 : 16 000 en 15 minutos; en concentración fuerte (1 : 1 000), la sangre coagula en 30 segundos.

Lisis de hematíes de hombre y de conejo — ligera en 6 horas (un poco más intensa con los de conejo).

Aprovechamos la oportunidad para agradecer al Dr. Rotter la ejecución de las microfotografías anexas y al Dr. do Amaral la gentil versión en portugués de este artículo, así como la verificación de la determinación específica de *B. godmanni*.

Trabajos de colaboración del Laboratorio del Hospital San José, Costa Rica, recibidos para publicación, en diciembre de 1933 y agosto de 1934 y dados a la publicidad en diciembre de 1934.

NOTAS

1. Amaral, A. do — *Studies of Neotropical Ophidia XII. On the Bothrops lansbergii group* — Bull. Antivenin Inst. America III (1) : 19-27. 1929.
2. Dunn, E.R. — *Notes on Bothrops lansbergii and B. ophryomegas* — Bull. Antivenin Inst. America II (2) : 29-30. 1928.
3. Picado, C. — *Epidermal microornaments of the Crotalinae* — Bull. Antivenin Inst. America IV (4) : 104. 1930.

**TITULOS Y TRABAJOS
CIENTIFICOS
(1910-1933)**

Primera edición en francés
Librairie Le Francois, 1934
Título original:
Titres et travaux scientifiques (1910-1933)

Primera edición en español
Editorial Tecnológica de Costa Rica, 1988

A mis queridos maestros los Profesores M.M. CAULLERY, de la Sorbona y M.M. WEINBERG del Instituto Pasteur en París.

A todos aquellos que en América Latina, me precedieron en el honor de ser elegidos miembros correspondientes de la Societé de Biologie:

A. GALLARDO, Profesor de la Universidad de Buenos Aires.

B.A. HOUSSAY, Profesor de la Facultad de Medicina, Buenos Aires.

A.H. ROFFO, Profesor de la Facultad de Medicina, Buenos Aires.

VITAL BRAZIL, Fundador del Instituto de Butantan, Sao Paulo.

C. CHAGAS, Director del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro.

A. FONTES, del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro.

A. OZORIO d'ALMEDIA, de la Universidad de Concepción.

L. MORQUIO, Profesor de la Facultad de Medicina, Montevideo.

Dedico humildemente este trabajo.

C. Picado T.

Nota del editor: en la versión original se incluye la lista de títulos, estudios y funciones, la que se ha omitido por haberse incorporado, al inicio de cada volumen de estas Obras Completas como Datos biográficos del Dr. Clodomiro Picado T.

PREFACIO

En 1908, recibí del Congreso de Costa Rica una beca para realizar estudios biológicos en Francia. Fui admitido en la Sorbona, en donde los más distinguidos alumnos en Zoología hacían elogios del "Laboratorio de Evolución de los Seres Organizados" dirigido por el Sr. Caullery. Yo seguí sus consejos y pedí ser admitido a ese laboratorio. La hospitalidad que ahí recibí fue notable por su benevolencia y por una ayuda generosa y constante.

El Sr. Caullery sabiendo un día que yo había traído de Costa Rica un trabajo sobre el Mimetismo en nuestras comarcas, me instó a publicarlo en el "*Bulletin biologique*" de Francia y Bélgica y se esforzó en obtener, para mi publicación, las mejores ilustraciones. Tengo todavía presente el recuerdo de esta cita con el Sr. Caullery; era la calle de Ulm; delante de nosotros se levantaba magnífica la cúpula del Panteón, que ha erigido a "Los Grandes Hombres la Patria Agradecida". A nuestro lado los estudiantes trabajaban sin cesar, con alegría y empeño, mientras que un ruido múltiple, testigo de la civilización, surgía de la "Ciudad Luz".

Donde el Sr. Caullery preparé mi tesis doctoral y constantemente fui ayudado por los consejos del Sr. E. Rabaud y del Sr. D. Keilin. Mi tesis fue también publicada por el "*Bulletin biologique*". Más tarde pasé al Instituto de Medicina Colonial y al Instituto Pasteur, donde fui recibido con extrema bondad por el señor Profesor M. Weinberg, quien fue siempre para mí, en el Instituto Pasteur, lo que el Sr. Caullery había sido en la Sorbona, un valioso guía y un protector generoso. A petición del Comité France-Amerique, fui nombrado delegado por Costa Rica en el Centenario de Pasteur y recibí una subvención para la ampliación de estudios; en esta época fui recibido amablemente por M. Foez, en la Estación de

Patología Vegetal; mi reconocimiento es fiel a estas fechas y a estos nombres.

El destino quiso que un cuarto de siglo más tarde, mi querido profesor, Sr. Caullery, me honrara con una visita a mi país; su benevolencia que jamás me faltó, quiso que yo hiciera un pequeño extracto de los trabajos científicos que había emprendido y que tendían a fomentar otros. Le expliqué que esta costumbre de los sabios europeos, de hacer una exposición de sus trabajos científicos, no tenía razón de ser en mi caso particular, ya que no teníamos Universidad ni centros científicos a los que les pudiera interesar.

Al día siguiente, viajamos, el señor Caullery y yo, a las montañas centrales del país, a la ribera del gran Reventazón, río que antiguamente, cuando había sido maldecido por los "Zukias" o sacerdotes indios, rodaba en forma de piedras la cólera de los dioses hacia tierras más bajas. Estando ahí, el profesor me dio valor y me encargó una vez más que hiciera una descripción somera de los *trabajos en los cuales, decía él, las ideas ahí esbozadas podrían servir a otros como base de trabajo*; fue en este momento que decidí hacer este resumen.

Delante de nosotros se erigía esplendorosamente el bosque precolombino, que sepultó bajo su techo de hojas a una raza entera. A nuestro lado, las oropéndolas, los pájaros de Montezuma con el pico de cinabrio y cola de oro, tejían sin parar y con alegría sus nidos colgantes de los árboles seculares, mientras que del fondo del bosque surgía un ruido como un trueno lejano: era la voz de los monos aulladores.

Costa Rica, 4 de mayo de 1933.

I ZOOLOGIA

(5, 6, 7, 18, 19, 34, 36, 63, 64)

(Estos números se refieren a la lista bibliográfica general)

Los animales bromelícolas

La fauna bromelícola conocida antes de mis investigaciones, llevadas a cabo en Costa Rica durante un año, comprendía alrededor de 100 especies. Yo pude llevar este número hasta 250, de las cuales 49 eran completamente desconocidas. Hice varias observaciones biológicas sobre los diversos grupos que constituyen la fauna de las bromelias, en donde, salvo los peces, no falta ninguno de los habitantes de las charcas. Entre estos animales estudié, desde el punto de vista morfológico, algunos que me parecían particularmente interesantes.

a) *Scirtes championi* n.sp. es un coleóptero (Dascillidae-Helodinae) cuyas larvas acuáticas constituyen los representantes más constantes y numerosos entre los animales bromelícolas. En el estudio anatómico de la larva hay que destacar: un verdadero molino masticatorio faríngeo, destinado a triturar los desechos vegetales de los cuales se alimenta; su largo tubo digestivo, plegado en S y sus branquias rectales. La larva secreta una espuma con la cual fabrica un refugio durante el período ninfal. La ninfa permanece pegada a la exuvia que juega el papel de una barquilla. Todas estas particularidades son testimonio de una estrecha adaptación a la vida bromeliana.

b) *Megarhinus superbus* (Culícido). Díptero silvícola típico, cuyas larvas de las diversas especies viven en los troncos huecos que se llenan de agua. El canibalismo de ellas es tal, que en cada reservorio foliar no se encuentra más que una sola larva de esta especie. Hice el estudio morfológico detallado de la larva, la ninfa y el imago.

c) Quironómidos. Las larvas, ninfas e imagos de los géneros *Isoplastus*, *Chirocladius*, *Metricnemus*, *Chironomus* y un *Ceratopogoninae* fueron estudiados desde el punto de vista morfológico.

d) *Leptostyla gibbifera* n.sp. (Hemíptero Tingitidae) la larva, la ninfa y el imago fueron también estudiados desde el punto de vista morfológico.

e) *Endiodrilus Biolleyi*. Es un gusano oligoqueto muy constante en el terrario bromeliano periférico; posee una trompa retráctil e invaginable. Esta trompa está enervada por gruesos filamentos que se insertan directamente en los ganglios cerebroides, cosa que permite considerar a este órgano como el centro de funciones sensoriales, más especializadas que las simples funciones táctiles. El estudio anatómico de las glándulas genitales y del tubo digestivo fue someramente hecho.

f) *Anastrepha striata* Schin (Dípteros Tripetidae) y *Diachasma Crawfordi* n.sp. (Bracónido), parásitos de esta mosca fueron estudiados, tanto desde el punto de vista biológico, en sus pasajes a través de las diversas frutas, durante todo el año, como desde el punto de vista morfológico. Encontramos, en colaboración con el Sr. Keilin, que la orientación de la larva debe ser considerada, en el caso del *Diachasma*, como inversa a aquella que uno admite habitualmente, sin tener en cuenta la anatomía interna, posición del sistema nervioso, corazón, etc. *Anastrepha striata* daña la totalidad de las guayabas (*Psidium*) del país. Su parásito podría servir en la lucha natural contra esta plaga.

Serpientes venenosas

El conjunto de mis trabajos sobre las serpientes, desde el punto de vista puramente zoológico, comprende observaciones sobre el comportamiento en libertad y en cautiverio de cada una de las 13 especies (1 *Hydrophinae*; 2 *Elapinae* y 10 *Crotalinae*) del país, de las cuales, algunos ejemplares han podido ser mantenidos en cautiverio durante 5 a 6 años. Establecí una clave para la identidad de las serpientes de coral, venenosas e inofensivas, y otra para los crótalos, lo que permite una fácil determinación. El estudio microscópico de las escamas me permitió comprobar que

los microornamentos tienen características específicas, comparables, al menos en los crótalos, a aquellas del pelo de los mamíferos; mientras que estos microornamentos carecen del todo de especificidad en los colúbridos salvo en las serpientes de mar. Consideré la distribución geográfica y la comparación con la fauna ofídica de los países vecinos, así como la lucha contra las serpientes y sus enemigos naturales.

Nuestra fauna ofídica tendría que pertenecer teóricamente a aquella de América del Norte pero una excepción ha hecho que ésta pertenezca a la de América del Sur. Esta excepción fue beneficiosa para el país, puesto que permitió con gran éxito, el uso de sueros brasileños para combatir nuestros accidentes.

II

FISIOLOGIA VEGETAL Y AGRICOLA

(3, 7, 24, 26, 27, 29, 30, 33, 62)

Nutrición de las bromellas epífitas

En el transcurso de mis investigaciones sobre las bromeliáceas, estudié no sólo la absorción de las sustancias minerales por las escamas foliares, sino también la absorción de las sustancias ternarias y proteicas que caen entre sus hojas. Pude demostrar que el agua retenida entre las hojas de la planta permanece pura, a pesar de la continua transformación de los desechos vegetales y animales que ahí caen y dicha transformación se debe, al menos parcialmente, a la actividad de las enzimas que provienen de la goma secretada por la planta. Las hojas absorben en efecto, los productos a medida que van apareciendo.

En la época en que hice estas investigaciones, era más difícil que ahora explicarse la pureza del agua bromeliana y la ausencia de putrefacción de los detritus que caen entre sus hojas; la noción de pH no existía, pero sabiendo hoy que las floras bacterianas sucesivas, que conducen a la putrefacción, necesitan pH diferentes y que la absorción de los productos solubles tanto minerales como orgánicos implica un pH constante, nosotros comprendemos mejor hoy que en 1912 la composición de los detritus y la pureza del agua guardada por las hojas en forma de cornete de las bromeliáceas epífitas.

Abonos catalíticos

En los países tropicales de América, donde las lluvias torrenciales hacen verdaderos lavados de las sustancias solubles incorporadas a la tierra en calidad de abono, es de gran interés

encontrar abonos insolubles, económicos y fáciles de transportar. Buscando resolver en parte el problema, llevé a cabo investigaciones (en colaboración con el señor E. Vicente) sobre el empleo de nuestros minerales naturales de ferro-manganeso como abono catalítico. Obtuvimos un notable aumento en la cosecha, variando entre un 14 a 68% para las zanahorias, avena, frijoles, papas y maíz, al emplear el mineral incorporado a la tierra, en dosis que variaban entre 4 y 74 kilos por hectárea.

Finalmente, hice estudiar el empleo de este mineral en los arrozales en una dosis de 8 kilos por hectárea y se obtuvo un aumento del 16% una vez que el arroz fue pulido.

Los rayos X y la germinación de las semillas (En colaboración con el señor E. Vicente)

Encontramos que una irradiación única, activa la germinación de los frijoles pero no causa efecto en el trigo; la diferencia en el comportamiento puede deberse a los diferentes estados de vida que presentan los embriones en las semillas. Correlativamente, el maíz seco es insensible a los rayos, pero el maíz cuya germinación ha sido previamente inducida, empapándolo con agua, se vuelve sensible y se obtienen cultivos más abundantes.

Otras Influencias de los "químicos Infinitamente pequeños"

Pude mostrar que el arsénico incorporado a la tierra produce, en dosis todavía inactivas para los protozoarios bacteriófagos, una vigorización en las plantas, con lo que se le podría considerar igualmente como un abono catalítico. En colaboración con el señor E. Vicente y J.M. Arias encontramos que la adición de yoduro de potasio en dosis infinitesimales aumenta el contenido de azúcar en la caña de azúcar, en los rábanos y en el repollo y confirmamos el aumento también del azúcar de remolacha (Stoklasa). Experiencias inéditas me demostraron que la adición de pequeñas cantidades de carbonato de cobre o de hidróxido de cobre a la tierra donde se cultiva tabaco, mejora sensiblemente el aroma de éste.

Polenauxinas

En otra serie de investigaciones, constaté que los óvulos no fecundados y los estigmas del maíz encierran una sustancia (o propiedad) que provoca la germinación del polen, tanto en pequeñas diluciones como en suspensiones isotónicas. Esta acción es comparable a la de las "fertilisinas" que Lillie encontró en los óvulos animales. Nuestra "polenauxina" no sería específica; aquella del maíz es termoestable (56° C).

Fermentación del café con ayuda de levaduras

Las semillas de café sufren una fermentación con motivo de su permanencia en los grandes recipientes después de ser descascarados. Si la fermentación es rápida y si los microorganismos en juego no dan malos olores, el café guarda todo su aroma, pero no sucede así si aparecen microbios indeseables. Para obviar este inconveniente, estudié la fermentación con la ayuda de levaduras; descubrí que cada especie de levadura puede dar un aroma especial y que las más útiles son aquellas que provienen de las frutas de zonas altas, en donde se produce el café con mejor reputación. La fermentación con la ayuda de levaduras puras, no sólo mejora la calidad del café, sino que impide la putrefacción de las aguas de lavado que se desechan en arroyos que atraviesan algunos lugares habitados, en donde los malos olores son nocivos para sus pobladores. Para nuestro país, en donde la única fuente de riqueza exportable es el café, este sistema debiera ser adoptado y mejorado ya que es simple, lógico y eficaz.

III

BACTERIAS Y HONGOS PARASITOS

(9, 10, 11, 12, 20, 21)

Coccobacillus acridiorum (En colaboración con el Sr. F. Sancho).

Durante la invasión del país por langostas peregrinas, estudiamos la infección experimental de los insectos y constatamos la exaltación de la virulencia y el inicio de las epidemias. Diseñamos equipos de riego, movidos por bueyes y preparamos un medio apropiado de cultivo con el caldo de las mismas langostas. Trabajos recientes parecen mostrar que la epidemia entra en el tipo de las "enfermedades autoesterilizables", de las cuales se habla actualmente y que rápidamente los microbios dejan de ser nocivos.

Estudio sobre las aguas potables del país (En colaboración con el Sr. E. Sancho).

Estudiamos, desde el punto de vista bacteriológico y sanitario, diversas muestras de agua de manantiales y ríos.

Bacterias normales de plantas

En diversos látex, así como en el jugo de diversas frutas, entre ellas piña, marañón y mango, encontramos con suma frecuencia bacterias. Aquellas del látex no constituyen una simbiosis constante, como lo creí al principio y las de las frutas no penetran en el interior sino hasta que uno las corta o a través de pequeños pinchazos durante la maduración en la planta. Es importante, sin embargo, anotar que estas bacterias contribuyen a

la maduración y al buen sabor de la fruta. En el Instituto Pasteur tuve la oportunidad de estudiar piñas de las Islas Canarias y en ellas encontré las mismas bacterias que en las de Costa Rica.

Micosis

Estudié la siguientes infecciones:

- a) *Lingua pilosae*, producida por la asociación de un *Cryptococcus* y una bacteria;
- b) Dermatitis aspergilar;
- c) Tíña por *Penicillium*;
- d) Carates (*Penicillium thichophyton*);
- e) Tíña tricofítica;
- f) *Blastomycosis*;
- g) *Esporotricosis*;
- h) Cité la presencia de un hongo que no pude cultivar en el "Moosy foot" antes que la etiología micósica de la infección hubiese sido establecida;
- i) Aspergilosis pulmonar. La enfermedad se presenta con frecuencia en Costa Rica y algunos enfermos que pasan por tuberculosos han podido ser fácilmente curados.

Microbiología aplicada

Dediqué un informe al estudio de las técnicas microbiológicas adaptadas a las condiciones de mi país, para la preparación de algunos alimentos ya sea regionales o de uso mundial. Entre estos últimos, establecí una técnica para preparar un

excelente vinagre con los bananos de desecho. Un joven siguió mis indicaciones y posee ahora una fábrica de vinagre de banano que ha adquirido ya muy buena reputación; el uso de este vinagre se propaga cada vez más, ya que el producto es comparable a un buen vinagre de vino.

IV

FITOPATOLOGIA

(28, 31, 68, 70, 72, 73)

A. Acción a distancia de los hongos fitopatógenos

Para explicar estas acciones se ha recurrido a diastasas o a toxinas comparables a las microbianas. Estudié de manera comparativa dos tipos de *Fusarium*, dos de *Verticillium* y uno de *Penicillium*. Se preparó y redujo al estado seco a:

- a) Las exotoxinas o exodiasistas del medio de cultivo.
- b) Las endotoxinas o endodiasistas del micelio triturado.
- c) Los productos termoestables solubles en alcohol.

Se deduce de estas experiencias:

- 1) Que el marchitamiento de las plantas, el oscurecimiento de los vasos y la disolución de los tejidos, no tienen la misma causa.
- 2) Que no es indiferente utilizar cualquier planta para juzgar el poder patógeno de un extracto de hongo, o de su medio de cultivo, en relación con la planta que parasita.
- 3) Que las sustancias nocivas se encuentran generalmente en el micelio y que ellas no pasan al medio de cultivo excepto en los cultivos viejos donde gran parte del micelio ha autolisado.

- 4) Que muchas veces el marchitamiento se presenta más acentuado con extractos calentados a 100° que con aquellos no calentados, lo que no sucedería si se tratase de toxinas o de diastasas.
- 5) Que el extracto alcohólico termoestable es más nocivo para la planta parasitada que los productos de orden tóxico o diastásico.

He podido concluir que varios hongos fitopatógenos producen un **envenenamiento crónico** y no una **Intoxicación** (en el sentido estricto de la palabra) en la planta parasitada.

B. Una enfermedad bacteriana de los frijoles

En la parte subterránea del tallo se encuentran escaras secas de donde salen haces ennegrecidos. El examen directo de jugo de los tejidos, así como los cultivos, demuestran que se trata de dos especies distintas, un "coco" y una bacteria larga y ancha. Estudié la acción de estos dos gérmenes sobre varios medios de cultivo así como la posible secreción de diastasas y toxinas. No encontré estas últimas y así se explica el marchitamiento fulminante, que mata por deshidratación a las plantas que la víspera estaban aparentemente sanas. Las inoculaciones directas mostraron:

- 1) Que únicamente la bacteria ataca la planta;
- 2) Que el "coco" solo es inofensivo;
- 3) Que la mezcla de "coco" + bacteria ataca la planta y coexiste en las lesiones. Por lo tanto, la bacteria sería la especie patógena y el "coco" simplemente asociado.

C. Fusariosis de los cafetos

En varios lugares del viejo y del nuevo mundo se encontraron, en los cafetales que presentan síntomas de "deterioro pro-

gresivo", *Fusarium* y *Colletotrichum*, cuyo comportamiento parasitario no ha sido definitivamente establecido. En varios de estos ataques en Costa Rica, encontré constantemente un *Fusarium* que ataca las raicecillas finas y muchas veces *Colletotrichum* en las ramas.

Conseguí probar que el *Fusarium* de los cafetos es un parásito común de los árboles de sombra que pertenecen a la familia de las leguminosas, donde se encuentra su forma ascigera: *Nectria anisophila* n.sp., cuyas ascosporas producen el *Fusarium anisophilum* que está en fase de adaptación a los cafetos. La enfermedad experimental y cruzada fue obtenida así como el control del avance del *Fusarium* en el suelo gracias a siembras de frijoles, en los que la enfermedad puede ser detectada en dos semanas. El *Fusarium* produce aldehídos y la experiencia me mostró que si se inocula en el suelo aldehído fórmico o aldehído etílico en concentración débil, se puede obtener en los cafetos un deterioro comparable al producido por el *Fusarium* y entonces, en estas plantas debilitadas, sea por el *Fusarium* o por la inoculación de aldehídos, es que se desarrollan los *Colletotrichum*, que deben ser considerados, como parásitos de debilidad.

Las leguminosas de sombra son por el contrario, bastante resistentes tanto al *Fusarium* como a los aldehídos.

D. Desecamiento de los bananos

Se ve, en los racimos de bananos cultivados en la Meseta Central de Costa Rica, algunas frutas cuyo crecimiento no está terminado y que presentan un aspecto peculiar parecido al de un puro a medio fumar, con la ceniza todavía pegada. Los bananos afectados maduran precozmente y el racimo se malogra. La enfermedad no había sido detectada en el país anteriormente, pero está en fase de propagación; a veces un 33% de las frutas del racimo presentan esta enfermedad. *Musa sapientum* y *Musa paradisiaca* están parasitadas. Se trata de un *Verticillium*. Encontré muchas veces, dentro de los rizomas de las plantas con racimos enfermos, otros tipos de hongos cuya intervención queda por esclarecer.

V

NUEVAS TECNICAS DE LABORATORIO

(8, 13, 14, 16, 53)

A. Reacción de fijación practicada con el suero anti-buey y la alexina de cerdo

Llamado a practicar reacciones de fijación (Wasserman, etc.) en un país en donde los carneros son muy escasos, ya que a nuestros mataderos no se lleva más que ganado vacuno y porcino y en condiciones en que no se podría hablar de crianza de cobayos, hice el esfuerzo de poner en práctica una técnica para realizar reacciones, sin disponer más que de productos del matadero. Si uno diluye el antígeno en suero de cerdo inactivo a 56° C y si se emplea la alexina de cerdo en una dosis de 0,1 centímetro cúbico sin diluir, y en un volumen total de 3 centímetros cúbicos, se pueden practicar reacciones de Wasserman con glóbulos sensibilizados de buey, con resultados muy satisfactorios y sin animales de laboratorio.

B. Diagnóstico precoz de las fiebres tifomorfás

Se ponen 3 centímetros cúbicos del enfermo en 10 centímetros cúbicos de bilis; después se echa rápidamente la mitad de bilis, que cae al fondo, en un tubo de caldo lactosado carbonatado; la otra mitad en un tubo de caldo glucosado carbonatado. Ambos tubos, con el carbonato bien sedimentado por largo reposo, se colocan 24 horas en la estufa, pudiéndose obtener:

- 1) Gas en los dos tubos = colibacilo.
- 2) Gas sólo en el tubo glucosado = paratíficos.

- 3) Nada de gas en los dos tubos ricos en bacilos =
Típicos.

Después, con los bacilos del caldo, se continúa la identificación habitual, pero se ha ganado tiempo.

C. Métodos de coloración

Estudié modificaciones de los métodos de Pick y Jacobson para el gonococo y el de Biot para el bacilo de Koch.

CH. Medios de cultivo

Para los hongos, estudié un medio compuesto por jugo total de la caña de azúcar a 11° Brix (6,11 Baumé), 1% de peptona, 0,5% de fosfato de amonio y 2% de agar, en donde casi todos los hongos patógenos para los animales y diversas especies fitopatógenas dan cultivos típicos.

La leche del coco, ya sea líquida o gelificada, sin nada más, es también un medio que ofrece grandes ventajas para las investigaciones micósicas y para las bacterias fitopatógenas o simbióticas de las leguminosas.

D. Nueva reacción serológica para el paludismo

Se emplea la técnica Hecht-Weinberg para la reacción de Wasserman, pero con glóbulos de conejo y no de camero pues se lisan. Se hace, paralelamente, un Wasserman con el antígeno de Bordet-Rouelens y otra serie de tubos con el otro "antígeno" (un volumen de sacarosa al 10% en agua destilada + un volumen de agua fisiológica; todo recién preparado).

En 743 casos, obtuve:

1,10% de palúdicos confirmados, sin tratamiento, negativos a las dos reacciones;

8% positivos a Hecht y negativos a la sacarosa;

33% positivos a las dos reacciones;

90% +++ o ++ a la sacarosa y negativos a Hecht.

Las otras reacciones positivas se presentaron por los casos graves de parasitismo intestinal. El tratamiento químico debilita la reacción que, sin ser específica, puede sin embargo ofrecer sus servicios.

VI VENENOS DE SERPIENTES (36, 55, 64)

A. Características

Estudié, de las 13 especies venenosas del país:

- La cantidad de suero producido;
- El poder coagulante sobre la sangre;
- Citolisinas y aglutininas
- El poder hemolítico;
- La proteólisis;
- Las acciones locales y generales y;
- Las dosis mínimas mortales para diversos animales.

Este estudio resaltó las variaciones regionales del veneno de una misma especie; es así como el veneno de la *Crotalus terrificus* de nuestro país es 8 veces menos tóxico para el conejo y 100 veces menos tóxico para la paloma, por vía intramuscular, que el veneno de la misma especie de Brasil. El veneno posee por el contrario, una gran actividad local. Entre nosotros *Lachesis muta* produce un veneno que es 50% menos tóxico que el de la misma especie brasileña, pero con una acción local intensa. El veneno de *Bothrops atrox* es, en Costa Rica, más activo que en Brasil, siendo el nuestro 3,5 veces más tóxico por vía intravenosa.

B. Influencia de la alimentación sobre la acción específica del veneno

Se puede plantear la hipótesis de que las serpientes desarrollan propiedades tóxicas electivas de su veneno en relación con los animales de los cuales se alimentan. Quise llevar a cabo el estudio experimental y para tal efecto alimenté algunas serpientes recién nacidas, unas con lagartijas (*Anolis*) y otras con carne de buey, durante 3 años. El estudio del veneno se dirigió a su efecto en los mamíferos, los pájaros y los reptiles y pude constatar que el veneno de *Bothrops atrox*, alimentada exclusivamente con lagartijas durante 3 años, no es muy activo para las lagartijas, pero es 10 veces más tóxico para los mamíferos; dicha especie se alimenta, habitualmente de mamíferos. Las variaciones de toxicidad no se producen en un sentido determinado, ni tienen relación simultánea con las diversas propiedades del veneno.

C. Acción de las diversas sustancias sobre los venenos

El bicarbonato de soda refuerza enormemente la toxicidad del veneno de *Bothrops atrox*. Los diversos jabones no tuvieron influencia, salvo los de aceite de ricino y aceite de cedro, que disminuyen la acción local del veneno. Entre los colorantes encontré que la eosina precipita el veneno de cobra. No obtuve ningún efecto con sustancias —alcaloides, metales coloidales y nuevas sustancias terapéuticas,— salvo con las sales de cadmio que retardan sensiblemente la coagulación de la sangre por los venenos.

VII

INMUNOLOGIA

(15, 23, 25, 60, 64, 65, 69)

A. Anticuerpos experimentales en los vegetales

Si se inoculan las pencas o cladodios de *Opuntia* (variedad sin espinas, seleccionada por Burbank) con una emulsión de polen de maíz, se puede obtener, al cabo de 1 semana, un jugo dotado de propiedades citolíticas y aglutinantes con respecto al polen del maíz y de las gramíneas vecinas: *Coix*, sorgo. Otras variedades de *Opuntia* así como otras cactáceas nos dieron resultados comparables, pero recientemente, Kostoff obtuvo precipitinas antipatrón en los "injertos". Pareciera que hasta el momento, esos resultados son los únicos positivos en la obtención de anticuerpos experimentales en los vegetales. La inyección en las plantas de lirio de polen homólogo, provocó anomalías florales que yo no había podido producir por medio de inyecciones de polen heterólogo. La atrofia en las flores recae particularmente sobre los estambres.

B. Anticuerpos leprosos

Estudí paralelamente la reacción de Wasserman y la de Eitner en la totalidad de personas enfermas hospitalizadas en nuestro leproario: los resultados demuestran una cierta sensibilidad específica para el antígeno de lepromas: 5% en los que la prueba de Wasserman fue negativa.

C. Vacuna antivariólica sensibilizada

Hay consenso en admitir que las consecuencias negativas de la vacunación antivariólica, entre las cuales la encefalitis es la

más peligrosa, provienen de una exaltación de la virulencia de las cepas utilizadas.

Para obviar estos inconvenientes, he preparado una vacuna sensibilizada. Una mezcla en partes iguales de linfa vaccinal glicerina y de suero antivaccinal del mismo origen, obtenidos en el conejo, incubado a 37° C durante 10 a 30 minutos. Esta vacuna puede ser utilizada en la forma convencional por estría o escarificaciones dérmicas o bien por inyección intradérmica de 0,05 centímetro cúbico. En todos los casos las reacciones locales y generales han sido muy moderadas, las cicatrices apenas puntiformes, pero la inmunidad tan sólida como aquella obtenida con la vacuna común.

Con la utilización de esta vacuna podemos reducir y hasta eliminar infecciones locales; las reacciones generales son amonizadas y no se requerirá más ni de vendaje ni de tratamientos locales. Estoy convencido de que este procedimiento debería ser adoptado y difundido, no sólo por ser menos doloroso, sino para contrarrestar los pretextos de los enemigos de la vacunación jennariana.

CH. Sueros antivenenosos

1. Estudié la acción de los sueros brasileños del Instituto Butantan sobre el veneno de cada una de nuestras especies y pude constatar que el suero antibotrópico neutraliza los efectos locales del veneno de nuestra serpiente de cascabel, pero que sus neurotoxinas son idénticas a las de la variedad brasileña; aquí hay que usar los dos sueros: el antibotrópico y el anticrotático, en el caso de mordedura por *Crotalus*. En *Bothrops nigroviridis* hay por el contrario, una neurotoxina, que puede ser neutralizada por el suero antibotrópico pero no por el anticrotático.
2. Habiendo observado, por una parte accidentes en que personas mordidas por *Bothrops* y tratadas tardíamente por el suero (lo que teóricamente no debería suceder ya que esos venenos matan muy rápido, o no matan, cuando no hay tratamiento sérico) y por otro lado, hechos experimen-

tales que permiten creer en una disociación tardía de la mezcla veneno + antiveneno, pude demostrar que esta liberación de veneno *in vivo* efectivamente se produce y que, para impedir esta liberación, es conveniente emplear inyecciones sucesivas de suero, ya que éstas neutralizan una cantidad más grande de veneno y de una manera más estable que una única y masiva dosis de la misma cantidad de suero. Habría que preguntarse si sucede lo mismo en las intoxicaciones bacterianas.

D. Cuti-Inmunidad endógena y exógena

Si se inyecta un conejo por vía intravenosa con ayuda de una mezcla de virus vaccinal + cedrina (glucósido de *Simaba cedron*) y se continúa inyectando, cada día, 20 mg de cedrina durante 2 días seguidos, el conejo, a pesar de las depilaciones sucesivas, no presenta la erupción varioliforme típica de los testigos. Si dos semanas más tarde se inyectan los conejos que habían recibido virus + cedrina con virus vaccinal solo, por vía intravenosa, el animal depilado no tiene ninguna erupción; está por lo tanto vacunado pero por vía endógena, ya que es receptivo a la inoculación de virus vaccinal por vía dérmica. Su suero es, sin embargo, tan rico en anticuerpos como el de los animales que han presentado reacciones cutáneas. Esta doble modalidad inmunitaria nos permite explicar diversos hechos de inmunidad criptogénica así como de contaminaciones en los vacunados. Es de esperarse que la mezcla virus + cedrina podría servir, en algunos casos, como vacuna preventiva contra ciertas enfermedades humanas. Yo vacuné con la ayuda de un compuesto virus + cedrina, contra la viruela aviaria. Después de un contacto de 2 horas, la mezcla fue inyectada por vía intravenosa. Las aves no presentan ningún malestar general. Más tarde, aparecieron 2 a 3 pequeñas pústulas y el animal quedó sólidamente vacunado. Los parásitos sensibilizados por la cedrina podrían talvez producir enfermedades inaparentes, capaces de prevenir infecciones graves. Me parece que los investigadores, que tienen los medios, deberían intentar esta experiencia con la fiebre amarilla y con el paludismo.

E. Inmunidad pasiva heteróloga

El suero de un conejo inmune contra la bromelina (diastasa de la piña) neutraliza *in vitro* e *in vivo* las propiedades proteolíticas, flogógenas, hemorragíparas y hemolíticas del veneno de *Bothrops*. El suero antibotrópico (de Butantan) neutraliza algunas dosis mínimas mortales de toxina diftérica y de toxina tetánica por inyección en cobayo. Si uno inyecta toxina disenterica al conejo, el suero antibotrópico la neutraliza en el mismo grado que el suero específico. El suero anticrotático de igual procedencia no posee este poder neutralizante con respecto a las toxinas microbianas.

VIII

TERAPEUTICA

(35, 37, 52, 54, 59, 66, 67, 71)

A. Fiebre tifoidea

La vacunoterapia no específica, con ayuda de una vacuna hecha de levaduras emulsionadas en su mosto de fermentación —jugo de caña de azúcar + jugo de naranja con sulfato de manganeso,— me permitió constatar la cura de múltiples casos de fiebre tifoidea con 3 a 6 inoculaciones: 1 cm³ por día de vacuna. Muchos médicos del país lo ensayaron siempre con excelentes resultados. Investigaciones hechas independientemente por otros investigadores, tanto en Francia como en Estados Unidos, confirmaron posteriormente lo bien fundado del procedimiento.

B. Neumonía

Sabiendo que Legendre y D'Arusmond habían obtenido muy buenos resultados, aún superiores al tratamiento específico, con el suero antivenenoso en el tratamiento de la neumonía, quise ensayar entre nosotros el suero antibotrópico contra las afecciones neumocócicas; 10 cm³ por día de este suero son igualmente eficaces que 80 a 100 cm³ del suero antineumocócico.

C. Pesca con látex y látex vermícidis

Los indios empleaban látex de algunas plantas para matar y recolectar peces. Encontramos que el mecanismo de la muerte en este caso, no se debía a una intoxicación, sino que las granulaciones coloidales impiden respirar a los peces; sería comparable al mecanismo de muerte, en los animales voladores, por algunos

gases asfixiantes. Algunos látex son también empleados contra los parásitos intestinales. Nuestras experiencias nos mostraron que en este caso no se trata tampoco de una intoxicación sino de una muerte semejante a la de los peces que se pescan con látex.

CH. Paludismo y cedrina (En colaboración con el Dr. E.G. Nauck)

La tradición indígena señala que las semillas de *Simaba cedron* sirven como remedio contra el paludismo. Estas semillas no contienen alcaloides sino un glucósido. Por la vía digestiva, este glucósido produce en forma muy rápida la remisión clínica, pero los parásitos persisten en la sangre de los enfermos. Las inyecciones cotidianas de 5 cm³ de una solución al 10%, por vía intramuscular, generalmente en número de 6, hacen desaparecer los parásitos y los gametos de la sangre circulante. Hay que vigilar la orina desde el punto de vista de los cilindros.

D. Viruela y cedrina

Los enfermos que recibieron inyecciones de cedrina y de vacuna no específica de levaduras, tuvieron una enfermedad de evolución tanto más rápida y benigna, cuanto antes se inició el tratamiento. Los enfermos tratados al comienzo de la erupción, aunque ésta fuese muy grave, no mostraron cicatrices. En mi publicación hay una abundante documentación fotográfica. No pudimos tratar más que a las personas ya enfermas y aisladas, falta saber cuál sería el efecto de las inyecciones de cedrina administradas en el período de fiebre y antes de que la erupción fuese esbozada. Sería deseable que este ensayo fuese hecho.

E. Envenenamientos ofídicos experimentales

Los indígenas del país usaban las semillas de *Simaba cedron*, como una infusión hecha con el *Polypodium friedrich-thalianum*, helecho epífito abundante en el centro del país, contra las mordeduras de serpientes. El estudio experimental me demostró que:

- 1) El principio activo de *Simaba cedron* inyectado al inicio, preserva el cobayo contra el veneno de cobra y retarda la muerte por el veneno de serpiente coral (*Micrurus*);
- 2) El extracto de helecho preserva, si uno lo inyecta previamente, contra el veneno de cobra; produce un retardo en la muerte por veneno de *Micrurus*, preserva también contra las neurotoxinas de *Crotalus* (veneno privado por calentamiento de los elementos tóxicos termolábiles).

El conejo puede ser salvado de la intoxicación cobraica experimental si uno inyecta, a todo alrededor del punto de inoculación del veneno, una mezcla de eosina + bromelina o de eosina + tripsina y si al mismo tiempo se inyecta por vía intravenosa sulfato de esparteína.

El envenenamiento botrópico experimental puede ser eficazmente tratado *in situ* por inyecciones de una mezcla fresca de: sulfato de esparteína al 2%, 1 cm³; cloruro de oro al 1%, 1 cm³; ácido clorhídrico al 5%, 0,1 cm³. En esta mezcla se forma una sal doble de oro y de esparteína que permanece disuelta en el líquido acidulado.

Estos procedimientos precozmente instituidos, después de ligar el miembro mordido, podrían ser valiosos en los lugares donde no hay sueros.

F. Tuberculosis (En colaboración con el Dr. R. Calderón Muñoz)

Con esputos tuberculosos se prepara, por digestión con bromelina y en presencia de cloroformo, una peptona que se utiliza en inyecciones subcutáneas: 2 a 5 cm³ en una solución al 1%, una vez por semana.

Estas homopeptonas deben contener:

- 1- Venenos tuberculínicos elaborados en medio humano;
- 2- Co-diestasas leucocitarias termoestables;

- 3- Productos de proteólisis de la expectoración;
- 4- Sales minerales de expoliación;
- 5- Productos bacteriolíticos contra el bacilo de Koch, reforzados por el calentamiento y la presencia de peptonas.

Los resultados obtenidos muestran:

- a) Reducción de la fiebre,
- b) Aumento del peso en plataforma;
- c) Desaparición del sudor nocturno,
- ch) Mejoramiento del estado general;
- d) Decrecimiento de las expectoraciones;
- e) Disminución y desaparición de los bacilos en las expectoraciones;
- f) Aumento de los glóbulos rojos y de la hemoglobina y normalización de la fórmula leucocitaria;
- g) Reacción de Besredka que se vuelve negativa;
- h) Cicatrización de las lesiones reveladas por radiografía.

Solamente dos casos, comenzados en 1930, han podido ser seguidos hasta 1933, y en esos dos enfermos no pude encontrar bacilos de Koch.

Como yo no podía seguir más con estos enfermos, hice experimentos con cobayos; a la fecha en que escribo este informe, los he conservado durante 12 meses; algunos de ellos parecen curados pero después de un cierto lapso de tiempo se les observan ganglios tumefactos. Los resultados serán publicados poste-

riormente. Me parece que debería intentarse un ensayo, con un número suficiente de enfermos bien controlados, por médicos que dispongan de los medios necesarios. En lo que a mí respecta, me es imposible hacer progresar este tipo de pesquisas que ameritan, sin embargo, ser continuadas.

IX BIOLOGIA GENERAL

(1, 2, 4, 7, 12, 17, 31, 32, 34, 36, 39, 40 a 51, 52, 57, 58, 61)

A. Mimetismo

En este trabajo, se citan los casos principales de homocromía, homotipia y mimetismo específico que se encuentran en nuestra fauna terrestre, así como las observaciones hechas en la naturaleza a propósito de estos animales; se evitó el prejuicio utilitario en la exposición de los hechos.

B. Asociaciones y antagonismo de los microorganismos

a) En un caso de "*Lingua pilosa*" observé una simbiosis compuesta por una levadura y una bacteria; las características culturales de cada componente, fueron diferentes de aquellas del simbiote.

b) En el caso de una enfermedad de los frijoles, encontré constantemente en las lesiones dos especies bacterianas, siempre solas y coexistentes; la inoculación de la mezcla produce la enfermedad, pero en la tierra, en vida libre, una, que no es parásita, es antagonista de la otra. Hay por lo tanto un doble fenómeno de asociación parasitaria y de antagonismo en la vida libre.

En colaboración con E. Vicente, mostramos que en la orilla de los ríos también hay bacterias antagónicas para aquellas que producen la enfermedad de los frijoles y que es suficiente sumergir las semillas en agua fangosa, antes de sembrarlas, para impedir que la enfermedad se produzca.

Encontré también un *Fusarium*, que en la tierra contaminada por *Fusarium cubense*, especie que aniquila las plantaciones de banano, destruye poco a poco la especie nociva. Sin embargo, nadie ha querido prestar atención a este hecho. Me parece, que el fenómeno de sustitución de una especie por otra es también frecuente, tanto para los vegetales como para los animales; en nuestras regiones tropicales pude, en muchas ocasiones, constatar el hecho.

C. Particularidades de la biología médica centroamericana

En este trabajo consideré:

- Los microbios del suelo que fijan el nitrógeno.
- La putrefacción cadavérica.
- El fagedenismo.
- Las avitaminosis de las palomas.
- La disminución de urea urinaria y sanguínea.
- La disminución de los albuminoides del suero.
- El débil poder tóxico de algunos microbios patógenos y la benignidad de algunas enfermedades bacterianas.

Conjunto de observaciones y constataciones que prueban la necesidad de establecer datos propios y evitar seguir las normas clásicas de los países que no tienen las mismas condiciones. Algunas de estas observaciones se verifican en la Península de Malaca, la única parte del mundo que podría ser comparada a nuestras regiones, en donde una raza extraña empieza a adaptarse a la vida sobre una planicie que tiene el mar muy próximo a ambos lados. Un medio diferente tiene como consecuencia, para el ser humano, adaptaciones diferentes y el médico debe tenerlas en cuenta si quiere actuar como biólogo.

CH. Pantanos aéreos

La base fundamental del trabajo que presenté como tesis de doctorado fue la consideración de la sustitución de pantanos terrestres por charcas aéreas en los bosques tropicales americanos. El conjunto de las bromeliáceas epífitas constituye, en efecto, un inmenso pantano permanente, fraccionado, ubicado arriba del suelo, y cuya humedad viene de una condensación cotidiana y local del agua atmosférica, con un barro celulósico imputrescible en las condiciones normales. La ausencia de putrefacción se debe a la actividad de la planta; las bromelias secretan diastasas que digieren en parte los desechos vegetales y animales que caen entre sus hojas y de donde la planta saca toda su alimentación mineral y nitrogenada; estas plantas, de hecho, carecen de raíces absorbentes y las escamas foliares las sustituyen en esta función. Las hojas realizan un verdadero trabajo de diálisis, sacando constantemente del agua guardada entre ellas, todos los productos capaces de perjudicar la pureza del agua. Estas charcas vegetales aéreas están pobladas por una fauna que va desde los batracios hasta los protistas. La vida bromeliana implica un cierto número de condiciones que provocan o hacen posibles ciertas adaptaciones. Las principales consecuencias de la vida bromelícola conciernen a:

- 1- La zoogeografía;
- 2- La época de postura;
- 3- La locomoción;
- 4- El aislamiento de algunos animales;
- 5- La vida anfibia de ciertas especies.

La diseminación de la fauna es pasiva para algunas especies y activa para otras. Desde el punto de vista sanitario, las bromeliáceas son los más terribles refugios de mosquitos que se encuentran, muy a menudo, fuera del alcance del hombre. En

consecuencia, éste último queda susceptible a todas las enfermedades transmitidas por insectos picadores, en pleno bosque, al igual que en donde no hay ninguna charca, justamente a causa del bosque que impide su formación. Tal es la importancia de las bromelias epífitas en la biología tropical americana.

D. Inmunización contra la senectud

Hasta el momento, todos los autores que han llevado a cabo investigaciones tendientes a combatir la senectud, se han esforzado por rejuvenecer. Yo veo el problema desde otro punto de vista: si consideramos la senectud como una enfermedad en su conjunto, ¿no podríamos vacunar los animales jóvenes contra ella? Los trabajos de Carrel demostraron que el suero de los animales viejos es en cierta forma, un jugo de órganos envejecidos, aún si este suero es de formación reciente. En una serie de investigaciones que inicié ya hace 6 años, intenté estudiar las diversas condiciones que implican la inyección de suero homólogo en los animales. Mis estudios recayeron sobre el suero del niño y de hombre maduro como antígenos heterólogos:

- 1- Obtuve heteroprecipitinas antihombre, electivas para la edad del donador;
- 2- Evidencíé la formación de isoanticuerpos de vejez;
- 3- Comprobé que la inyección de suero homólogo de animal viejo, es seguida de una aceleración del crecimiento;
- 4- Encontré que la aceleración del crecimiento prepuberal, implica un tamaño más pequeño en el adulto;
- 5- Busqué también la influencia hormonal del suero del donador sobre los caracteres sexuales secundarios del receptor;
- 6- Analicé la influencia de la raza del donante;
- 7- Estudié el instinto de empollar de las gallinas y el tratamiento sérico;

- 8- Busqué la influencia del tratamiento sérico sobre el sexo de la descendencia;
- 9- Me interesé por la no transfusión de caracteres seniles;
- 10- Investigué la prolongación de la vida del imago en el *Bombyx mori*.

Del conjunto de estas investigaciones, se concluyó que el animal receptor reacciona siempre como si hubiese recibido un antígeno: la inyección de suero de una raza enana provoca, en el receptor, una acentuación de su gigantismo y, a la inversa, la inyección de suero de una raza de gran talla, acentúa el enanismo en el receptor. Inyectando suero de gallo se obtiene, en las gallinas, un aumento neto de las hembras en la progenie. En el gusano de seda, se obtienen mariposas vivientes por más tiempo si se inyecta a los gusanos con sangre de mariposa. En este momento y al cabo de seis años de investigaciones, me quedan 5 conejos de los 12 que recibieron, cuando eran jóvenes, suero de conejos viejos; una de las hembras tuvo ahora un hijo, bastante grande, lo que prueba a esta edad una actividad vital indiscutible. De la otra docena de conejos que fueron guardados como testigos, no queda más que uno solo. Si tenemos en cuenta que en nuestras regiones, la longevidad para los diversos animales (incluyendo el hombre) es menor que en Europa, donde los conejos viven 8 años, es verosímil que la inyección de suero homólogo proveniente de individuos viejos, practicada cuando el receptor es joven, conduce a una prolongación de la vida por el alejamiento de las taras de la senectud.

Continúo investigando.

X VARIOS (22, 38)

A. Pasteur y Metchnikoff

Pasteur y Metchnikoff es un librito en el que estudié, en forma paralela, por contraste, los rasgos principales de la vida de estos dos sabios.

B. El Museo Pasteur de Estrasburgo

En esta publicación, ordené por temas las observaciones que hice en el momento de la inauguración de este museo con motivo del centenario de Pasteur. Es el resultado de un mes de estudio en este lugar.

LISTA DE TRABAJOS EN ORDEN CRONOLOGICO

1. *Documents sur le mimétisme, recueillis à Costa Rica. Bulletin scientifique*, 1910, t. 44, p. 89.
2. *Les Broméliacées Epiphytes comme Milieu Biologique. Comptes Rendus Académ. des Sciences*, 1912, t. 153, p. 960.
3. *Sur la Nutrition chez les Broméliacées Epiphytes. Comptes Rendus Académ. des Sciences*, 1912, t. 154, p. 607.
4. *Les Mares Aériennes de la Forêt Vierge Américaine. —Les Broméliacées. Biologica*, 1912, t. II, n° 16, p. 110.
5. *La Larve du genre Scirtes. Bulletin de la Société Zoologique de France*, 1913, t. 37, p. 315.
6. *Evolution et Formes larvaires de Diachasma Crawfordi. — Braconide parasite d'une mouche des fruits* (en collaboration avec M.D. Keilin). *Bulletin Scientifique*, 1913, t. 47, p. 203.
7. *Les Broméliacées Epiphytes considérées comme Milieu Biologique. Bulletin Scientifique*, 1913, t. 47, p. 215-360 (thèse de doctorat).
8. *Réaction de Fixation, pratiquée avec le sérum antiboef et l'alexine de porc. Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 1914, t. 77, p. 28.
9. **Aplicación del Método de D'Herelle en Costa Rica**, 1915, 23 p. (en colaboración con M.F. Sancho) (Publicación del Ministerio de Agricultura).
10. **Análisis Sanitario de las aguas que se consumen en San José**, 1915, 23 p. (en colaboración con M.F. Sancho) (publicado por la Municipalidad).

11. **Análisis comparado de las Aguas de Tres Ríos y Tiribí**, 1915, 8 p. (en colaboración con M.F. Sancho) (publicado por la Municipalidad).
12. *Primera contribución al estudio de las Micosis en Costa Rica. First contribution to the Knowledge of Costa Rican Mycosis. Anales del Hospital de San José*, 1915, t. I, p. 1.
13. *Nuevas Técnicas de Laboratorio (Nouvelles Techniques de Laboratoire). Anales del Hospital de San José*, 1916, t. I, p. 143.
14. *Método nuevo y fácil para colorear Bacilos de Koch, Hansen, etc. (New and easy method to stain Koch or Hansen Bacilli). Anales del Hospital de San José*, 1916, t. I, p. 263.
15. *Estudio sobre los Anticuerpos Leprosos. (Etude sur les Anticorps lépreux). Anales del Hospital de San José*, 1916, t. I, p. 267.
16. *Técnicas e Interpretación de la Reacción de Wassermann. Anales del Hospital de San José*, 1916, t. II, p. 33.
17. *Interpretación de nuestros dosajes de Urea en la Sangre. Anales del Hospital de San José*, 1917, t. II, p. 161.
18. *Biologie et Morphologie larvaire d'Anastrepha striata Schinner. Mouche des fruits de l'Amérique Centrale. (En collaboration avec M.D. Keilin.) Bulletin Scientifique*, 1920, t. 48, p. 423.
19. **Historia del Gusano de la Guayaba**, 1920, 28 p. (Publicado por el Ministerio de Instrucción Pública).
20. **Nuestra Microbiología Doméstica**, 1921, 31 pages. (Publicado por el Ministerio de Instrucción Pública).
21. *Les Bactéries des Latex. Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 1921, t. 84, p. 552.
22. **Pasteur y Metchnikoff**, 1921, 130 p. (Publicado por «Repertorio Americano»).
23. *Anticorps expérimentaux chez les Végétaux. Annales de l'Institut Pasteur*, 1921, t. 35, p. 893.

24. **Nuestro Mineral de Manganese como Abono Catalítico.**
(En colaboración con M.E.Vicente), 1922, 27 p. (Publicación del Ministerio de Instrucción Pública).
25. *Atrophie des fleurs consécutive à l'injection de pollen homologue.*
Comptes Rendus de la Société de Biologie. 1922, t. 86, p. 904.
26. *Germination brusque du pollen dans l'extrait d'ovule homologue.*
Comptes Rendus de la Société de Biologie, 1922, t. 87, p. 924.
27. *L'Arsenic, engrais catalytique.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie,** 1922, t. 87, p. 1338.
28. **Sur l'action à distance des Champignons phytopathogènes,** 1923. Communication présentée à la Société de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole de France. Tenue à Strasbourg à l'occasion de l'Exposition du Centenaire de Pasteur.
29. *Recherches sur le ferro-manganèse naturel comme engrais catalytique.* (En collaboration avec M.E. Vicente). **Annales de l'Institut Pasteur,** 1923, t. 37, p. 891.
30. *Influence des rayons X sur la germination des graines.* (En collaboration avec M.E. Vicente). **Archives de Physique biologique,** 1923, t. 3, p. 13.
31. *Une Maladie des Haricots. (Association bactérienne parasitaire d'espèces antagonistes en vie libre.)* **Revue de Pathologie Végétale et d'Entomologie agricole de France,** 1924, t. 11, p. 150.
32. *Recherches sur la spécificité du rapport «Toxique-Antitoxique».* (Utilisation en thérapeutique végétale). **Annales de l'Institut Pasteur,** 1925, t. 39, p. 462.
33. *Fermentation du Café à l'aide de levures pures.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie,** 1926, t. 95, p. 543.
34. **Nuestras Serpientes Venenosas,** 1926, 61 p. (Publicado por el Ministerio de Salud Pública).
35. *Vaccin curatif non spécifique.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie,** t. 97, p. 225.

36. *Nuestras Serpientes Venenosas. (Notas Complementarias). El Maestro*, 1927, t. 2.
37. *Traitement diastasique de l'envenimation cobraïque expérimentale. Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 1928, t. 98, p. 1130.
38. **El Museo Pasteur de Estrasburgo**, 1928, 52 p. (Publicado por el Ministerio de Educación Pública).
39. *Particularidades de Biología Médica Central Americana. Revista Médica Latino-Americana*, 1928, n° 152, Buenos Aires.
40. *Inmunización contra la Vejez. Repertorio Americano*, 1928, t. 16, p. 58.
41. *Propiedades Antigénicas de la Sangre de Viejo. Repertorio Americano*, 1928, t. 16, p. 172.
42. *Efectos diferentes producidos por suero de Joven y suero de Viejo. Repertorio Americano*, 1928, t. 16, p. 302.
43. *Suero de Macho y suero de Hembra. Repertorio Americano*, 1928, t. 16, p. 334.
44. *Nueva Quimera. Repertorio Americano*, 1928, t. 17, p. 190.
45. *Prolongación de la Vida en la Mariposa de la Seda. Repertorio Americano*, 1928, t. 17, p. 190.
46. *Isoprecipitinas Experimentales de Joven Contra Viejo. Repertorio Americano*, 1928, t. 17, p. 293.
47. *Supresión de un Instinto por suero de misma especie. Repertorio Americano*, 1929, t. 18, p. 43.
48. *Tamaño de razas e Inyecciones Sanguíneas. Repertorio Americano*, 1929, t. 18, p. 150.
49. *Nanismo y Gigantismo Aviaños. Repertorio Americano*, 1929, t. 18, p. 316.
50. *Crecimiento Prepuberal y Tamaño del Adulto. Repertorio Americano*, 1929, t. 19, p. 26.
51. *Influencia del Suero de Capón en los Pollos. Repertorio Americano*, 1929, t. 19, p. 203.

52. *Fischfang und Wurmbabtreibung durch «Latex».* (En collaboration avec le D' E.G. Nauck). **Archiv für Schiffs-und Tropenhygiene**, 1929, t. 33, p. 536.
53. *Nouvelle réaction sérologique pour le Paludisme.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie**, 1929, t. 100, p. 479.
54. *Tratamiento del Paludismo por la Cedrina.* (En colaboración con el D' E.G. Nauck). **Revista Médica Latino-Americana**, 1929, t. 15, n° 171. Buenos Aires.
55. *Venom of Costa Rican Arboreal Vipers.* **Bulletin of the Antivenin Institute of America**, 1930, t. 4, p. 1.
56. *Propriétés antigéniques différentes des sérums des animaux jeunes et des animaux âgés.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie**, 1929, t. 102, p. 631.
57. *Effet des injections de sérum homologue sur la croissance de jeunes animaux.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie**, 1929, t. 102, p. 755.
58. *Effets des injections de sérum homologue sur la taille et la croissance des animaux.* **Annales de l'Institut Pasteur**, 1930, t. 44, p. 584.
59. *Malariabehandlung mit Cedrina (Ein Glykosid der Simaba cedron).* (En collaboration avec le D' E.G. Nauck). **Archiv für Schiffs-und Tropenhygiene**, 1930, t. 34, p. 29.
60. *Cuti-immunité antivaccinale endogène et exogène.* **Comptes Rendus de la Société de Biologie**, 1930, t. 103, p. 309.
61. *Influencia del tratamiento Sérico Homólogo sobre el Determinismo Sexual de la Prole.* **Actas del Congreso Internacional de Biología de Montevideo**, 1930, fasc. 1, p. 165.
62. *El Yodo Cofermento del Metabolismo de los Azúcares, en los Animales y Plantas.* **Actas del Congreso Internacional de Biología de Montevideo**, 1931, fasc. 3, p. 737.
63. *Epidermal Microornaments of Crotalinidae.* **Bulletin of The Antivenin Institute of America**, 1931, t. 4, p. 104.

64. **Serpientes Venenosas de Costa Rica**, 1931, 219 p.
(Publicado por el Ministerio de Salud Pública).
65. *Vaccine antivariolique sensibilisée. Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 1931, t. 106, p. 624.
66. *Nuevo Tratamiento de la Viruela. Revista Médica Latino-Americana*, 1931, t. 16, n° 185. Buenos Aires.
67. **Ensayo de Tratamiento de la Tuberculosis Pulmonar por «Homopeptonas»**. (En colaboración con el D' R. Calderón Muñoz), 1931, 22 p. (Publicación del Hospital de San José de Costa Rica).
68. *Fusariose des Caféiers à Costa Rica. Revue de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole de France*, 1931, t. 18, p. 312.
69. *Immunité passive hétérologue. Antitoxines bactériennes du sérum antithropique. Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 1932, t. 110, p. 467.
70. *Fusarium Disease of Coffee in Costa Rica. The Journal of the Department of Agriculture of Puerto Rico*, 1932, t. 16, p. 389.
71. *Inmunoterapia no Específica. Revista Médica Latino-Americana*, 1933, t. 18, p. 1257.
72. *Colletotrichum des Caféiers et lésions radiculaires. Revue de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole de France*, 1933, t. 20, p. 268.
73. *Una Enfermedad del Banano. Repertorio Americano*, 1933, t. 26, p. 335.

MEJORAMIENTO DEL CAFE EN GRANO POR MEDIOS BIOLOGICOS

I. TRABAJOS SOBRE LA FERMENTACION DEL CAFE

1. El problema sanitario

En nuestro país una de las condiciones que facilitan un "beneficio" bastante acabado del café es la abundancia de agua, lo cual permite no solamente un completo lavado, sino también la clasificación del café según su mayor o menor densidad. Esta ventaja trae consigo también un daño, un perjuicio sanitario: las aguas de lavado, sin ninguna desinfección ni tratamiento previos vuelven a caer a las corrientes de agua que a veces atraviesan nuestros poblados y aun nuestra misma ciudad capital. Los olores de putrefacción de tales corrientes, envenenan el aire y hacen intolerable el vivir en sus cercanías en tiempos de la cosecha de café. Justo es que digamos que ya un gobierno de hace bastantes años, estableció un premio para quien encontrase manera de purificar el agua proveniente de los desagües de "beneficio". El ingeniero agrónomo Don Enrique Jiménez Núñez resolvió el problema según el sistema de filtros y estanques sépticos que se utilizan para purificar bacteriológicamente el agua de cloacas. Las pruebas efectuadas dieron satisfacción pero el Gobierno que ofreció el premio no cumplió la oferta y el pago se hizo solamente en una ocasión que el eminente profesor Jiménez N. ocupó un Ministerio, es decir cuando pudo pagarse a sí mismo.

El procedimiento de purificación utilizado por el ingeniero Jiménez Núñez, es sin duda eficaz y contra él lo único que

encontrábamos era lo dispendioso de su implantamiento. Según Pompeu do Amaral¹, en el Brasil el problema es el mismo nuestro y en la página 545 hace cita de los trabajos del ingeniero Jiménez Núñez que acabamos de mencionar.

Como para el implantamiento de plantas purificadoras de los desagües de "beneficios de café" serían necesarias autoridades sanitarias de una energía desconocida entre nosotros, quisimos en nuestro Laboratorio, intentar la solución del problema en forma diferente y pensamos en la fermentación por levaduras puras. En efecto, si estos microorganismos eran capaces de agotar la materia orgánica del mucílago de los granos de café, por tal hecho toda la materia capaz de nutrir y permitir la multiplicación de materias nocivas sería transformada en células vivas de levaduras que en vez de ser patógenas, putrificantes o nocivas, fuesen más bien quizás agentes de salud por sus vitaminas y otras cualidades.

La experiencia nos mostró que las levaduras fermentan la totalidad de los azúcares del mucílago, que aprovechan la pequeña cantidad de sustancias nitrogenadas que contiene y que una vez la fermentación terminada no quedan sino las levaduras y fragmentos pécticos de tal manera agotados en cuanto a principios nutritivos, que prácticamente son imputrescibles por largo tiempo. Si de una pila fermentada con levaduras, hasta que la fermentación alcohólica cese, echamos los residuos a la corriente de agua *nada va putrefacto y tampoco nada capaz de podrirse en un futuro próximo* y la suerte final de tales sustancias no es otra que la que en lenta desintegración va destruyendo las hojas que caen en los lechos de los ríos. Por otra parte, las levaduras seguirían el mismo curso que las aguas de las despulpadoras que arrastran mucho jugo del fruto del cafeto, pues más o menos lejos ambos desagües toman el mismo cauce y entonces en vez de ser las bacterias, serían las levaduras quienes transformasen tales materiales. En nuestro concepto, *la fermentación por levaduras puras resuelve prácticamente el problema sanitario de las mieles de café sin gasto de instalación alguno.*

2. Levaduras y propiedades organolépticas del café

Sabíamos por experiencia de nuestros nativos que el café secado al sol y limpiado luego por vía seca es excelente *si no se ha enmohecido*, es decir siempre que las cerezas desecadas huelan a uvas o ciruelas pasas y sabido es que gran parte del aroma de tales frutos se debe a las levaduras naturales de la corteza y que estos son los principales responsables de las diferencias entre las frutas desecadas en calderas y las "pasas" hechas al natural. Sabemos también por otra parte que fermentaciones defectuosas del café dan a la infusión hecha con tales granos el sabor que entre nosotros se conoce con el nombre de "sabor a pila". Es pues un hecho por todos reconocido, que el grano de café a pesar de la torrefacción no pierde los olores que adquirió del medio, mientras se desecaba. Los peores olores adquiridos por el café se deben a las bacterias anaerobias que atacan la pulpa. Basta ensilar cerezas frescas, a fuerte presión para obtener en 2 a 3 semanas una fermentación anaerobia que da a los granos un fuerte olor estercolar que prevalece aún después de estar los granos muy lavados y muy asoleados. La infusión adolece del mismo repugnante olor.

Nada más indicado pues, que probar qué influencia tenían las diversas especies de levaduras sobre una misma calidad de café. Instituímos experiencias con levaduras de cerveza, con levaduras de vino de naranja, con levaduras de destilería y con levaduras aisladas de las cerezas de cafeto de la región reputada entre nosotros como productora de las mejores calidades de café. Con las diferentes especies ensayadas obtuvimos una marcha de la fermentación diferente, los aromas producidos durante la fermentación eran también diferentes y cuando los granos estuvieron secos, se diferenciaban por su color, por su aroma y por el sabor de las infusiones hechas con ellos. Era particularmente apreciable el "bouquet" del licor obtenido de café fermentado por las levaduras propias al buen café de altura. La diferencia es tal que adelantándonos cronológicamente, diremos desde ahora que el Señor Gilberto Saborío, experto catador de café de las agencias Gilliat & Mc. Allister, entre nosotros, logró,

a la prueba gustativa de "la taza", separar en 10 "tazas" mezcladas (de las cuales 5 correspondían a café fermentado por el método corriente y las otras 5 a café fermentado por levaduras puras) los 5 que al catarlos consideró como de mejor calidad y que todos ellos correspondieron a los fermentados por levaduras puras.

3. Difusión del método

Comenzamos entonces a preparar cultivos de levaduras de café, a repartirlos gratuitamente entre los beneficiadores de café y en muchos casos enviamos a empleados de nuestro Laboratorio para que condujesen la fermentación en forma adecuada. Para ello lo que hay que hacer es poner en un tonel un poco de café recién despulpado cubrirlo apenas con agua, añadir las levaduras, mezclar bien y dejar fermentar 24 horas. Este tonel sirve como "pie de cuba" para fermentar toda la pila en que el café debe estar sumergido pero con el mínimum de agua capaz de cubrirlo; con largas varillas de madera se remueve cada 12 horas; es preferible tapar y no tener expuesto a la luz. Así se deja hasta que la fermentación esté concluida.

El agua de esta pila sirve para cargar una segunda y así sucesivamente durante un tiempo que en cada lugar varía según la temperatura, la calidad del agua, etc. Pequeñas cantidades de ácido sulfúrico en la proporción de 1/4 000 a 1/1 0000 en el agua que cubre el café, puede evitar la pululación bacteriana, especialmente cuando el agua que surte al "Beneficio" ha recibido ya desagües de otros "beneficios", o aguas contaminadas por desagües urbanos.

4. Resultados obtenidos

En todos los casos el café quedó limpio de mucílago en un tiempo más corto que el habitual y las calidades de café fueron apreciadas como mejores según cartas recibidas por varios señores exportadores que tuvieron el cuidado de escribir a Europa sobre el método y luego la gentileza de informarme: son ellos Don José Dolores Solera que envió su café a Alemania, el Ing. Don Guillermo Echeverría que lo envió a Inglaterra y particularmente Don Mariano Montealegre que obtuvo por la primera vez

en la historia de una finca, un precio mayor que el de las otras del mismo dueño que no emplearon levaduras y que en años anteriores obtenían sistemáticamente los mejores precios. El señor Montealegre estableció un cultivo de levaduras en un cántaro de agua de dulce (extracto total de caña de azúcar) al 10% acidificándolo con un poco de jugo de naranja. Fermentaba sus pilas con la mitad del líquido en fermentación y renovaba con mosto semejante, hervido y luego enfriado.— Así durante la cosecha entera. Otro cafetalero me envió muestras como habíamos convenido. Los demás, ni por cortesía me informaron de los resultados. Nuestras esperanzas eran más amplias pues sabíamos que si hacíamos emplear las buenas levaduras en los beneficios, pronto éstas serían llevadas por los insectos a otros frutos o flores y de allí pasarían a las cerezas del café de nueva cosecha, estableciendo un ciclo semejante al de las levaduras en los viñedos. En dos notas dimos cuenta de los resultados obtenidos^{6,7}.

5. Patente para mi país

Puesto que los resultados obtenidos eran tan satisfactorios, obtuvimos una patente para nuestros métodos y la cedimos gratuitamente al Gobierno de Costa Rica para que la utilizase como medio de propaganda comercial para nuestro café en el extranjero, haciendo que nuestros sacos llevasen una contramarca registrada que dijese:

*"Café Fermentado con Levaduras Puras.
Patentes del Gobierno de Costa Rica".*

Pensaba así prestar un servicio pues nadie había de creer que con tal sistema se desmejorase el grano, máxime si tenemos en cuenta que mucho de nuestro café es lavado en agua de cloacas. Sin embargo, y a pesar de que el Gobierno inscribió la patente, nadie quiso utilizarla; esto pasaba en 1929.

6. Estudios en Kenya

El Boletín N° 8 (1930) del Departamento de Agricultura de esta colonia inglesa que se esmera en obtener las mejores cali-

dades de café, contiene un estudio de V. A. Beckley sobre la "Fermentación del Café²". En este trabajo el autor muestra:

a) Que la separación del mucílago del grano no es debida a microorganismos ni a sus productos.

b) Que la calidad del café, especialmente en cuanto a su licor que es el factor principal que gobierna el precio, depende en gran parte de la calidad de microbios que se desarrollen.

c) Que el limpiamiento del grano se debe a un factor diastásico.

ch) Que entre los productos provenientes de la acción diastásica, figuran azúcares fermentables que, si son gastados por un microorganismo adecuado, abrevian el proceso – *la fermentación por levaduras mostró siempre una apreciable economía de tiempo.*

d) Muestras correspondientes al N. 1642 fermentadas con levaduras provenientes del café fueron enviadas a la casa J. K. Gilliat & Co. y allí los expertos las encontraron como mejores por el color y por sus calidades de licor a las otras muestras de igual café, fermentado de manera corriente, o con levaduras de cerveza.

e) El valor del tratamiento por las levaduras es evidente, no solamente por la economía de tiempo, sino por mejorar la calidad, lo cual hace posible obtener mejores precios.

f) El empleo de levaduras tropieza con dos dificultades: 1ª necesidad de cultivos en grande – 2ª que las levaduras no aumentan la acidez y que este aumento de acidez es necesario a las diastasas que limpian el grano.

g) Bacterias del grupo *proteus* en cultivo puro, abreviaron la limpieza del grano, también en un 25% de tiempo. El café re-

mitido a la Casa Gilliat no mostró diferencias en cuanto a "licor" pero, sin embargo, los expertos consideraron que eran preferibles las muestras fermentadas por las bacterias del grupo *proteus* en cultivo puro.

h) En un caso, por contaminación de los cultivos, el café fermentado con ellos obtuvo una baja de precio, comparado con el obtenido a misma fecha por igual café fermentado sin cultivo alguno.

i) En un lote de 20 toneladas, 8 de las cuales fueron fermentadas por bacterias, con economía de tiempo, las cualidades del licor de ambos lotes, no mostraron diferencia.

7. Una publicación costarricense

En 1931, el Dr. Rose publica sus experiencias llevadas a cabo en la Fábrica Nacional de Licores⁸. El autor estudia las mieles que salen de las pilas y considera:

a) Que están formadas por ácidos pécticos. Acido galacturónico compuesto, según el examen que hizo el químico F. Ehrlich, de las muestras que de aquí le enviaron.

b) Que se puede decir con toda seguridad, que la miel no contiene azúcar fermentable en cantidad apreciable.

c) Que no se encuentra alcohol en la miel que permita la conclusión de que había una fermentación alcohólica en la pila.

d) Que no había ácido acético— de manera que tampoco puede haber lugar a la suposición que había una fermentación alcohólica y que el alcohol se había oxidado formando ácido acético.

Aislando los microorganismos de las mieles el autor dice: "Resultó que sí se encontraron levaduras de los grupos elipsoi-

deus y apiculatus, levaduras aerobias que se encuentran con la mayor frecuencia en la naturaleza y que por falta de costumbre no pueden formar alcohol etílico. En ninguno de los aislamientos se pudo iniciar una fermentación alcohólica ni en nutriciones más favorables de dextrosa y peptona".

Con estos datos el mismo autor piensa que *"en la fermentación del café se forma por acción de bacterias ácido láctico, lo cual causa la descomposición de la pectina de la pulpa, transformando su componente esencial, el pectato de cal y magnesio en lactato de cal y magnesio, sales muy solubles y ácido péctico formando éste, en solución viscosa, la mayor cantidad de las mieles".*

El autor concluye condenando el empleo de levaduras y sugiriendo que se ponga azúcar a razón de 10 a 20 kilos por metro cúbico de la pila, para lo cual podría utilizarse el mismo jugo de la fruta y añadir si fuera necesario, un cultivo puro de fermentos lácticos.

Este trabajo fue impreso y distribuido por el Gobierno de Costa Rica.

8. Notas a la Academia de Ciencias de París

A. Perrier, en 1931⁴, comunica a esta Academia lo siguiente: la solubilización de la capa mucilaginosa que adhiere al grano de café decortinado, es debida, a la acción de la pectinasa que existe en las cerezas maduras; los microorganismos no intervienen sino indirectamente. Provocan una fermentación alcohólica que eleva la temperatura, lo cual favorece la acción de la pectinasa.

En 1932 el mismo autor⁵ indica que las fermentaciones secundarias no son necesarias para dar al producto su carácter *sui generis*. Prolongadas pueden llegar a perjudicar sus cualidades. La calidad del café depende casi exclusivamente del estado de perfecta madurez del grano, así como de la manera de secarlo.

9. Un concurso salvadoreño

En varias ocasiones y a solicitud de algunos cafetaleros salvadoreños, suministré algunos tubos de levaduras con el ob-

jeto de que hicieran ensayos sobre la fermentación. El último a quien suministré tales cultivos fue al Señor Alvarez Vidaurre, Ministro del Salvador en Costa Rica, quien me confirmó lo que otros me habían dicho: que los resultados que se obtuvieron en el Salvador con las levaduras que envié, fueron halagüeños pues facilitaron la limpieza del grano. Para el Salvador el problema es diferente que para nosotros pues allí la escasez de agua hace necesario volver a emplear la misma que sirvió ya para lavar antes, otros lotes de café. Los tubos de levaduras que entregué al Señor Ministro del Salvador, fueron llevados a los Laboratorios del Hospital Rosales con el objeto de que se conservasen y multiplicasen. Esto al fin no se hizo y repetidas veces recibí propuestas de compra de tubos de levadura por cafetaleros salvadoreños. Siempre les dije que no era práctico el envío de tubos, sino que debían cultivarse las levaduras en gran escala y en cada localidad, probablemente en asocio de destilerías que podrían suministrarlas a bajos precios, dado que ya eran, en este caso, un subproducto industrial.

La Cámara de Cafetaleros del Salvador resolvió entonces establecer concurso sobre la influencia de las fermentaciones en el "beneficio" del café, ofreció \$1 000 al trabajo que se considerase como el mejor y \$500 al que le siguiese en categoría. Las bases fueron publicadas en el Boletín de la Asociación de Cafetaleros de ese país.

No intentamos tomar parte en ese concurso, por no haber indicación de quiénes compondrían el Jurado Calificador y, ¿a qué negarlo? por el recuerdo del escarnio sufrido por el ingeniero Jiménez Núñez en un concurso semejante de que ya hicimos mención. El haber cedido nuestra patente al Gobierno de Costa Rica no era obstáculo ya, pues había pasado el tiempo útil de hacerla valedera.

II. NUESTRAS INVESTIGACIONES ULTERIORES

Las publicaciones que han venido sucediéndose, tan contradictorias entre sí, nos hicieron considerar la necesidad de volver a ver más de cerca estos fenómenos; de establecer datos numéricos así como de separar fenómenos esencialmente dife-

rentes, que han sido englobados como si fueran un fenómeno único y simple, siendo así que son varios y del todo diferentes. Durante el lavado del café se suceden al menos los siguientes fenómenos:

- a) Fluidificación del mielo-mucílago
- b) Solubilización y precipitación de sustancias pécticas
- c) Hidrólisis de azúcares
- ch) Difusión de sustancias del grano
- d) Fermentación

Con algunos análisis sumarios y con la publicación de unas pocas experiencias, creemos que será fácil seguir el proceso.

1. Lavado inmediato del grano

Tomamos una pequeña cantidad de café acabado de despulpar, agregamos otro tanto en volumen de agua de cal saturada y decantada y batimos rápidamente, sea en una copa con una varilla de vidrio, sea con la mano apuñando y restregando los granos. A los pocos minutos los granos quedan completamente limpios. Los lavamos y ponemos a secar y así tenemos: café despulpado que minutos antes estaba en la planta sin la menor influencia de diastasas, de microorganismos, ni de fermentaciones y además material para efectuar el estudio de la composición del mielo-mucílago, sin que nada hayan transformado los microbios.

2. Relación entre las cantidades de agua de cal y mucílago

1° Si tratamos de utilizar el agua que limpió unos granos para limpiar otro tanto, vemos que ello no es posible por más tiempo que gastemos.

2° Si añadimos en vez de un volumen de agua de cal, dos volúmenes, el mucílago se desprende con dificultad y precipita en el líquido.

El fenómeno no es pues, una simple disolución, sino de orden químico necesitando proporciones justas. Este método, no descrito que sepamos, puede llegar a industrializarse y rendir servicios.

3. Acción de otras bases sobre el mucílago

Si agitamos los granos de café en agua con amoniaco o con soda caústica obtenemos también la fluidificación del mucílago. Si empleamos cafeína recién extraída del grano podemos obtener un líquido que al ser precipitado por tres volúmenes de alcohol, muestra grumos de sustancias pécticas.

4. Composición del muelo-mucílago

Tomamos el líquido obtenido por lavado en agua de cal (Exp. N. 1) y haciendo los cálculos por kilo de café decortinado obtenemos:

Extracto seco total	20	gramos
Sustancias precipitables por 3 volúmenes de alcohol a 95°	7,20	gramos
Disuelto en el alcohol	12,80	gramos
Azúcares reductores	8,33	gramos
Azúcares totales	11,76	gramos
Acidez expresada en ácido acético (una vez deducida de la alcalinidad del agua cal)	1,08	

En varios análisis no encontramos ya sino azúcares reductores, pero esto se debe a la rapidez con que a menudo se verifica la inversión, por la invertasa, como luego veremos.

5. Acción diastásica y azúcares

Cuatro balones reciben igual cantidad de café despulpado: 500 gramos + 100 de agua con 3,5 gramos de fluoruro de sodio como antiséptico. Dos de estos balones se ponen 5 minutos en baño maría hirviendo.

Un balón crudo y uno calentado van a estufa a 37° por 24 horas. El otro par semejante pasa a nevera 48 horas.

Dosamos los azúcares y vemos que el balón con café crudo llevado a la estufa es el único que tiene la totalidad de los

azúcares invertidos. Los otros tienen azúcares reductores y no reductores. El que llevó café crudo y fue llevado a estufa a 37° no da más azúcares que los otros: 11 gramos por kilo. La única diastasa cuyo trabajo fue evidente es la invertasa. No se formaron nuevas sustancias reductoras a expensas de los cuerpos pécticos precipitables por el alcohol a razón de 3 volúmenes.

* * *

Hasta ahora hemos visto de una manera que nos parece neta, la diferencia que hay entre el fenómeno de fluidificación que podemos obtener a voluntad sin apelar a diastasas y el de inversión que actúa sobre los azúcares no reductores.

Si consideramos ahora las relaciones en peso, vemos que el mielo-mucílago representa de 1/6 a 1/10 del peso total del café recién despulpado y que el peso seco del mielo-mucílago, es más o menos 1/10 de su peso franco.

La composición centesimal de mielo-mucílago desecado, por término medio es:

Sustancias pécticas	33%
Azúcares reductores	30%
Azúcares no reductores	20%
Sales, celulosa, etc.	17%

* * *

Tratemos ahora de ver cuál es la naturaleza de los compuestos pécticos y cuál la influencia de las diastasas, de las sales y de los ácidos en los fenómenos que presiden la limpieza de los granos del café.

6. Origen histológico del mucílago

Consideramos que el estudio histológico *grosso modo* del fruto del cafeto durante su crecimiento, nos muestra una capa de células cuyas paredes van a constituir la capa mucilaginososa y

que descansan adhiriendo a las células lignificadas que forman el pergamino. Inmediatamente sigue la corteza pero notamos en ella una capa de células ricas en gránulos probablemente proteicos inmediatamente en contacto con las células del mucílago. Esta capa recuerda por muchos conceptos la capa digestiva de las semillas amiláceas que está colocada directamente sobre el albumen, en su parte externa, siendo formada por células ricas en granulaciones proteicas. Era de suponer que esta zona cortical, que probablemente sea la que da los jugos azucarados que impregnarán al mucílago al expanderse, por dilatación en la época de madurez, sea también la zona que contenga las diastatas que influirán, no solamente en la gelificación de la capa mucilaginosa, sino también en la fluidificación del mielo-mucílago, que es el problema que nos interesa en estas líneas.

Naturaleza del mucílago. Molemos con arena y poca agua y obtenemos un líquido que tratado por el ácido clorhídrico o por el cloruro de calcio, no da precipitado alguno.

En cambio si a este mismo líquido, después de alcalinizado por la sosa cáustica le añadimos sea ácido clorhídrico, sea cloruro de calcio, obtenemos un precipitado.

Esto nos prueba que en el grano, la capa mucilaginosa está compuesta por pectinógeno, que es un ácido, pero al fluidificarse, se transforma en pectina y pectatos insolubles (nomenclatura de Onslow)³. Esta experiencia nos explica el mecanismo de la N. 1.

Tomando en cuenta:

1°. Los trabajos de los autores ya citados.

2°. El hecho de que el café en agua corriente no se limpia sino en muchos días.

3°. El hecho de que el café bien fresco y bien lavado se limpia más difícilmente que el impregnado de residuos o jugos de corteza.

4°. La disposición histológica de las varias regiones del fruto, que nos llevó a suponer que en la corteza existen las diastatas que normalmente condicionan la fluidificación del mielo-mucílago.

5°. El hecho de que también en el grano existen diastasas de misma índole que son las que finalmente auxilian las fluidificaciones de las pilas "frías" y de las fluidificaciones en retardo por trabajar con granos muy lavados.

En las experiencias sucesivas veremos el efecto diastásico y la influencia de ciertas sales así como de la naturaleza más o menos ácida o alcalina del medio, sobre las fracciones de sustancias pécticas precipitables o no.

7. Cloruros de sodio y de calcio

Una serie de balones lleva igual cantidad de café acabado de despulpar y el agua necesaria para cubrirlo al 1%, 0,5%, 0,25% etc. sea de cloruro de calcio, sea de cloruro de sodio.

La fluidificación va efectuándose en orden del aumento de concentración de una y otra sal, pero se limpian mejor los que llevaron cloruro de sodio.

8. Diastasas de la corteza y cloruros de sodio y calcio

Las diastasas son obtenidas por precipitación de jugo de cortezas exprimidas a la prensa, el filtrado se precipita por un volumen de alcohol puro, y se deseca el precipitado a 37°C.

Se preparan 5 balones:

- a) Lleva: café 200 gramos + 100 centímetros cúbicos de agua con Na Cl al 0,5% y 1,0% de diastasa activa.
- b) Idem, idem, pero diastasa inactivada por ebullición.
- c) Como a, pero Ca Cl₂ en vez de Na Cl.
- d) Idem, idem, pero diastasa inactivada.
- e) Testigo con agua destilada sin sales ni diastasas.

Resultado:

- a) Da granos perfectamente limpios en 24 horas.
- b-c-d) Se limpian en 48 horas.
- e) Se limpia hasta el tercer día.

Las sustancias pécticas precipitadas por tres volúmenes de alcohol fueron (por kilo de café):

a.	14,00 gramos
b.	11,20 gramos
c.	11,20 gramos
d.	8,80 gramos
e.	12,00 gramos

Vemos que la diastasa activa de cáscara en presencia de Na Cl, reduce el tiempo de fluidificación y acelera la formación de sales precipitables. — Esta aceleración en la formación de sales precipitables se presenta también en el caso de cloruro de calcio y diastasa activa.

9. Influencia de la acidez del medio

Balones semejantes a los de la experiencia Nº 7, llevando solamente diastasa activa de corteza al 1% son dispuestos en tres lotes:

- a) El agua se acidula con ácido clorhídrico al 1,5%.
- b) Se dejan sin ácido, ni álcali.
- c) Se alcalinizan al 1,5% con sosa caústica a 36°B.

Los que están con la acidez natural del grano fluidifican en 24 horas dando el máximum de sales pécticas precipitables. El resto se limpia bien en 48 horas, salvo el que lleva cloruro de calcio y está en medio alcalino.

Vemos, pues, que un ligero aumento de la acidez natural, entraba ya la acción de la diastasa fluidificante.

Como todos sabemos, el café que no está bien maduro, aunque ya pueda decortarse, tiene granos cuyo mucílago es extremadamente resistente a la fluidificación. Como de la corteza de los frutos verdes, pero del todo crecidos, podemos extraer las diastasas fluidificantes, supusimos que la acidez de los frutos, y del mielo-mucílago por consecuencia, era lo que frenaba la acción diastásica. La experiencia nos mostró que así es en

efecto y que basta alcalinizar ligeramente con soda o añadir cloruro de sodio al 0,5% al agua que cubre los granos y que lleva diastasa de cortezas verdes, para que la fluidificación del mielomucílago de estos granos, que comienzan a madurar, se produzca con la misma facilidad que la de granos del todo maduros. En cambio, en estos mismos granos, si reciben agua destilada con la maceración de cortezas verdes, y los abandonamos con su propia acidez, la fluidificación no se produce. Es decir, para que la fluidificación se produzca es necesario:

1° Que el mucílago se impregne de jugos que vayan disminuyendo la acidez y esto sucede naturalmente durante la maduración del grano.

2° Que el mucílago se impregne además de las diastasas fluidificantes y para que éstas se liberen es indispensable la ruptura de las células corticales que la guardan.

Por estos dos motivos la fluidificación no se produce ni en los granos verdes que se rompen, en que hay presencia de diastasa pero exceso de acidez, ni en los frutos maduros que se desecan sin romper su corteza.

En cambio, las cortezas de café maduro guardadas de un año para otro conservan íntegra su diastasa y este hecho podría ser aprovechado industrialmente para abreviar, en casos de urgencia, fluidificaciones en retardo.

Al comienzo del beneficio se presenta casi siempre y año tras año el fenómeno que nuestros caficultores llaman de "pilas frías" y que consiste en lo que pareciera tenaz resistencia del mucílago a fluidificar; esto se debe más que a otra cosa, a la falta de madurez completa de los frutos. En estos casos, una ligera adición de sal de comer y una maceración de cortezas desecadas del año anterior, provenientes de frutos en plena madurez, remedia el daño.

Las experiencias anteriores nos muestran pues que el óptimo para la fluidificación y pronta limpieza se obtiene con diastasa activa de corteza en presencia de cloruro de sodio (al 0,5% en el agua que cubre los granos) y en medio ligeramente ácido (1% en ácido acético que es la acidez natural del mielomucílago).

10. Diastasas del grano

Si sustituimos las diastasas de corteza por diastasas extraídas del grano, vemos que también las hay en él, capaces de activar la fluidificación particularmente en los granos que comienzan a germinar.

Veamos ahora la acción de los microorganismos:

11. Microbios y extracto seco

Una serie de balones reciben cada uno 500 gramos de café recién despulpado de un "beneficio" y añadimos a cada uno 100 centímetros cúbicos del agua contaminada del "Río Torres", que surte al beneficio del cual proviene el café:

- a) No lleva antisépticos, ni levaduras
- b) Lleva 6 centigramos de fluoruro de sodio
- c) Se siembra con una levadura de destilería, sin antisépticos
- d) Misma levadura y ácido sulfúrico a 1/4000
- e) Solamente ácido sulfúrico a 1/4000, sin levaduras.

Dosamos luego el extracto seco reduciendo a kilo de café en grano y obtenemos a las 24 horas y 48 horas:

a) en 24 horas	17 g	a las 48 horas	15 g
b) en 24 horas	22 g	a las 48 horas	19 g
c) en 24 horas	11 g	a las 48 horas	11 g
d) en 24 horas	— g	a las 48 horas	12 g
e) en 24 horas	— g	a las 48 horas	18 g

Estas cifras nos muestran que en los balones b y e, la adición de fluoruro de sodio y la de ácido sulfúrico, que sirven como antisépticos relativos, no impide la fluidificación pero sí la fermentación por los microorganismos naturales y propios al "beneficio", ya sea que ellos vengan del café o de las aguas del río y, por lo tanto, el extracto seco de las mieles fluidificadas da

los números más altos. Vemos además en c y d que las levaduras, en presencia o ausencia de ácido sulfúrico como antiséptico, son las que reducen a las cifras más bajas tales extractos y las que realizan tal trabajo en el mínimum de tiempo. En cambio la adición de fluoruro de amonio permite la fermentación por levaduras habituadas, pero impide la fluidificación. El mucílago queda adherido a los granos pero sin azúcares.

12. "Bilan" de una fermentación

a) Un kilo de café recién despulpado, se limpia con agua de cal (Exp. N° 1) se dosan sus componentes y obtenemos:

Extracto seco total	20
Precipitado por tres (3) volúmenes de alcohol	7,20
Extracto seco de este alcohol	12,80
Azúcares reductores	8,33
Total de azúcares invertidos	11,76
Sustancias no inversibles disueltas por el alcohol	4,47
Acidez expresada en ácido acético	1,08

b) Otro kilo del mismo café se pone en un balón con 375 centímetros cúbicos de agua destilada que lleva: 0,1% de diatasa de corteza, 0,50% de cloruro de sodio y levadura de café. Dejamos fermentar 5 días y luego dosamos los productos obteniendo:

Extracto seco total	11,90
Precipitado por tres (3) volúmenes de alcohol	5,40
Extracto seco de este alcohol	6,40
Azúcares reductores	—
Total de azúcares invertidos	0,15
Alcohol etílico (*)	6,00
Acidez expresada en ácido acético	3,40

(*) Destilado y dosado por el bicromato de potasio en presencia de ácido sulfúrico. En otras fermentaciones, por destilaciones sucesivas, hemos reducido los volúmenes y aumentado las concentraciones y hemos obtenido por los medios físicos, resultados comparables.

Si comparamos las sustancias precipitables por tres volúmenes de alcohol, antes y después de la fermentación, estaríamos tentados a creer que parte de estas sustancias han sido hidrolizadas y fermentadas (y ahora sí cabría entonces atribuirlo a la pectinasa) pero no hay tal: mientras que la parte soluble en el alcohol, excluyendo los azúcares, era de 4,47 gramos por kilo antes de fermentar, después de fermentado es de 6,40. La suma de lo precipitado y lo disuelto da 11,67 por mil en el primer caso y 11,80 por mil después de fermentado. Los cambios de acidez del medio implican cambios en las fracciones precipitables de los compuestos pécticos. Esta experiencia nos muestra además netamente, que no hay necesidad de un aumento progresivo de acidez en el medio para que los fenómenos de limpieza del grano y fermentación de los productos que contiene el miel-mucílago, se lleve a cabo normalmente.

13. Pérdidas de peso, por inmersión, que sufre el grano

Nosotros podemos obtener un kilo de café ya seco y completamente limpio de:

- a) de 1170 gramos de café en pergamino lavado y seco,
- b) de 1225 gramos de café secado con todo el miel-mucílago,
- c) de 2250 gramos de café en pergamino lavado y húmedo.

Hemos retirado el pergamino de granos que fueron decortados y secados sin lavar; una vez los granos separados hemos extraído con agua fría los azúcares y obtenido un líquido con una densidad de 1,040, lo autoclavamos y luego sembramos levaduras y dejamos fermentar y en este líquido concentrado hemos obtenido por kilo de café seco 10 centímetros cúbicos de alcohol etílico puro, dosado con pesa alcoholes en un líquido al 6%; con cuentagotas de Duclaux; por el bicromato en presencia de ácido sulfúrico y con el control de formación de iodoformo en presencia de solución yodo-yodurada y soda cáustica. Así con-

firmamos los números dados anteriormente. Una vez en posesión de estos datos, veamos en algunas experiencias cómo los diversos tratamientos hacen variar el peso final del grano.

Fermentaciones sucesivas: café del mismo que sirvió para la experiencia 12 se siembra con levadura de café y se lleva a nevera 5 días, luego retiramos el líquido fermentado de maceración y lo sustituimos por igual cantidad de un nuevo líquido que lleva: diastasa de corteza de café 1 por mil, cloruro de sodio 0,50%, agua de cal 5%, ácido clorhídrico 1,5% y lo dejamos fermentando durante otros 4 días a 22°C. Los dosajes nos dieron los datos que se presentan en el Cuadro N° 1.

CUADRO N° 1.—Dosajes de fermentación de café.

	Primer líquido	Segundo líquido	Totales
Extracto seco	8,00	6,80	14,80
Precipitado por alcohol	2,00	4,80	6,80
Disuelto por el alcohol	5,60	2,00	7,60
Azúcares invertidos	1,50	0,04	
Alcohol a 100°	5,00	3,00	8,00
Acidez en ácido acético	1,00	0,40	1,40

Comparando los totales con las cifras obtenidas de la fermentación anterior (Experiencia N° 12) vemos que hay aumentos notables, particularmente en lo que al alcohol se refiere y ello hace suponer que sustancias provenientes del grano, principalmente azúcares, han pasado al líquido que los baña.

En las experiencias siguientes veremos la confirmación.

14. Pérdidas de peso por estada en el agua

De un mismo café tomamos:

- 200 granos de café fermentado 24 horas.
- 200 granos de café fermentado 5 días.
- 200 granos de café fermentado 24 horas y luego lavados durante 3 días para impedir la putrefacción con agua fluorurada.

Al principio, y cuando están húmedos, cada uno de los lotes de 200 granos pesa 75 gramos. Los secamos luego varios días en estufa a 38°C. y los pasamos al desecador de ácido sulfúrico por 5 días y los pesamos:

- a) pesa 36,35 gramos sea 100/100
- b) pesa 34,98 gramos sea 100/103,91
- c) pesa 35,30 gramos sea 100/102,97

La fermentación durante 5 días hizo pues perder un peso real de cerca de 4% y la lavada, cerca de 3%.

Si abandonamos ahora estas muestras de café al aire ambiente y al cabo de 8 días las pesamos, obtenemos:

- a) pesa 38,90 gramos
- b) pesa 38,50 gramos
- c) pesa 38,35 gramos

Aquí, engañosamente, por diferencia en absorción de humedad del aire, la pérdida aparenta ser tan sólo de 1%, pero este café "rendirá" menos y será cotizado como de inferior calidad y la pérdida en precio, pueda que sea mayor que la que efectivamente correspondiera por la pérdida real de peso. Para saber qué sustancias son las que salen del grano durante una larga estada en agua hacemos la prueba que se describe a continuación.

15. Naturaleza de las pérdidas por inmersión

a) Café con agua de cal es puesto a macerar en agua fluorada a 0,1%. Al cabo de cinco días se dosan en el líquido los azúcares invertidos y obtenemos 1,34 gramos por kilo de café.

b) Otra parte de este mismo café se pone a macerar en agua con levaduras y obtenemos al 5° día: 1,60 por kilo de café de extracto seco y 0,033% de acidez expresada en ácido acético.

Como en otras experiencias, hemos constatado la salida de taninos y como las levaduras no aumentan la acidez, todo

hace creer que el ácido cafetánico sigue a los azúcares en su salida fuera del grano, durante los lavados o las inmersiones prolongadas. He aquí pues, la razón por la cual hemos de preferir los métodos que permitan una corta estada bajo el agua y que impidan la pérdida de sustancias que dan valor comercial al café.

Nuestro problema quedaría en síntesis así planteado: si las características del café pueden tan sólo desmejorarse por los microbios, como asegura A. Perrier, nada habría mejor que el instantáneo desmielado por el agua de cal. Si los agentes de fermentación no influyen, si ésta se lleva a cabo con rapidez, la degustación no debe ofrecer diferencias. Aunque todas las experiencias anteriores, propias o ajenas, que ya hemos citado, acusan superioridad del café fermentado con sus propias buenas levaduras, procedimos a una prueba experimental en que la parte sugestiva quedase eliminada.

16. Microbios y degustación

Una porción de café en fruta cogido expresamente en plena madurez, es decorticada el mismo día y dividida en tres lotes.

a) Se lava agitándolo con agua de cal filtrada y luego en agua corriente; se pone a secar el mismo día.

b) Se pone a fermentar 48 horas con levaduras de café, luego se lava y se pone a secar.

c) Se fermenta con "Kombuchano" (simbiosis de *Saccharomyces pombe* + *Bacterium xilinum*) también 48 horas y luego se lava y pone a secar.

Estas tres muestras se guardan en pergamino durante 5 meses y luego se limpian.

Las marcamos con los Nos. I — II — III — respectivamente y las enviamos junto con un sobre cerrado que indica la proveniencia de las muestras, al experto catador Sr. Gilberto Saborío que practica la degustación sin enterarse previamente del contenido del sobre; su peritazgo dice así:

- N. I = Corriente.
N. II = La mejor (sabor notablemente puro y mayor acidez).
N. III = Tiene un sabor extraño, muy parecido al que denominamos "Grassy" (Zacate).

Por otra parte, a tres personas acostumbradas al buen café, pedimos su opinión y las tres consideraron como mejor la muestra fermentada con levaduras de café.

17. Conclusiones

1°. La envoltura mucilaginosa que recubre los granos está formada por pectinógeno embebido en sustancias azucaradas.

2°. La fluidificación es la transformación del pectinógeno, en pectina y sales pécticas de metales alcalinos o alcalino-térreos.

3°. Esta fluidificación es favorecida por diastasas que están en la corteza del fruto pero que pueden, aunque desventajosamente, ser substituidas por diastasas del grano.

4°. La adición de sal de comer al 0,5% favorece la fluidificación, aun cuando las condiciones de acidez varíen.

5°. La fermentación nada tiene que ver con la fluidificación. Es un fenómeno notablemente aparte, que se lleva a cabo con fluidificación o sin ella.

Una fermentación adecuada favorece, sin embargo, la fluidificación, no sólo por aumentar la temperatura, sino también por eliminación de productos y modificación de la acidez del medio.

6°. Todos los gérmenes capaces de atacar las sustancias orgánicas, pueden llevar a cabo la transformación del mielo-mucílago.

7°. Las levaduras adecuadas fermentan el mielo-mucílago, dejándolo exhausto de sustancias nutritivas e impropio a la putrefacción.

8°. Las cualidades organolépticas: color, olor y sabor están influenciadas por los gérmenes que llevan a cabo la fermentación.

9°. Estos gérmenes pueden ser, indiferentes, nocivos o útiles.

10. Las levaduras adecuadas no solamente impiden la degradación sino que mejoran las cualidades del café que realzan su precio.

11. En aguas bacteriológicamente sucias, el empleo de ácido sulfúrico muy diluido, a la vez que impide la pululación bacteriana, favorece la fermentación por las levaduras sin perjudicar las diastasas fluidificantes.

12. En ningún caso hemos visto hidrólisis de la pectina ni su coagulación en masa. No hay trabajo de "pectinasa" ni de "pectasa" en el sentido estricto de la palabra; sería sugerible "pectolasa"...

13. El empleo de levaduras en la fermentación del café resuelve prácticamente el problema sanitario de la desinfección de las aguas.

III. ESTUFADO. DIASTASAS DE GERMINACION Y MEJORAMIENTO DEL CAFE YA SECO

Desde hace muchísimos años, sabíamos que el café que se ha desecado en fruta y luego limpiado por vía seca, va mejorando en calidad con el tiempo si está bien acondicionado, mientras que el café que ha sido "beneficiado" por vía húmeda puede o no mejorar con el tiempo.

Después supimos que en Francia, los buenos comedores de nueces reconocen inmediatamente, por el gusto, cuáles han sido desecadas paulatinamente al aire y cuáles en estufa. Leímos después que el cacao que se secaba en estufas a altas temperaturas perdía en calidad y que ello lo achacaban a que las diastasas eran destruidas por las altas temperaturas, y que quienes hicieron tales constataciones y dieron la explicación del fenómeno, fueron científicos alemanes.

Sabiendo que mientras un grano de café desecado a la temperatura ambiente, es una semilla viva, que respira, una llevada a alta temperatura, es materia muerta, supusimos que el café que va mejorando de calidad con el tiempo, es aquel que tiene gérmenes vivos y que el calentado en desecadores a alta

temperatura, no goza de tal privilegio; para confirmar o desechar tal suposición (en colaboración con nuestro colega Don Elías Vicente) hicimos la experiencia y un lote de café fue dividido en dos partes: una que se desecó a temperatura ambiente y se guardó así y otra parte que fue calentada a más de 60°C y guardada también por un año. Al cabo de este tiempo era imposible no reconocer la mejor calidad del café desecado a temperatura ambiente, debiendo advertir que cuando frescas, ambas muestras no presentaban tales diferencias y que al cabo de un año se deben al mejoramiento activo del café vivo.

Envejecimiento artificial: manteniéndonos siempre en la misma concepción de que el mejoramiento por la edad se debe a la actividad del germen vivo del grano, quisimos ver qué efecto producía en el sabor del café, una superactividad vital provocada por un comienzo de germinación y al efecto, instituímos varias experiencias:

Hicimos germinar el café recién despulpado sobre telas humedecidas o también dentro de la tierra y al cabo de 3 a 4 semanas lo lavamos y desecamos. Este café, una vez limpio recuerda por su olor el café viejo y las infusiones que con él se obtienen son preferidas por muchas personas, entre las cuales se cuenta el autor. El perito Señor Gilberto Saborío ha estimado sin embargo, que tal calidad de café obtendría menores precios, por su falta de acidez. Hemos también ensilado café maduro en fruta en capas que alternan con otras de tierra seca de igual espesor que las frutas, al cabo de tres semanas las desembarazamos de la tierra y de la pulpa, desagregada ya, las lavamos, desecamos, despergamínamos y obtenemos también, un café artificialmente envejecido por iniciación de germinación.

Diastasis de germinación y calidades inferiores: tomamos café en pergamino de las zonas atlánticas bajas cuya calidad es la menos apreciada del país y lo dividimos en tres lotes:

a) Va remojándose con agua proveniente de una maceración de café germinado, de altura que fue desecado y luego molido crudo. Al momento de usarse, se pone 12 horas antes de

macerar en agua, a razón de 1%. Con este líquido de maceración va remojándose el café en pergamino de bajura, hasta que no absorba más líquido. Se deja húmedo por tres días y luego se vuelve a secar.

b) Recibe el mismo tratamiento que el lote a pero el líquido de maceración proviene de cortezas de café de altura que fueron cuidadosamente desecadas y guardadas desde el año anterior tal y como se hizo con el café germinado.

c) El tercer lote no recibe ningún tratamiento y queda como testigo.

Las diversas pruebas efectuadas al cabo de un mes mostraron un realce enorme de las calidades de café tratado con maceración de granos germinados. El café tratado con la maceración de cortezas fue también mejorado, pero en grado menor.

Tenemos pues, a mano, dos medios de mejoramiento, a bajo costo, de calidades de café de escaso valor comercial. Este mejoramiento tiene por base el aporte de diastasas y productos metabólicos de germinación de un buen café en el primer caso. En el segundo caso es la corteza la que suministra diastasas y productos de sustitución. Tanto en uno como en otro caso, tales diastasas introducidas en los granos de mala calidad, actúan modificándolos, tal y como si hubieran sido ellos mismos puestos a germinar, pero sin perder ni acidez ni elemento valioso alguno, sino por el contrario, teniendo un aporte de sustancias de mejor calidad que la suya propia.

Puede también mejorarse el café despergaminado, pero en este caso quedan los granos manchados y sólo podrían utilizarlos los tostadores. En cambio, cuando el café está en pergamino sin destrozarse, con el remojo, las manchas no afectan sino al pergamino mismo y una vez éste separado, nada indica el tratamiento artificial de mejora a que el café fue sometido y todo en cambio acusa en él calidad superior a su origen. En cualquier caso en que la mejora de calidad implique la obtención de un precio que sobrepase el costo, el sistema puede ponerse en práctica.

NOTAS

1. Amaral, A. P. (1925). **Cultura pratica e racional do cafeeiro**. Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo.
2. Beckley, V. A. (1930). Department of Agriculture, Kenya-Nairobi. **Bul. 8**.
3. Onslow, M. W. (1929). **Practical Plant Biochemistry**. Cambridge University Press.
4. Perrier, A. (1931). *Recherches sur le rôle de la pectinase dans la fermentation du café*. **Compt. Rend. Acad. Sci. Paris**. Septembre.
5. Perrier, A. (1932). *Recherches sur la fermentation du café*. **Compt. Rend. Acad. Sci. Paris**. Février.
6. Picado, C. (1926). *Fermentation du café à l' aide de levures pures*. **Compt. Rend. Soc. Biol.** 95 : 543.
7. Picado, C. (1927). *Método científico de beneficiar café*. **Repertorio Americano**. Octubre 286.
8. Rose, L. (1931). **Informe preliminar sobre el estado de los trabajos acerca de la fermentación del café**. Imprenta Nacional. Costa Rica.

INMUNIDAD HETEROLOGA DE LOS ANIMALES INMUNIZADOS CONTRA EL VENENO BOTROPICO

En una nota anterior¹ mostramos que el suero antibotrópico de Butantan neutraliza algunas dosis mínimas mortales de toxinas diftérica, tetánica y disenterica. Posteriormente Ramón² quiso explicar la presencia de antitoxina diftérica como normal en el suero de caballo; éste, por infecciones específicas inaparentes, causadas por el bacilo diftérico, llega a producir la antitoxina diftérica; la presencia de antitoxina tetánica se explicaría por el hecho de que los caballos habían sido previamente vacunados contra el tétano; en cuanto a la presencia de antitoxina disenterica, se omite la explicación. Ya que nosotros habíamos establecido muestras testigo con el suero anticrotático de igual procedencia y no pudimos descubrir en ellas la presencia de antitoxinas heterólogas, nos parecía que la aparición de estos anticuerpos tenía que ser también consecutivo a la calidad de veneno empleado como antígeno y no sencillamente a la constitución del suero normal de caballo.

Buscando aclarar estos hechos y para eliminar el suero de procedencia equina, comencé desde hace muchos meses la inmunización de algunos conejos y cobayos con ayuda de una mezcla en partes iguales de veneno de *Bothrops atrox*, *B. nummifera*, *B. schlegelli* y *B. nasuta*. Cuando los sueros de los conejos contenían una cantidad de anticuerpos cercana a aquella de los sueros de Butantan, era el momento en que inoculábamos algunos cobayos nuevos con 1 ó 2 centímetros cúbicos de suero antibotrópico de conejo y una hora más tarde con la toxina diftérica o tetánica y así constatamos que ese suero no posee ningún poder inmunizante contra la toxina diftérica, aún en la mezcla *in vitro* y después de permanecer una hora a 37°.

Para la toxina antitetánica, los resultados fueron inconstantes (no poseía más que una toxina vieja y debilitada) pero se observa siempre una atenuación de los síntomas en los cobayos que recibieron la mezcla de toxina y de suero de conejo antibotrópico.

Los cobayos inmunizados activamente contra el veneno botrópico se comportaron de manera diferente: aquellos que recibieron la toxina diftérica (2 dosis mortales) resisten pero con la formación de una escara seca; a menudo mueren algunas semanas después. Los que sirven de testigo, mueren en 2 ó 3 días. Aquellos que reciben la toxina tetánica se comportan como los testigos y las encurvaciones espinales, producidas por las dosis submortales, son más notorias que aquellas presentadas por los cobayos que habían recibido el suero de conejo antibotrópico.

Un solo conejo inmune que me quedaba en esta época, recibió por vía intravenosa 1 centímetro cúbico de toxina diftérica a 1/50 (8 dosis mortales para el cobayo); estaba muerto en 36 horas, como el testigo.

CONCLUSIONES

1. Los cobayos inmunes contra el veneno botrópico pueden soportar una dosis mortal de toxina diftérica.
2. El conejo inmune contra el veneno botrópico no presenta ninguna inmunidad contra la toxina diftérica.
3. Hay que observar que en la inmunidad heterogénea provocada por la inyección de antígenos de Forssman, el cobayo y el conejo se comportan inversamente: es el conejo el que presenta una inmunidad heteróloga y no el cobayo.

(Laboratorio del Hospital San José de Costa Rica)

NOTAS

1. C. Picado. *C. R. de la Soc. de Biol.* 1930, t. 110, p. 467.
2. G. Ramón. *C. R. de la Soc. de Biol.* 1933, t. 112, p. 139.

Picado Twight, Clodomiro. *Resumen sobre 20 años de investigación en el Laboratorio del Hospital de San Juan de Dios. Memorias Congreso Médico Centroamericano*, 2. San José (Costa Rica) 11-15 octubre, 1934. Imprenta Nacional, 1935.

RESUMEN SOBRE 20 AÑOS DE INVESTIGACION EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL DE SAN JUAN DE DIOS

Allá por los años de 1912 y 1913, en los muros del Instituto Pasteur de Garches podía leerse una leyenda que decía:

"Sed breves, vuestro tiempo es tan precioso como el nuestro".

Ráfagas impías de la gran guerra arrancaron de los muros el severo cartel y ahora son pocos quizás quienes recuerden la sentencia de dura disciplina. Hoy en beneficio de este auditorio quiero hacer honor a la recomendación que allá leí. El programa dice: resumen de trabajos de veinte años, es decir, cuatro lustros; ahora bien, no gastaré ni un minuto por lustro y con esta advertencia espero "que la Paz sea con nosotros". Quiero únicamente hacer resaltar algunas ocasiones en que la investigación biológica de hechos al parecer teóricos, me condujo a los campos que interesan particularmente al médico.

Cuando estudiaba la biología de las bromeliáceas epífitas, esas plantas de la familia de las piñas, pero que viven sobre las ramas de los árboles, encontré que el conjunto de tales plantas forma un pantano aéreo fraccionado, extendido sobre toda la América intertropical que está poblado por habitantes acuáticos de todos los grupos animales y como es de suponerse principalmente por larvas de "zancudos"; fuera de numerosos *Culex*, algunos *Anopheles* y otros géneros, encontré también allí representantes del género *Aedes*. Ahora bien, en estos últimos años se ha encontrado que tales zancudos son también aptos a la transmisión de la fiebre amarilla. El interés biológico de mi pantano aéreo, revive, se torna en utilidad práctica que interesa directamente al médico parasitólogo, como al médico epidemió-

logo, pues, así se explica cómo redondeando un ciclo evolutivo entre los monos silvícolas y los *Aedes* bromelícolas se conserva el virus amarílico en zonas donde no hay ni hombre, ni pantanos, ni el *Aedes aegypti*.

En colaboración con el doctor Ernesto Nauck, el primer Director del Servicio de Patología de este hospital, estudiamos el mecanismo de la muerte de los peces por el bárbaro método indio de "amarrar" los ríos y de "envenenar" sus aguas por medio de plantas laticíferas machacadas. Encontramos que no había ni envenenamiento ni una intoxicación en sentido estricto, como en el caso de heridas causadas por algunas flechas envenenadas, sino que el mecanismo de la muerte se llevaba a cabo volviendo el agua inadecuada para la respiración y que, aunque el medio fuese acuático, el sistema descansa en las mismas bases que el de los gases de guerra. Hasta aquí, la investigación sin aplicación alguna, pero en seguida la hicimos extensiva al tratamiento de los parásitos intestinales por algunas leches de higuera por ejemplo, y encontramos que el poder vermífugo de tales leches descansa sobre el mismo sistema que las pescas con plantas laticíferas machacadas y que el estudio de la muerte de los peces puede conducir a establecer las reglas de un tratamiento de los parásitos intestinales.

En una ocasión quise estudiar la polineuritis de las palomas alimentadas con arroz pulido a exclusión de todo otro alimento. Conservadas por cerca de ocho meses nunca se presentaron las parálisis avitaminicas. Durante muchos meses tal fenómeno se constituyó en tormentosa pesadilla para mí, pues no encontraba explicación lógica alguna, hasta que un día, estudiando unas manchas de las paredes del Laboratorio, vi que eran producidas por los hongos que aquí en San José nada perdonan; pensé entonces que mi arroz pulido llevaba hongos vitaminíferos, y, en efecto, la siembra de granos de arroz, así como de las deyecciones de las palomas me mostró que al dar lo que yo creía arroz puro, suministraba gérmenes de hongos y de levaduras capaces de suplir a las palomas, las vitaminas necesarias. Casi podemos decir que nunca comemos nosotros arroz puro, sino arroz con hongos...

El estudio del aumento del azúcar de las cañas de azúcar, rábanos y repollos mediante la adición de dosis infinitesimales de ioduro de potasio (investigaciones que llevamos a cabo con la colaboración de nuestros amigos, el Licdo. don José M^a Arias y Prof. don Elías Vicente), nos condujo a estudiar la influencia de pequeñas cantidades de ioduro en la glicemia del hombre. En colaboración con el doctor Oscar Martínez encontramos que esta influencia existe en el sentido hipoglicemiente siempre que una recrudescencia de una pancreatitis sifilítica no se produzca, pues, entonces podemos asistir a una reacción tipo Heisheimer.

La concepción de que el iodo actúa como un cofermento del metabolismo de los azúcares se comenzó en las plantas y luego la concepción se hizo extensiva al hombre.

Un estudio de Zoogeografía herpetológica me puso en evidencia que por una excepción nuestra ofidofauna correspondía a la del Brasil en gran parte y que por tanto los sueros de esa región debían ser eficaces para tratar las mordeduras producidas por nuestras especies. El estudio experimental nos mostró lo bien fundado de la creencia y una gran cantidad de vidas salvadas en este país ha sido el derivado de un estudio de zoogeografía—baste recordar que llevamos ya ocho años de tratamiento de mordidos por serpientes en el Hospital de San Juan de Dios sin una sola defunción.

Como particular deferencia hacia nosotros el doctor Afranio do Amaral, actual Director del Instituto de Butantán, y que una vez nos honró con su visita se ha encargado de preparar en ese mismo Instituto, sueros especiales para Costa Rica, mediante venenos de nuestras especies que periódicamente le enviamos.

Me he permitido citar ejemplos propios; no pido disculpas por ello, pues adrede me he abstenido de hacer comparación alguna: en el folleto que se reparte, habrá datos sobre otras investigaciones y ello nos permite haber dado esta rápida ojeada cuyo objeto principal ha sido el de hacer resaltar, cómo, aún en nuestros pobres medios, la investigación científica desinteresada, conduce a mejorar la condición del hombre y que el estudio de la más mínima palpitación de vida en la Naturaleza, bien merece la ofrenda de un poco de la nuestra.

Quiero terminar agradeciendo intensamente a la Facultad de Medicina de Costa Rica el haberme convidado a participar en estas jornadas, principalmente al doctor don Antonio Peña Chavarría, que como todos aquí sabemos, ha sido el promotor de este Congreso, y a cuyo dinamismo debemos el haber sido honrados hoy, con la visita de los ilustres delegados de los países hermanos cuyo acercamiento deseamos y cuya colaboración necesitamos en nombre de un interés general.

Los días del claustro, los conocimientos esotéricos y las disciplinas herméticas son el ayer. La Patología y Biología comparadas acaban de nacer y de ellas es el porvenir.

Al terminar el doctor Picado su discurso, repartió un folleto (**Titres et Travaux Scientifiques**. (1910-1933).—París.—Librairie Le François.—91 Boulevard Saint—Germain, 91) preparado por el autor, especialmente para ser distribuido en este Congreso, como contribución suya.

Contiene un resumen en francés de las materias siguientes: Zoología, Fisiología Vegetal y Agrícola, Bacterias y Hongos patógenos, Fitopatología, Nuevas Técnicas de Laboratorio, Veneno de Serpientes, Inmunología, Terapéutica y Biología General concerniente a 73 publicaciones del autor sobre investigaciones que ha llevado a cabo sobre tales materias, de 1910 a 1933.

ARBOLES ACOSTADOS

C. Picado T.
Elías Vicente

Las experiencias inéditas que vamos a relatar datan ya de 10 años, tiempo que nos parece suficiente para considerar como concluyentes.

El objetivo principal de esas experiencias es poner a la disposición de los fruticultores un método que permite realizar, sin poda, las ventajas de ésta para los árboles frutales y, además, tener los frutos al alcance de la mano y hacerlos emerger en la proximidad de las ramas viejas y vigorosas. Estas condiciones, así como la de modelar el aspecto y forma de los árboles frutales, son fácilmente realizables en los países cuyas estaciones están bien marcadas; pero irrealizables en las zonas intertropicales, en las que una actividad vegetativa casi constante produce en los árboles una marcada tendencia a un gigantismo salvaje, caracterizado principalmente por un desmesurado crecimiento en altura.

Hechas estas consideraciones, procedamos al estudio del efecto que tendrá sobre la vida de los árboles frutales ya crecidos, tenerlos acostados con el tronco horizontal, a flor de tierra, con previa supresión de la mitad de las ramas del lado hacia el cual se hace caer el árbol y la mitad de las raíces del lado opuesto (Figura N° 1).

Sirvieron de experiencia las siguientes plantas: naranjo, aguacate, cafeto, níspero y mango, cuya edad se aproximaba a los 10 años. Los resultados fueron:

NARANJO (*Citrus aurantium*).—El árbol continuó viviendo, sin embargo, declinando progresivamente hasta morir al final de dos años.

ESQUEMA

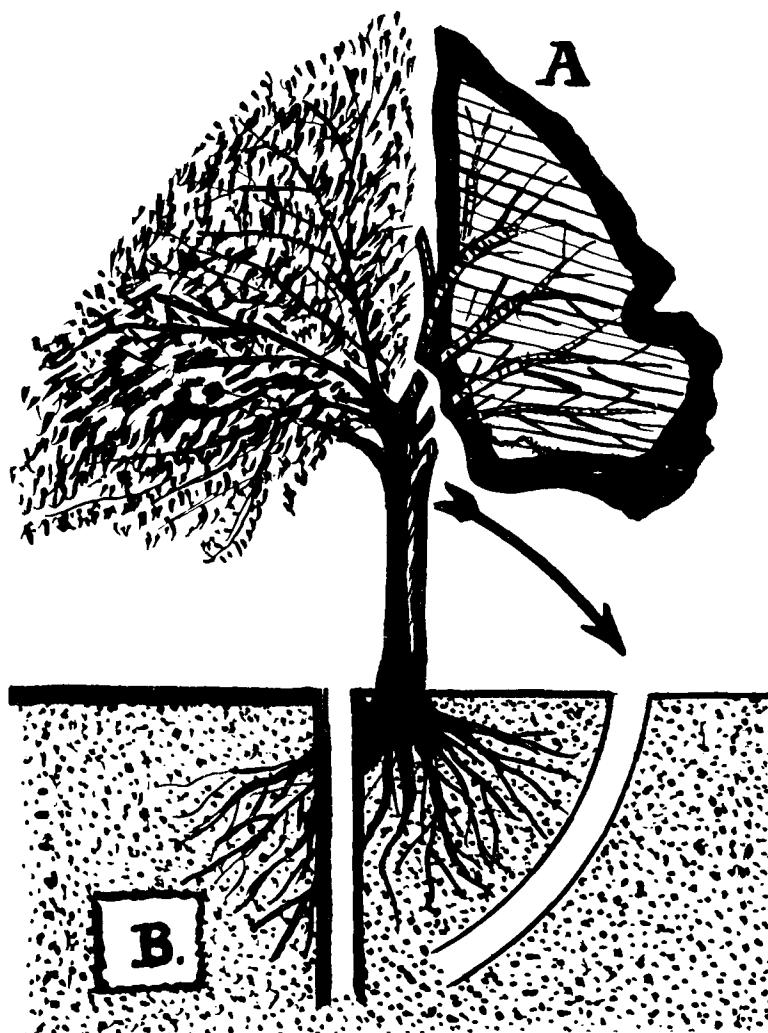


FIGURA Nº 1.—ESQUEMA A= Ramas suprimidas
B= Raíces cortadas

AGUACATE (*Persea gratissima*).—Al cabo de 10 años sobrevive, sin embargo, su tronco ya está carcomido y el estado general es muy precario; vale la pena hacer otras tentativas con esta especie.

CAFETO (*Coffea arabica*).—Las plantas acostadas siguieron vi-
viendo, dando ramas secundarias, mucho follaje y abundante fructificación, mientras que el vértice de la planta se levanta verticalmente y seguía creciendo como una planta nueva que nada tuviese que ver con el tronco horizontal. La planta toma la forma de una L.

Si en vez de permitir el crecimiento espontáneo de las ramas, dejásemos solamente los hijos verticales, a algunos centímetros unos de otros, cada uno de éstos comenzaría por sí mismo a tomar el aspecto de una planta independiente; más aún, sin dejar de fructificar algún año, a pesar de su pequeño tamaño.

Estas plantitas tienen raíces en su extremidad inferior, pero permanecen unidas al tronco común que continúa viviendo; forman una colonia vegetal en la que hay, al mismo tiempo, vida común, gracias al tronco primario y, también, vida individual por follajes y raíces individuales; cada plantita de estas es comparable a los segmentos de una *Tenia*, que actúan al mismo tiempo en vida colectiva e individual.

Si cortásemos el tronco común, cada una de las plantas continuaría su vida individual, sin resentirse aparentemente de la segmentación, hasta que ésta se acabe durante la fructificación. Se nota apenas una ligera tendencia a una maduración precoz de los frutos.

Encontramos inútil suponer que las experiencias de los cafetos tengan en la mira únicamente el estudio biológico del fenómeno, sin pensar, en modo alguno, que sea recomendable tal método de cultivo.

NISPERO (*Eriobotrya japonica*).—Estos pequeños árboles al ser acostados no se resienten absolutamente y continúan creciendo en su forma de abanico y tomando un aspecto que mejora día a día.

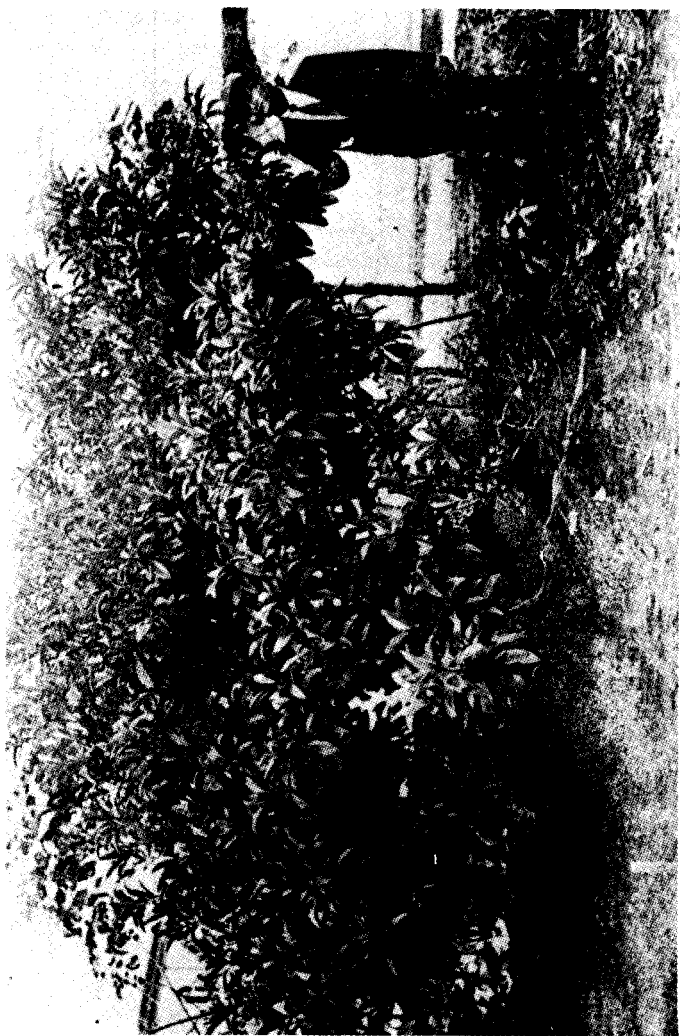


FIGURA Nº 2.-Nispero del Japón con 10 años de "acostado" en florecencia. (Foto de los autores).

La Figura N° 2 muestra uno de estos árboles que pasó 10 años acostado y cuyas dimensiones son: largo 5 m, ancho 4 m y alto 3,5 m.

De la antigua base, a las primeras ramas, hay 2 m de tronco en plena vitalidad, y que ha dado raíces gruesas y fuertes hasta la inmediata vecindad de las primeras ramas (Figura N° 4). Una de ellas, de 2,5 cm de diámetro, sale del tronco a 10 cm de la base de la primera rama.

MANGO (*Mangifera indica*).—La Figura N° 3 muestra un árbol de mango que pasó también 10 años acostado y que continúa dando, desde el principio, su cosecha anual de frutos como si se tratase de un árbol vegetando normalmente.

El ejemplar, fotografiado en plena producción, mide 5 m de largo; 4,5 m de ancho y 3,25 m de alto. La distancia entre las primeras ramas a la base antigua es de 2,25 m. El tronco, como en el caso del níspero, está en plena vegetación, pero, al contrario de este último, las raíces no emergen de la proximidad inmediata a las primeras ramas; solamente a un metro de ellas se encuentran las primeras raíces delicadas y a 1,5 m de su base la primera raíz gruesa con sus 8 cm de diámetro.

En el caso del mango, el sistema parece excelente, los frutos crecen a flor de tierra, siendo necesario agacharse para recogerlos (Figura N° 5). La fructificación fue abundante; en este último año, sin ser de los mejores, la cosecha llegó a 500 mangos.

Para estas plantas todavía se discute hoy si la polinización se efectúa por insectos o por el viento. La polinización cruzada ha sido ensayada con el objeto de aumentar la producción; pero, aunque tal aumento se obtenga, la dificultad de ese trabajo no ha permitido ponerlo en práctica. Por otro lado, la hibridación ha sido intentada, en Hawai, principalmente¹.

De esta manera, con el sistema de "árboles acostados", teniendo siempre las flores al alcance de la mano, toda suerte de observaciones y experiencias de polinización, hibridación u otras, pueden fácilmente ser hechas.

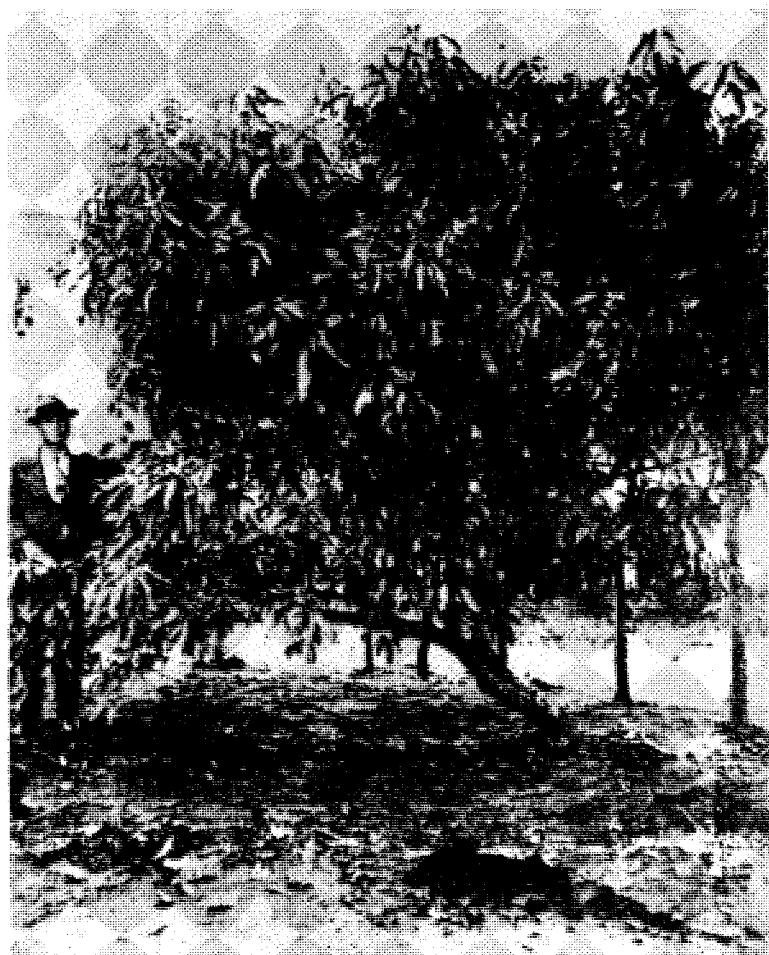


FIGURA Nº 3.—Mango de la India, con 10 años de "acostado" en fructificación. (Foto de los autores).



FIGURA Nº 4.—Raíces del níspero emergiendo en la vecindad de las ramas. (Foto de los autores).



FIGURA N° 5.—Cosecha de frutos en árbol de mango "acostado". (Foto de los autores).

Para terminar, recordemos que en los primeros años es preciso cortar los brotes que tienden a nacer cerca de las antiguas raíces.

Trabajo del Liceo de Costa Rica -1925-1935

NOTA

1. Blanco Mendiola, Nemesio. **A manual of Plant Breeding for the Tropics**. Manila, 1926.

Picado Twilight, Clodomiro. *Sensibilizatrices "anti-glandes endocrines" de sérum humain à diverses âges*. Note de C. Picado T., présentée par M. Weinberg. **Extrait des Comptes rendus des séances de la Société de Biologie**. (Séance du 11 janvier, 1936, t. 121, 1936, p. 121).

SENSIBILIZATRICES "ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS" DE SUERO HUMANO A DIVERSAS EDADES

Nuestros estudios sobre la posible inmunización activa contra la senectud precoz, nos llevaron a considerar que la vida del hombre está constituida por algunas series sucesivas de ciclos hormonales, en los que la cima de la curva normal de actividad se sitúa para cada ciclo a una edad diferente. Es así que la cumbre del ciclo tímico se alcanza a los 15 años, la del ciclo genital a los 25, la del tiróideo a los 35 y la del hipofisario alrededor de los 40 años.

Si se considera:

- 1° Que en los animales jóvenes, lo mismo que en los niños, hay sensibilizatrices anti-embionarias (Nattan-Larrier);
- 2° Que las hormonas inyectadas a los animales pueden producir anti-hormonas (Collip);
- 3° Que los órganos en cinesis muy activa pueden producir fermentos de defensa (Abderhalden);
- 4° Que los órganos endocrinos de los cuales dependen el crecimiento y las diversas actividades harmosónicas, presentan como caracteres de envejecimiento modificaciones de los coloides producidos por floculación (Marinesco-Lumière), sustitución de las células "nobles" por tejidos conjuntivos (Metchnikoff-Weinberg-Salimbeni).

Esto nos lleva a considerar las probabilidades de intervención de fenómenos de inmunidad en las causas de envejeci-

miento de las glándulas endocrinas tales como las sensibilizantes, las precipitinas, etc., producidas por antígenos de origen endógeno que aparecen como resultado de las actividades más o menos temporales de estas glándulas.

Si la secreción endocrina toma la supremacía sobre el anti-cuerpo, engendrado en el "soma" por ella misma, es debido a que los estímulos hipofisarios regulan esta incresión que se fuerza cada vez más de un día a otro. Pero las floculinas nacidas en el suero, conducen o ayudan al menos a la floculación electiva o colectiva del citoplasma de las células "nobles" de esas glándulas. Es decir, que el envejecimiento por floculación coloidal natural estaría íntimamente ligado a fenómenos periódicos de auto-inmunización del tejido. Para saber si se podían encontrar bases experimentales para tal concepto, busqué en el suero humano tales sensibilizantes, además de las precipitinas comunes en todos los órganos. La cantidad de nuestros experimentos es muy reducida todavía para dar los datos generales del problema y yo habría esperado más tiempo antes de publicarlos, pero vemos que Richard ⁽¹⁾ acaba de mostrar que la adición de extractos de glándulas endocrinas al suero del enfermo, modifica después de una incubación a 37°, la velocidad de la hemólisis con respecto a los glóbulos de oveja y que sus modificaciones van en relación con las perturbaciones de las glándulas correspondientes. Es por ésto que voy a exponer los resultados obtenidos empleando como antígeno, extractos de comprimidos Choay al 2% o extractos de órganos frescos de conejo a diversas dosificaciones. La técnica seguida es aquella de Hecht-Weinberg, empleando para la reacción la mitad de los glóbulos de conejo lisados. Los sueros que dan reacciones positivas con el antígeno sifilítico son desechados. Los sueros negativos a Hecht-Weinberg se probaron enseguida por el extracto tímico y por el extracto orquíptico, el número de sueros examinados asciende ya a más de un centenar. Podemos resumir los resultados obtenidos de la siguiente manera:

- **Extracto tímico:** niños menores de 12 años, 41% positivos, jóvenes de menos de 25 años, 41%; adultos de menos de 60 años, 38% y personas mayores de 60 a 80 años, 18%. No hay diferencia con el sexo.

- **Extracto orquíptico:** niños menores de 12 años, 18% positivos, sin diferencia para el sexo; es una reacción de grupo ya que todos dan positiva la reacción también con el extracto tímico; ningún niño dio una reacción exclusivamente positiva para el extracto orquíptico. Los jóvenes de menos de 25 años dan un 37% de reacciones positivas. Los adultos de menos de 60 años, 17% y las personas de 60 a 80 años, 14%. Hay que destacar que las reacciones positivas de los jóvenes así como de los adultos corresponden, en alrededor de un 90% a hombres y que varios de ellos, así como en personas de edad avanzada que dan positiva la reacción, son orquípticos prostáticos, gonorreicos o que presentan quistes ováricos.

Conclusión

Existen sensibilizatrices anti-tímicas en el suero humano que persisten aún después de atrofiarse el órgano. Hay también sensibilizatrices anti-orquípticas que parecen más electivas para la edad adulta y el sexo masculino.

(Laboratorio del hospital de San José, Costa Rica)

(1) **Comptes Rendus de la Soc. de Biol.** 1935, T. 120, pp 444 y 446.

Picado Twight, Clodomiro. *Iso-sensibilizatrices "anti-timus" et "anti-testicule" du sérum de lapin et de cobaye*. Nota de C. Picado, presentada por M. Weinberg. *Extrait des Comptes des séances de la Société de Biologie*. (Séance du 11 janvier 1936. T. 121, 1936, p. 123).

ISO-SENSIBILIZATRICES "ANTI-TIMO" Y "ANTI-TESTICULO" DEL SUERO DE CONEJO Y DE COBAYO

Experimentos preliminares nos mostraron que las iso-sensibilizatrices son difícilmente puestas en evidencia y que el calentamiento a 56° las hace desaparecer. Utilizamos por lo tanto, sueros no calentados. Para el suero de conejo, se emplean glóbulos de oveja, sensibilizados a la mitad de su número. Se procede enseguida a la verificación del índice hemolítico y ahí donde la hemólisis es nula, se agrega 0,1 centímetro cúbico de alexina de cobayo diluída al 1/10°. Para la reacción se coloca en cada tubo 0,1 centímetro cúbico de suero de conejo, con 0,1 centímetro cúbico de alexina de cobayo, cuando el suero de conejo se encuentra desprovisto de éste, y 0,3 centímetro cúbico de emulsión de antígeno. Este está constituido por el órgano fresco triturado con arena de cuarzo, emulsionado al 3% en agua fisiológica. También se preparó: timo de conejos de 7 días de edad, testículos de estos mismos animales y por otro lado, timo y testículos de conejo adulto. Después de una incubación de 1 hora a 37°, se agrega a cada tubo que contiene el antígeno, así como a los tubos de muestra, la mitad de los glóbulos indicados por el índice hemolítico. Se hace una primera lectura al cabo de 30 minutos y si hay sueros para los que el testigo no da la hemólisis completa, se agrega a cada tubo de la serie, 0,1 centímetro cúbico de suero hemolítico de conejo anti-oveja, diluído a la mitad de su número y se hace una segunda lectura al cabo de un nuevo reposo de 30 minutos a 37°. De esta forma se llega a provocar la hemólisis en todos los tubos en donde la alexina no ha sido fijada.

Los sueros de conejo que examinamos proceden de: machos y hembras prepúberes, machos adultos, hembras, grávidas o no, así como dos conejos mayores de 7 años y que son los últimos sobrevivientes de un experimento de inmunización contra la vejez.

Los resultados obtenidos por este experimento nos muestran:

- 1- Que el testículo de conejo recién nacido no fija la alexina;
- 2- Que el timo del conejo mayor la fija en alrededor de un 50% de los casos;
- 3- Que hay fijación en todos los sueros con el timo de conejo recién nacido;
- 4- Que la fijación más exacta se obtuvo con la emulsión de testículo de conejo adulto. Incluso para las hembras.

Se deduce que el comportamiento de las reacciones de fijación con los órganos de la misma especie en los conejos, es diferente de aquel que se obtiene por los hetero-antígenos, ya que esos mismos conejos no fijaron la alexina en presencia de los extractos de Choay más que en forma irregular, lo mismo que con los sueros humanos. Estos sueros humanos fijan por otra parte también electivamente, el timo de conejo joven y el testículo de adulto y no el testículo de conejo recién nacido o el timo de adulto.

Empleando como alexina un suero humano desprovisto de sensibilizatrices anti-tímicas y anti-orquíticas, se pueden revelar estas últimas en el suero de cobayos machos jóvenes o viejos. Las iso-sensibilizatrices están en débil proporción en los cobayos, y se acentúan con la edad, pero son sólo los órganos provenientes de animales jóvenes de 220 a 250 gramos los que fijan la alexina. A diferencia de lo que sucede para los conejos, los testículos de cobayos adultos no la fijan. (Estas diferencias no son más que aparentes ya que el desarrollo testicular puberal comienza en el cobayo algunas semanas después del nacimiento mientras que en el conejo se produce entre el tercer y cuarto mes).

La fijación en estos dos roedores es más frecuente y más fácilmente observable con los órganos homólogos. Para el coba-

yo, las iso-precipitinas anti-tímicas del suero de animal de 250 gramos se revelan inclusive a 1/15000, si se emplea una emulsión de timo al 1% de los mismos animales.

Conclusiones

- 1- En el conejo se pueden revelar en el suero, iso-sensibilizatrices termolábiles para el timo y el testículo, pero tales sustancias no parecen específicas sino de grupo para los órganos en proliferación celular activa.
- 2- En los cobayos, hay también iso-sensibilizatrices anti-tímicas y anti-orquíticas pero éstas no fijan la alexina más que en presencia de emulsiones de órganos de animales jóvenes; los órganos de cobayos viejos han perdido el poder "hapteno".

(Laboratorio del hospital de San José, Costa Rica)

SINERGIA DE LOS ANTICUERPOS POR "DESVIACION JERARQUICA"

I. HECHOS ANTERIORES

1. Facilidad de producción de anticuerpos en el transcurso de ciertas infecciones

Es sabido que los tuberculosos pueden dar sueros que aglutinan ciertas bacterias cuya infección aparente al menos no ha sido constatada en los enfermos. Es así como, Madgwick y Partner¹ mostraron que el suero de 73 tuberculosos durante tres meses que duraron las investigaciones, aglutinaban el bacilo de Eberth en tasas elevadas (34,2% de los sujetos examinados) aunque esos enfermos no hubieran sido jamás vacunados o no hubieran sido infectados por el bacilo tífico. Por el contrario, el examen de sueros de 100 sujetos afectados por enfermedades mentales, a quienes los autores tomaron como testigos, y que se encontraban en las mismas condiciones que los tuberculosos, no dieron más que resultados negativos o aglutinaciones débilmente positivas con tasas bastante bajas.

Sarnowiec² experimentando con cobayos, encontró que

"El filtrado de bacilo de Bang, cuyo poder aglutinógeno en los animales nuevos es muy débil (hasta 1/100) ejerce en los animales tuberculosos una acción antigénica más marcada (aglutinación hasta 1/300).

Por el contrario, la inyección previa de BCG o de bacilos tuberculosos muertos, no aumenta sensiblemente la tasa de aglutinación producida por la inyección del filtrado del bacilo de Bang".

Nasta y Weinberg³ señalaron para las hemolisinas, una tasa sensiblemente superior en los conejos vacunados por BCG en relación con los testigos. Para las aglutininas, se observó también una diferencia aunque menos pronunciada, en favor de los vacunados; en cuanto a las sensibilizatrices y las precipitinas, su producción fue igual en los vacunados y en los testigos.

Cruveilhier, Nicolau y Kopciowaska^{4,5} encuentran que los conejos que reciben al mismo tiempo que la vacuna antirrábica, una emulsión de cerebro rábico, dan una tasa de aglutininas superior a aquella dada por otros conejos que reciben de cerebro normal, aunque estos últimos dan un suero que es también más rico en aglutininas que aquel del lote de conejos que no reciben más que agua fisiológica. Otros conejos cuya tasa de aglutininas antirrábicas cayó bastante bajo, inoculados bajo la piel, veinte días seguidos con cerebro rábico muestran un aumento muy claro del poder aglutinante. Los autores consideran que este aumento de las aglutininas está ligado a la presencia del virus viviente ya que se pueden obtener los mismos resultados si se centrifuga la emulsión de cerebro rábico y se inyecta el líquido que sobrenada, privado de sustancia nerviosa.

"La vacunación anti-rábica administrada a los conejos antes, durante o después de la inyección de hemáties de oveja, aumenta de manera intensa la tasa de hemolisinas en el suero. Este aumento es mucho menos marcado en los animales testigo a los cuales se les inyecta emulsiones de "nevraxe" normal".

2. La sinergia de los anticuerpos

Weinberg y sus colaboradores^{6 a 10} establecieron que las aglutininas anti-vibrión séptico, anti-histolíticas, anti-esporógenas, anti-*coli*, etc., son reforzadas específicamente por la presencia de trazas de suero anti-tóxico del mismo nombre que los microbios respectivos y que, por otro lado, la floculación de las toxinas por el antisuero correspondiente es acentuada por la adición de una pequeña cantidad de esos microbios. Hay por lo tanto un sinergismo específico de aglutininas + floculinas.

Por otro lado los sueros pueden ser reforzados en su poder anti-infeccioso, por la mezcla con sueros de especie diferente:

es así que el suero anti-*perfringens* mezclado con suero anti-gangrenoso polivalente aumenta en su poder anti-infeccioso en relación con el *perfringens* en una cantidad que va mucho más allá de aquella que se dio por simple adición numérica. El poder anti-infeccioso para el vibrión séptico o para el *oedematiens* se encuentra por el contrario apenas aumentado o sensiblemente igual en la mezcla. La presencia de anticuerpos naturales anti-*perfringens* en el suero normal de caballos, explicaría, según los autores, estos hechos.

Para la preparación de sueros anti-gangrenosos, que gocen a la vez de buenas propiedades antitóxicas y antimicrobianas, hay que emplear antígenos mixtos que comprendan toxinas y elementos microbianos asociados. La mezcla de sueros obtenidos con uno u otro de los antígenos separadamente dan un título inferior: antimicrobiano y antitóxico.

Por otro lado, si se inmunizan conejos ya sea con una de las especies microbianas sola, o con una mezcla a partes iguales de *coli* + *perfringens* + vibrión séptico, de forma tal que en el caso de la mezcla, los animales no reciban más que un tercio de cada especie microbiana, mientras que aquellos inmunizados con cada microbio separadamente, reciben tres veces esta dosis, los animales que hayan recibido la mezcla de antígenos microbianos dan un suero cuya tasa de aglutinación para cada especie microbiana no es inferior a aquella obtenida por inmunización con un solo microbio. Hay por lo tanto **sinergia de los anticuerpos** y los autores se preguntan si este hecho no es más que una manifestación de sinergismo *in vitro* ya descrito por Weinberg y Barotte.

Rouslacroix y Boiron¹¹ inyectando bacilos de Eberth y bacilos paratíficos ya sea simultánea o alternativamente constataron:

1. Que uno de ellos está siempre menos aglutinado que los otros.
2. Que para los gérmenes restantes, la dosis total de antígeno microbiano necesario para obtener una cierta tasa de aglutinación es mucho menos elevada si el germen específico está asociado con otros microbios.

No se trata de una adición conjugada, *in vitro*, ya que esos mismos sueros después de la prueba de saturación de las aglutininas, muestran la misma tasa de aglutinación específica, por lo tanto, según los autores, hay un **sinergismo de los antígenos**. Para otros microbios: *B. coli*, bacilo pyocianico y *B. prodigiosus* se obtuvieron resultados comparables.

3. Las vacunaciones asociadas

Ramón y sus colaboradores,^{12,13} después de una serie de investigaciones ya clásicas sobre el refuerzo de la producción de antitoxinas por mezcla de sustancias inertes al antígeno, en el momento de su inoculación en el animal, mostraron, finalmente, que se puede asociar una vacuna microbiana a una anatoxina y que en este caso, los cuerpos microbianos contribuyen a la producción de una tasa más elevada de antitoxinas, siempre que la inyección de antígeno sea hecha por la mezcla y en el mismo lugar. Ellos establecieron así el ventajoso y beneficioso método de vacunación asociada. La inyección de antígenos hecha al mismo tiempo pero separadamente y en distintas partes del cuerpo no conduce a esta exaltación de la producción de antitoxinas.

II. NUEVAS INVESTIGACIONES

Parece entonces, bien establecido y suficientemente confirmado, que en el momento de una hiperinmunización con ayuda de diversos antígenos apropiados, hay un "sinergismo" antigénico al que corresponde un sinergismo de los anticuerpos observado tanto *in vitro* como *in vivo*.

Las investigaciones que conduje apuntan a determinar los cambios de producción de anticuerpos ante una débil inmunización en los animales seguidos individualmente, y cuando están inmunizados —ya sea por un solo antígeno, por la ayuda de un par antigénico— si luego son probados por la inyección de un nuevo antígeno más o menos emparentado con los antígenos primitivos. Busqué también estudiar *in vitro* algunas mezclas de sueros con incubación previa o sin ella.

1. Animal Inmunizado con un solo antígeno

A. AGLUTININAS

Un conejo recibe, por vía intravenosa, 3 centímetros cúbicos de una emulsión de bacilos tíficos muertos por calentamiento durante 1 hora a 59-60°. Una semana más tarde, el animal recibe 4 centímetros cúbicos de la misma vacuna. Quince días después de esta segunda inyección, su suero, diluido a 1/500, aglutina el bacilo tífico vivo; este porcentaje disminuye seguidamente y al cabo de un mes después de la última inyección ha descendido a 1/250 (para todos los casos, la lectura fue hecha después de centrifugación). En la misma fecha, este suero aglutina una cepa dada de colibacilos a 1/250. En este momento que inyectamos por vía intravenosa 1 centímetro cúbico de emulsión de la misma cepa de colibacilos muertos por calentamiento, esta emulsión corresponde a una concentración opasimétrica diez veces más fuerte que aquella de la vacuna T.A.B. del Instituto Pasteur. Un conejo testigo recibe una misma cantidad de vacuna colítica.

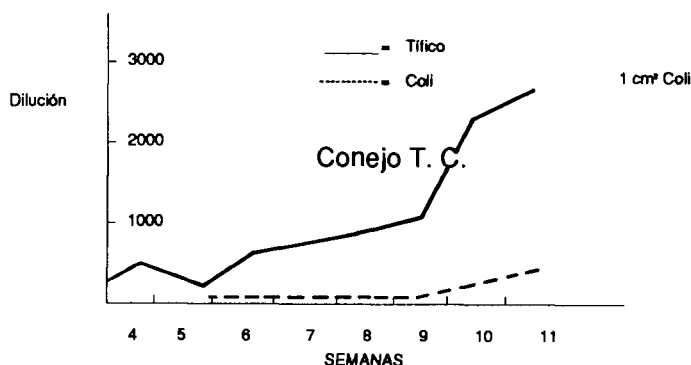


GRAFICO Nº 1.—Evolución de las aglutininas en el conejo T.C.

Cada semana se dosifican, en los dos conejos, las aglutininas antitíficas y anticoli, y se constata que el conejo T. C. habiendo recibido la inyección única de colibacilos después de una débil inmunización antitífica, se comporta como si esta

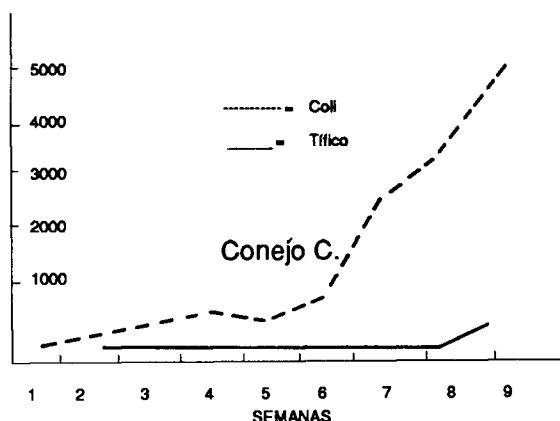


GRAFICO N° 2.—Evolución de las aglutininas en el conejo testigo (C).

última inyección hubiera sido de vacuna tífica ya que son solo las aglutininas anti-tíficas las que vemos subir en porcentajes que no habían sido alcanzados antes de la inyección de colibacilos, mientras que las aglutininas anticoli permanecen en sus porcentajes primitivos; todo transcurre como si en las primeras semanas que siguen a la inyección de *B. coli*, el conejo hubiera utilizado esos microbios no para elaborar aglutininas específicas anticoli, sino para reforzar el porcentaje de aglutininas antitíficas preexistentes en su cuerpo.

Hay por lo tanto un "sinergismo" *in vivo*, "desviado" en favor de las aglutininas antitíficas. Este sinergismo no es sino pasajero como lo veremos más adelante, pero en el conejo C que nos sirve de testigo se ve, por el contrario, que las aglutininas anticoli aumentan regularmente en el suero. Los gráficos N° 1 y N° 2 muestran la evolución de las aglutininas en estos dos conejos.

A. HEMOLISINAS

El conejo débilmente inmunizado por inyecciones repetidas de glóbulos humanos lavados, es conservado hasta el momento en que las hemolisinas comienzan a disminuir.

Si inyectamos en ese momento glóbulos de oveja o de buey, vemos, al cabo de una semana, que la tasa de hemolisinas naturales anti-hombre aumenta regularmente durante algún tiempo y, aunque haya aumento de hemolisinas naturales de anti-oveja y débil producción de hemolisinas anti-buey (en el caso de inyección de glóbulos de esta última especie) vemos que la supremacía corresponde al aumento de hemolisinas anti-hombre, que sobrepasan, a menudo, el porcentaje primitivamente alcanzado, cuando el animal no recibía más que glóbulos humanos. Si la inyección intraperitoneal, reactivante, se efectúa con glóbulos lavados de la misma especie, es decir glóbulos de conejo, hay siempre una cierta producción de hemolisinas; los resultados son los mismos, todavía más netos. Pareciera que el animal, incapaz de elaborar hemolisinas contra los glóbulos de la misma especie, utilizó esta vez, los glóbulos inyectados de su propia especie para aumentar el contenido de su suero en hemolisinas heterólogas "desviadas" electivamente en el sentido anti-hombre exclusivamente y sin que haya el mínimo aumento para las hemolisinas anti-buey que continúan disminuyendo progresivamente.

El Gráfico N° 3 (H. B) nos muestra la evolución de las hemolisinas en uno de estos conejos.

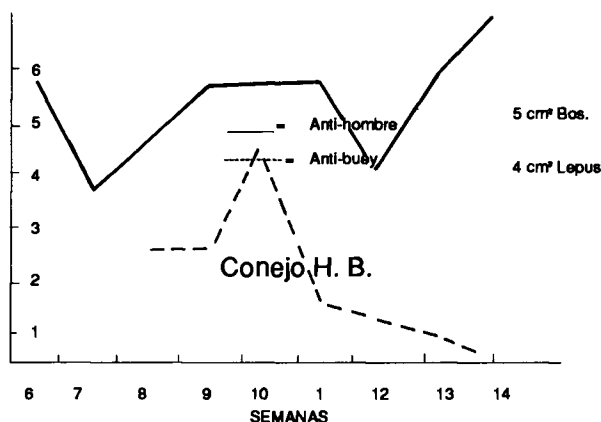


GRAFICO N° 3.—Evolución de las hemolisinas en un conejo.

2. Animal Inmunizado sucesivamente por dos antígenos

A. AGLUTININAS

El conejo T. C. que recibió después de una débil vacunación antitífica una inyección de colibacilos (Gráfico N° 1) es conservado hasta el momento en que el contenido en aglutininas antitíficas es sensiblemente igual al contenido de aglutininas anticoli, lo que llega a suceder dos meses después de la inyección de colibacilos. Se inyecta entonces a este conejo 1 centímetro cúbico de paratíficos B, calentados a 60° durante una hora y a una concentración opasimétrica igual a aquella que ha sido tomada para el colibacilo: es decir, TAB X 10. Presenciamos entonces una brusca separación de la curva de aglutininas: una semana después de la inyección de paratíficos, se dosifican las aglutininas, después de la saturación por paratífico y vemos que la aglutinación de bacilos tíficos se produce a la dilución de 1/5000, aquella de los colibacilos que durante la inyección había subido a 1/1200 desciende bruscamente a 1/600, mientras el paratífico B no está aglutinado más que débilmente en la dilución de 1/500.

La inyección de paratíficos B, en este caso, produce un efecto de hecho comparable a aquel de la inyección de glóbulos de la misma especie al conejo que recibió glóbulos de hombre y de buey. En efecto, esta inyección parece haber sido utilizada, no sólo para reforzar las aglutininas antitíficas, sino también para que esta "desviación" arrastre las aglutininas anticoli ya existentes en el suero del conejo TCB (Gráfico N° 4).

B. HEMOLISINAS

Los conejos inmunizados por glóbulos de hombre y después por glóbulos de oveja reciben, en el momento en que las hemolisinas comienzan a bajar, una nueva inyección intraperitoneal de glóbulos de buey; vemos entonces un aumento casi paralelo de hemolisinas anti-hombre así como de hemolisinas anti-oveja.

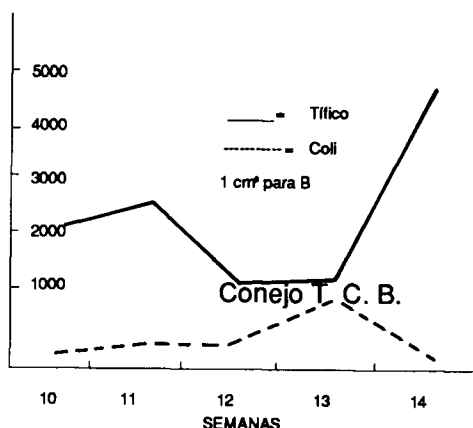


GRAFICO N° 4.—Evolución de las aglutininas en un conejo inmunizado sucesivamente por dos antígenos.

3) Animal Inmunizado simultáneamente por un par antigénico

Si consideramos los casos que hemos venido exponiendo, vemos que se puede admitir que la "desviación" es conducida hacia los anticuerpos contenidos en mayor cantidad en el animal, mientras que otros pueden interpretar esta "desviación" como empujada hacia los antígenos químicamente más próximos (gráficos N° 3 y 4).

En lo que concierne a la interpretación de la reactivación de las hemolisinas anti-hombre y anti-oveja en el momento de la inyección de glóbulos de buey, ésta se complica mucho por el hecho de que los glóbulos de buey pueden a la vez reactivar las hemolisinas anti-hombre contenidas en una cantidad mayor y también producir hemolisinas de grupo anti-rumiantes capaces de aumentar, por adición, las hemolisinas anti-oveja. Por otra parte, no hay que olvidar las probabilidades de producción de anticuerpos tipo Forsmann. Para tratar de aclarar estas diversas interpretaciones, inmunizamos conejos con ayuda de pares antigénicos y en el momento de la caída de los anticuerpos inyectamos un nuevo antígeno más emparentado ya sea con uno o con otro de los antígenos primitivos.

Hemolisin: los conejos reciben una mezcla en partes iguales de glóbulos lavados de hombre y de pato (1 centímetro cúbico, 2 centímetros cúbicos, 4,5 centímetros cúbicos, 4,5 centímetros cúbicos; las dos primeras inyecciones por vía intravenosa y la tercera y la cuarta por vía intraperitoneal). Los conejos que van a servir como testigo reciben el mismo tratamiento, pero con glóbulos de una u otra especie. Tres semanas después de la última inyección, se constata que la tasa de hemolisin comienza a disminuir. Se inyecta entonces por vía intravenosa 5 centímetros cúbicos de glóbulos lavados de buey a uno de los conejos anti-hombre + anti-pato y 5 centímetros cúbicos de glóbulos de gallo al otro conejo inmunizado de la misma manera; la dosis de hemolisin muestra que hay una reactivación por "desviación" electiva en el sentido del parentesco zoológico. Los glóbulos de buey vuelven a subir totalmente las hemolisin anti-hombre, y de manera muy débil las anti-pato, mientras que la inyección de glóbulos de gallo refuerza las hemolisin anti-pato permaneciendo indiferente en relación con las hemolisin anti-hombre.

En el caso de los conejos que recibieron únicamente los glóbulos de hombre o los glóbulos de pato, la inyección reactivante de glóbulos de mamíferos o de aves es utilizada indiferentemente para exaltar la tasa de hemolisin preexistentes sin presentar por lo tanto la "desviación" electiva de orden zoológico puesta en evidencia en el momento de la inmunización por el par de glóbulos mamífero + ave (gráficos 5, 6, 7, 8). En este caso la "desviación jerárquica" de los anticuerpos es conducida hacia el anticuerpo más emparentado. Pareciera que cuando hay dos caminos a escoger por así decirlo, el antígeno recientemente inyectado es homólogo e incorporado a su anticuerpo más próximo, pero si no hay posibilidad de selección, la reactivación se encamina hacia el anticuerpo único cualquiera que sea.

4. Sinergismo trivial *in vitro*

A. AGLUTININAS

Si se mezcla en partes iguales, el suero de conejo TC (Gráfico N° 1) que aglutina el bacilo tífico en dilución de 1/1250 y

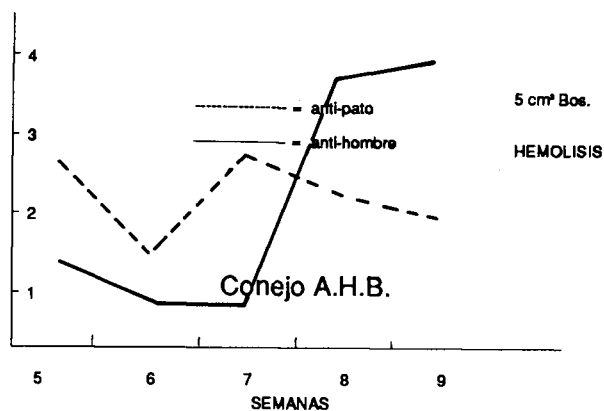


GRAFICO N° 5. Reactivación de las hemolisinas anti-hombre por glóbulos de buey.

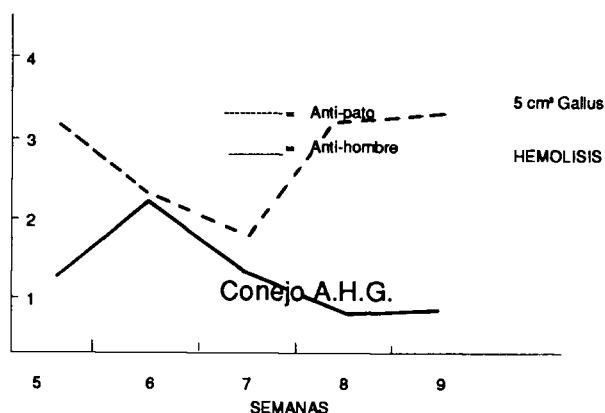


GRAFICO N° 6. Refuerzo de las hemolisinas anti-pato por inyección de glóbulos de gallo.

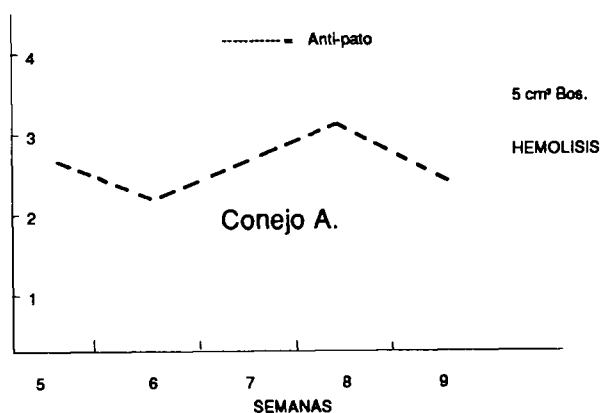


GRAFICO Nº 7. Exaltación de la tasa de anticuerpos en el conejo con hemolisinas anti-pato.

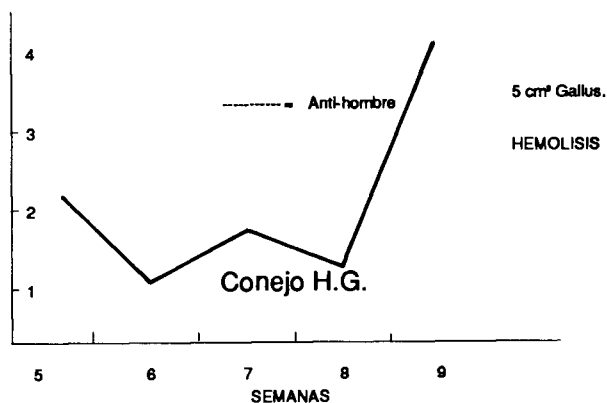


GRAFICO Nº 8. Exaltación de la tasa de anticuerpos por glóbulos de gallo en el conejo con hemolisinas anti-hombre.

el colibacilo a 1/250 con el suero de conejo C (Gráfico N° 2) que aglutina el tífico a 1/200 y el colibacilo a 1/1250 podemos suponer que la mezcla aglutinará el bacilo tífico a 1/725 y el colibacilo a 1/750; esto no es así. Las tasas de aglutinación son, para el tífico de 1/1250 y para el colibacilo de 1/833. Hay aquí un doble fenómeno sinérgico pero más acentuado para las aglutininas tíficas.

Con mezclas de suero del conejo C y sueros de otros conejos inmunizados por otras razas de bacilo de Eberth, constatamos siempre un sinergismo muy marcado a favor de las aglutininas tíficas.

Si se mezcla suero de conejo anti-coli con suero de enfermos de fiebre tifoidea, presenciarnos el mismo refuerzo de las aglutininas antitíficas, aún cuando se realicen las mezclas después de la saturación por los colibacilos. Este refuerzo no se produce si se emplea suero de conejo normal.

Para saber si el contacto de bacilos tíficos con un suero anticoli los hace más sensibles a las aglutininas específicas, hicimos el experimento con resultados negativos. Pareciera por lo tanto que el fenómeno se produce entre suero y suero, sin que los bacilos aglutinables tengan nada que ver en esta incorporación u homologación de las aglutininas heterólogas.

B. HEMOLISINAS

Es bien sabido que las mezclas de sueros hemolíticos no producen una hemólisis correspondiente al promedio matemático, sino que éste puede ser disminuido o aumentado; sin embargo, nosotros evaluamos las hemolisinas de una mezcla, en partes iguales, de suero de conejo anti-pato y de conejo anti-hombre. Las sangrías eran repetidas cada siete días y las hemolisinas estaban dosificadas en el suero fresco, así como en aquel inactivo, y en presencia de una misma dosis de alexina, pudimos constatar que siempre había un aumento de las hemolisinas en los sueros mezclados, pero que el sinergismo no siempre se producía en un determinado sentido, sino que, de una semana a la otra, la mezcla de sueros de los mismos conejos presentaba fluctuaciones inesperadas ya fuera en favor de las hemolisinas anti-hombre o anti-pato.

5. Sinergismo *in vitro* con incubación previa

A. ANTICOAGULINAS

Se mezcla en partes iguales por un lado, suero antibotrópico, del Instituto Butantan con suero anti-vipérico del Instituto Pasteur y por otro lado suero anti-botrópico con suero antiestreptocócico.

Un centímetro cúbico de cada mezcla recibe 0,05 centímetro cúbico de veneno de *Bothrops atrox* al 1/1000; se lleva a la estufa y después de una hora, se constata que 1 centímetro cúbico de sangre citratada se coagula en 10 minutos por 4 gotas ya sea de la mezcla *Botrops* + suero antivipérico, o por la mezcla de *Bothrops* + suero antiestreptocócico. Por el contrario, si se guardan los sueros mezclados en los tubos sellados en el horno a 35° durante una semana, se constata que en condiciones iguales, la mezcla *Bothrops* + suero antivipérico coagula al cabo de 30 minutos mientras que para la sangre citratada que había recibido las 4 gotas de la mezcla incubada *Bothrops* + suero antiestreptocócico, apenas al cabo de varias horas presenta un ligero copo de fibrina en el plasma que sobrenada a los glóbulos sedimentados.

La incubación de 8 días a 37° aumentó por lo tanto el poder anticoagulante del suero antibotrópico, ya sea por la mezcla con el suero antivipérico o por la mezcla con el suero antiestreptocócico, pero para esta última mezcla y contra todo lo esperado, el refuerzo sobrepasa en mucho a aquel obtenido por la mezcla con su pariente próximo, el suero antivipérico.

B. ANTIVENENOS

Si se mezcla un centímetro cúbico de neutralizante con 0,75 mg de veneno botrópico para paloma con su volumen, ya sea de suero antivipérico o suero antiestreptocócico, se constata que las mezclas recientemente preparadas poseen el mismo poder neutralizante que el cálculo hace preveer, o sea 0,375 mg por centímetro cúbico de mezcla. Pero si la mezcla de sueros es dejada en los tubos sellados durante 8 días al horno a 37°, se

CUADRO N° 1.—Propiedades antitóxicas de la mezcla: suero antidiftérico + suero normal de caballo. Con incubación previa o sin ella.

Cobayos de 300 g	Injectados con	Muerto en	Valor anti-toxina en M.M.
3	10 M. M. de toxina + 0,9 cm ³ de mezcla de los sueros a 1:2000 Incubado 7 días a 37°	Sobrevive sin escaras	2 cm ³ de la mezcla 44,444 M. M.
3	10 M. M. de toxina + 0,9 cm ³ de mezcla de los sueros 1:2000 Mezcla de sueros sin incubación previa	24 a 40 h	—
3	10 M. M. de toxina + 1 cm ³ de suero antidiftérico solo a 1:4000	40 a 64 h	—
3	10 M. M. de toxina + 1,1 cm ³ de suero antidiftérico solo a 1:4000	Sobrevive	1 cm ³ 36,353 M. M

M. M. = Mortal mínima.

comprueba que mientras la mezcla botrópica + antiviperida guarda el mismo poder antivenenoso, la mezcla botrópica + antiestreptococcica posee un poder antivenenoso que subió a 0,43 mg por centímetro cúbico, o sea un aumento alrededor del 12%. El reposo a 37° prolongado durante dos semanas, no aumenta el valor antitóxico alcanzado en la primera semana. Por otro lado si se preparan mezclas compuestas por 25% de suero botrópico + 75% de otros sueros: antiviperido, antiestreptococcico, antidisentérico o normal de caballo, observamos que en estas mezclas a 1/4, el suero antiestreptococcico refuerza

también el poder antivenenoso del suero antibotrópico, pero que la avidez en él disminuyó, la neutralización demanda por lo tanto una permanencia de dos horas a 37° mientras que en las mezclas a 1/2, ésta se produce en una hora.

C. ANTITOXINAS

Se mezcla en partes iguales, suero antidiftérico del Instituto Pasteur (Nº 17035 dosificando 300 unidades antitóxicas al centímetro cúbico) con suero normal de caballo (Lederle 60 H 2091); se reparten en tubos sellados que se dejan durante una semana a 37°. Al cabo de este tiempo se prepara con las mismas ampollas de suero una mezcla fresca y se procede a la verificación del poder antitóxico después de la incubación de dos horas a 37° en relación con la toxina del Instituto Pasteur, matando el cobayo de 300 gramos con 1/500 de centímetro cúbico (Cuadro Nº 1).

Ya que el suero normal de caballo utilizado neutraliza menos de dos unidades anti-tóxicas por centímetro cúbico, la mezcla en partes iguales de dos sueros, debería neutralizar como máximo 36,563 MM y no 44,444 como lo muestra el experimento. Se deduce que por mezcla con su volumen de suero normal de caballo, el porcentaje antitóxico de suero antidiftérico, aumentó en más de un 20%.

6. Inyección de Inmunosueros al animal nuevo

A. SUERO HOMOLOGO AGLUTINANDO UN SOLO MICROBIO

Un conejo nuevo recibe por vía intravenosa 5 cm³ de suero fresco de un conejo, muerto, inmunizado contra el bacilo tífico y cuya tasa de aglutinación es de 1:4000. Se sangra el conejo receptor 15 minutos, 2 horas, 18 horas y 42 horas después de la inyección; se separa el suero después de 24 horas de coagulación y calentado, cada vez una media hora a 56°. Después se dosifican las aglutininas de diversas muestras y se obtiene:

Suero de 15 minutos aglutinado a 1:400

Suero de 2 horas aglutinado a 1:200

Suero de 18 horas aglutinado a 1:200

Suero de 42 horas aglutinado a 1:1200

Es decir, que después de una exaltación pasajera, las aglutininas se comportan como si ellas estuvieran simplemente diluidas en la sangre del conejo receptor; después de una incubación de 42 horas éstas son reforzadas a expensas del animal receptor, para llegar a un porcentaje igual a 6 veces su contenido primitivo.

En este experimento, el conejo donador había recibido la última inyección de bacilos muertos una semana antes de ser sangrado para inyectar al nuevo conejo; ya que el período transcurrido entre la incubación y el último sangrado no fue sino de 42 horas, se podría objetar que el suero del donador transfería no sólo aglutininas del todo elaboradas sino también del antígeno en vías de transformación y que éste continuaba simplemente en la sangre del conejo receptor. Para responder a estas posibles objeciones, procedimos en los otros experimentos de manera de no emplear como donador más que animales que hubieran recibido la última inyección de vacuna tres semanas antes del sangrado.

B. SUERO HOMOLOGO AGLUTINANDO DOS MICROBIOS REMOTOS

Los conejos donadores recibieron en repetidas ocasiones una vacuna compuesta, en partes iguales, por colibacilos y por estreptococos muertos, siendo la última inyección hecha con un viejo cultivo calentado a 60°, completo en su caldo, de dos semanas de tiempo; su suero tres semanas después de la última inyección, aglutina tanto el colibacilo como el estreptococo a 1:6000.

Un conejo nuevo cuyo suero no aglutina en un porcentaje de 1:200 ni uno ni otro de estos microbios, recibe 10 centímetros cúbicos de inmunosuero por vía intravenosa.

Este conejo es sangrado sucesivamente al cabo de 1 hora, 24 horas, 4 días. Cada vez el suero puesto en ampollas es inactivado una media hora a 56°. La dosificación de las aglutininas en las diversas muestras dio:

	Para colibacilo	Para estreptococo
Suero de 1 hora	1:625	1:625
Suero de 24 horas	1:1500	1:1500
Suero de 4 días	1:625	1:625

En este caso, lo mismo que cuando se inyectó suero antitífico, las aglutininas se ven reforzadas en el mismo porcentaje y en igual tiempo, tanto para el colibacilo como para el estreptococo.

C. SUERO HETEROLOGO AGLUTINANDO DOS MICROBIOS

Cinco centímetros cúbicos del suero empleado en el experimento precedente sirvieron para inocular una gallina cuyo suero no aglutinaba tampoco ni el colibacilo ni el estreptococo a 1:200; el porcentaje de aglutininas fue:

	Para colibacilo	Para estreptococo
Suero de 1 hora	1:1250	1:1250
Suero de 24 horas	1:625	1:2500
Suero de 4 días	1:2500	1:1250

Este experimento muestra que el tiempo óptimo de refuerzo de aglutininas transferidas no es forzosamente el mismo para cada una de ellas y si nosotros comparamos estos resultados con aquellos obtenidos en el conejo por inoculación del mismo suero aglutinante veremos que las diversas especies animales no reaccionan de la misma manera, después de la inyección de suero aglutinante, polivalente: para ciertas especies el refuerzo puede ser disociado, mientras que para otras no lo es.

D. SUERO HETEROLOGO PRECIPITANTE

El suero de conejo así como el de gallina del experimento que acabamos de describir es rico no sólo en aglutininas sino también en precipitinas para un antivirio mixto: estrepto-coli-bacilar, hecho con un cultivo de un mes en el agua peptonada, después filtrada en tres ocasiones sobre candelas L3, L5 y L7. Ahora bien, las mezclas de 1 centímetro cúbico de antivirio + 0,1 centímetro cúbico de suero de gallina o de conejo diluido ya sea a 1:100 o 1:1000 dan un precipitado que es más precoz y más marcado con el suero de 24 horas para el conejo y con aquel de 4 días para la gallina. Si tenemos en cuenta la dilución del suero inyectado en la sangre del animal receptor, vemos que las precipitinas estarían en un porcentaje de 1:100 000 en el suero del animal receptor, cifra que es al menos 10 veces superior al cálculo matemático, el donador no precipita sino a 1:10000 al cabo de 24 horas; deducimos que hay un refuerzo de las precipitinas así como de las aglutininas después de un período de incubación variable de una especie a la otra.

E. SUERO HOMOLOGO HEMOLITICO

Un conejo recibe por vía intravenosa 5 centímetros cúbicos de suero hemolítico anti-oveja. Las hemolisinas circulantes a partir de una hora comienzan a bajar; no hay por lo tanto refuerzo comparable a aquel obtenido por las aglutininas y precipitinas.

F. SUERO HETEROLOGO ANTIVENENOSO

Un conejo recibe por vía intravenosa 10 centímetros cúbicos de suero antibotrópico; se hacen tomas de sangre 15 minutos, 2 días y 5 días después de la inyección; 1 centímetro cúbico de suero de cada sangrado neutraliza 0,10 mg de veneno de *Bothrops atrox*, *in vitro* por incubación de dos horas a 37°. Dosis inferiores a 1 centímetro cúbico de suero no salvan las palomas inyectadas; por otro lado 0,1 centímetro cúbico de suero antibotrópico + 0,9 centímetro cúbico de suero normal de cone-

jo, neutraliza también la misma dosis de veneno, de lo que se deduce que el suero antivenenoso inyectado al conejo no está en modo alguno reforzado.

Los trabajos de Ramón y Falchetti¹⁴ demuestran que para la antitoxina tetánica inyectada al conejo existe sobre todo una pérdida. Es de este modo que el conejo inyectado con 400 U.I. da un suero cuyo poder máximo antitóxico es alcanzado al cabo de dos días y cuyo contenido en antitoxina sobrepasa apenas 1 U.I. al centímetro cúbico; pero estos expertos utilizaron la vía subcutánea.

7. ¿INDUCCION O INCORPORACION?

La sustitución de algunos compuestos que forman parte de un antígeno, por compuestos parecidos de origen heterólogo, para reconstituir el complejo antigénico, por ejemplo el antígeno neumocócico obtenido con suero de caballo + polisacáridos de los neumococos (no antigénicos por ellos mismos) tales como los antígenos constituidos por los lipoides específicos unidos a albuminoides intercambiables nos hacía concebir el aumento de los anticuerpos que venimos describiendo, como una incorporación química de elementos parecidos obtenidos de otros anticuerpos puestos en presencia: especie de polimerización o inflamamiento molecular de núcleos que constituyen los anticuerpos específicos especiales, lo que haría por lo tanto variar el umbral de saturación por el antígeno correspondiente; pero para eliminar la posibilidad lejana de una inducción por irradiación, llenamos ampollas de cuarzo con inmunosueros y los sumergimos en tubos conteniendo los sueros normales. Después de permanencias variables en el horno a 37° buscamos descubrir en los sueros normales cercanos, la presencia de hemolisinas o de aglutininas inducidas; los resultados fueron negativos.

Para obtener conclusiones definitivas, haría falta, por medio de numerosos experimentos, determinar las variaciones individuales. Nuestros experimentos forzosamente restringidos no nos autorizan a formular más que conclusiones preliminares sin pretender más; es de esta forma que nosotros las consideramos.

CONCLUSIONES

1. Las aglutininas, así como las hemolisinas de conejo débilmente inmunizado por un solo antígeno, pueden ser reforzadas por la inyección única de un antígeno heterólogo que en este caso no produce anticuerpos específicos; siendo éstos "desviados" temporalmente hacia los anticuerpos preexistentes.
2. Las aglutininas, así como las hemolisinas de conejo inmunizado por dos antígenos del mismo orden, están reforzadas por "desviación jerárquica" en el momento de la inyección única del nuevo antígeno.
3. Esta "desviación jerárquica" está conducida, ya sea hacia los anticuerpos en porcentajes más altos o hacia el anticuerpo más emparentado, cuando se trata de un par equivalente.
4. El refuerzo de anticuerpos puede ser obtenido por "desviación" de anticuerpos inaparentes en el momento de la inyección de sangre de la misma especie.
5. Las aglutininas y precipitinas transferidas pueden "desviar" otros anticuerpos circulantes, conocidos o inaparentes para reforzar su poder.
6. La mezcla *in vitro* de algunos inmunosueros puede conducir, después de una variable incubación, a una "desviación" que refuerza el poder antitóxico de uno de los sueros de la mezcla.
7. El refuerzo *in vitro* de algunos anticuerpos puede ser obtenido por la mezcla con suero normal, aparentemente desprovisto de anticuerpos.

*Trabajo del Laboratorio bacteriológico del Hospital.
San José, Costa Rica*

NOTAS

1. Madgwick et Partner. *The Lancet*, 222, 1932, p. 1091.
2. Sarnowiec. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 118, 1935, p. 1162.
3. Nasta et Weinberg. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 106, 1931, p. 992.
4. Cruveilhier, Nicolau et Kopciowska. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 107, 1931, p. 212.
5. Cruveilhier, Nicolau et Kopciowska. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 110, 1932, p. 533.
6. Weinberg et collaborateurs. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 97, 1927, p. 1326.
7. Weinberg et collaborateurs. *Ces Annales*, 42, 1928, p. 619.
8. Weinberg et collaborateurs. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 98, 1928, p. 562.
9. Weinberg et collaborateurs. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 100, 1929, p. 94.
10. Weinberg et collaborateurs. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99, 1928, p. 1824.
11. Rouslacroix et Boiron. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1931, p. 675.
12. G. Ramon et collaborateurs. *C. R. de l' Acad. des Sc.*, 198, 1933, p. 1361.
13. G. Ramon et collaborateurs. *Ces Annales*, 41, 1933, p. 407.
14. G. Ramón et Falchetti. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 119, 1935, p. 6.

Picado Twight, Clodomiro. *Evolution des précipitines normales "anti-glandes endocrines" en relation avec l'âge et l'espèce animal*. Nota de C. Picado presentada por M. Weinberg. *Extrait des Comptes Rendus des Séances de la Société de la Biologie*. (Séance du 8 février 1936, T. 121, año 1936, p. 528).

EVOLUCION DE LAS PRECIPITINAS NORMALES "ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS" EN RELACION CON LA EDAD Y LA ESPECIE ANIMAL

El suero de animales de diversas especies precipita en porcentajes diferentes, los jugos de sus propios órganos; es así, por ejemplo, que el suero de conejo de alrededor de cuatro meses, precipita el jugo de bazo a 1/25000, de timo a 1/50 000 y de testículo a 50 000 (1% de glándula fresca de animal adulto). Pero si probamos las emulsiones glandulares de animales adultos con el suero de animales de la misma edad, vigorosos, en plena vida, encontramos, en promedio, que el jugo de bazo precipitó a 1/60 000, el de timo a 1/400 000 y el de testículo a 1/400 000.

Si el suero proviene de conejos mayores de 7 años y medio y los antígenos de un conejo en la plenitud de su vida, el jugo de bazo precipita a 1/70 000 mientras que el de timo lo hace a 1/1 000 000 y el de testículo a 1/2 000 000, es decir que la tasa de precipitinas se incrementa con la edad pero selectivamente: mientras que para el bazo aumenta de dos a tres veces, para el timo y el testículo el aumento es de 20 a 40 veces. Ahora bien, si estudiamos las precipitinas en los pollos y en los gallos (White Leghorn) vemos que los pollos de 350 gramos precipitan los jugos de bazo, páncreas, timo y testículo de gallo en porcentajes de 80 000 como promedio, y que el suero de gallo de 1900 gramos precipita las mismas emulsiones de órganos en los mismos porcentajes. En consecuencia, las precipitinas "anti-glándulas endocrinas" no aumentan en relación con la edad, con la misma rapidez ascendente en los gallos que en los conejos. Ahora bien, los gallos viven al menos el doble que los conejos del mismo peso y parece lógico preguntarse si la respuesta del soma que elabora las precipitinas "anti-glándulas endocrinas" no

contribuye a provocar en estos animales las degradaciones orgánicas que constituyen la senectud y que se presentan más rápido en los mamíferos que en las aves. La tasa muy elevada de precipitinas anti-testiculares en los mamíferos explicaría quizás también la imposibilidad de injerto testicular en los adultos y la débil intensidad de ellas en las aves, la facilidad relativa con la cual dichos injertos prenden en éstos últimos animales.

El suero de los mismos animales proveedores de órganos que sirven como antígeno, los precipitan, por lo tanto hay auto-precipitinas. Por otro lado, el suero humano precipita también las emulsiones de diversos órganos de origen animal y la relativa electividad de esas precipitinas puede ser puesta de manifiesto con ayuda de antígenos testiculares u ováricos de cobayos, así como de gallos y gallinas que, en un gran número de casos, permiten identificar el sexo de la persona sangrada; en estos casos, los sueros de hombre precipitan, en promedio, testículo a 1/60000 y ovario a 1/30000, sucediendo lo inverso para los sueros de mujer. En los casos dudosos, la precipitación electiva puede ser obtenida duplicando la cantidad de suero; en general es suficiente observar con lupa (x4) y con antígenos centrifugados y filtrados sobre papel en repetidas ocasiones después de una permanencia de 4 a 24 horas en refrigeración. En el conejo, el cobayo, la rata, el hombre y las gallináceas, observamos las auto-precipitinas electivas a las cuales acabamos de referirnos. Los bueyes se comportan como hembras con respecto a la emulsión testicular, pero en cambio sus precipitinas anti-tímicas doblan a aquellas de los sueros de los toros. Nos proponemos llevar a cabo, en colaboración con el patólogo Dr. Rotter el estudio serológico e histológico comparado que demandan estos fenómenos, los que parecen conducir el estudio de las fallas endocrinas y de la senectud hacia el terreno de la inmunología experimental.

Conclusiones

- 1- Diversos mamíferos y aves elaboran hetero, iso y auto-precipitinas "anti-glándulas endocrinas" que se intensi-

fican con la edad, principalmente para las glándulas de corta vida.

- 2- Esas precipitinas aumentan rápido y mucho con la edad en los roedores, de corta vida; mientras que el aumento es lento y ligero en las aves, cuya vida es larga.
- 3- Los sueros de animales adultos en madurez sexual encierran precipitinas anti-gonádicas de especificidad sexual relativa, que hacen falta en los animales castrados, en los que, por el contrario, el timo, de involución tardía, provoca la formación de precipitinas anti-tímicas que doblan las de los animales normales.

(Laboratorio del hospital de San José, Costa Rica)

NUEVO BACILO TIFICO

A nuestra llegada al Laboratorio en 1914, comenzamos sistemáticamente el estudio bacteriológico de las fiebres que bajo la común denominación de *tifoidea* se conocían en el país en esa época. Nuestra primera sorpresa fue la de no aislar en ningún caso bacilos típicos de Eberth durante 3 ó 4 años, salvo en un suizo recién llegado de Europa.

Otra sorpresa fue la de encontrar una serie de bacilos paratifoideos, diferentes de los tipos A y B. Una colección de varias de estas razas, obtenidas por hemocultivos, fueron dadas al Prof. Castellani cuando visitó nuestro país con ocasión del congreso médico reunido por la United Fruit Co. en Jamaica, en 1924; fue entonces cuando el eminente profesor italiano me contó que había tenido oportunidad, en Ceilán, de constatar hechos similares y que él también había sufrido en ese país, los cargos de no saber practicar reacciones serológicas, tal y como a mí me había sucedido. Desde 1918 comenzamos en cambio a encontrar esporádicamente el bacilo tífico, típico de Eberth, y a partir de ese entonces, tuvimos ocasión de seguir algunas epidemias en diferentes lugares del país.

Todos estos hechos han sido citados en su oportunidad, en las memorias que bianualmente el Laboratorio a mi cargo, presenta a la Junta Directiva del Hospital. En cambio, no he hecho ninguna publicación al respecto en revistas de índole científica, pues en esos mismos años comenzó a publicarse en diversos países europeos el hallazgo de bacilos paratíficos cuyos caracteres no coincidían con el A o el B y que fueron designados por otras letras o por el nombre de quien los descubría. La diversidad de bacilos paratíficos en toda la tierra había pasado pues a ser una verdad adquirida.

En 1923, en que por primera vez se preparaba en el país una vacuna antitífico-paratífica, tuve que considerar nuevamente el problema, y como no podía aumentar el número de especies de paratíficos que entraban en la composición de la vacuna, sin disminuir el número de bacilos tíficos tenía en presencia este dilema:

1. Preparar una vacuna recargada de microbios y para la cual hubiesen sido necesarias 4 ó 6 inyecciones individuales con el fin de hacerlas soportables.
2. Tomar para su preparación las formas más frecuentes en las infecciones.

Nuestra resolución final fue la de elaborar una vacuna semejante en un todo a la T A B, estudiada durante la Gran Guerra Europea por Salimbeni y cuyos resultados, después de 3 inyecciones (1; 2 y 2 centímetros cúbicos), a 10 días de intervalo, fueron de eficacia indudable. Poco tiempo después, y con el fin de hacerla más efectiva, por sinergia de antígenos, nuestra vacuna llevó un nuevo bacilo: un tífico aberrante designado con las iniciales del país: C R en nuestras colecciones. Desde hace unos 9 años hemos seguido cultivando este bacilo que sistemáticamente es empleado por nosotros en los sero-diagnósticos de Widal. Desde hace varios años, subcultivos de este bacilo fueron llevados por el Dr. E. Nauck al Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo. Nada he publicado al respecto, pues esperaba que se me hubiese dicho que "no contento con tener una tifoidea ahora ya quería dos."

Me parece que ahora sí es útil dar a la publicidad la historia de nuestros bacilos tíficos pues todos los bacteriólogos saben que últimamente se han descrito en los bacilos típicos de Eberth, no menos de 3 antígenos diferentes: uno, H, correspondiente a los cilios, otro, O, somático y además, variantes correspondientes a las formas S y R, corrientes de las mutaciones bacilares y nadie pondrá en duda su existencia y su papel patogénico en tiempos anteriores, pues con las modificaciones cuantitativas de las tres variantes antigénicas que acabamos de señalar, hay suficiente explicación para comprender su comportamiento aberrante.

Se aisló de un enfermo por hemocultivo, pero este enfermo nunca dio una reacción de Widal positiva con el bacilo de Eberth ni con los paratíficos A o B. El enfermo, que fue bien seguido, evolucionó como un tifoideo de gravedad más que mediana. Por otra parte, nuestro bacilo no presentaba ningún carácter fermentativo o patogénico propio a un paratífico, pero no era tampoco aglutinado por el suero antitífico experimental.

Como hay bacilos tíficos que no son aglutinables sino al cabo de múltiples resiembras y como, por otra parte, sabíamos que muchos enfermos de tifoidea jamás dan un Widal positivo, achacamos a una coincidencia el haber caído en un caso que reunía ambas condiciones, pero, como en esos días se presentaron otros enfermos que a la segunda semana de fiebre no daban tampoco una reacción de Widal positiva con tífico ni con para A, o para B, probamos con el bacilo que acabábamos de aislar y la aglutinación fue neta a diluciones superiores al 1%. Recogimos entonces el suero de todos los enfermos de tifoidea, presentes en ese entonces en el Hospital y vimos que podían dividirse en dos grupos: unos que aglutinaban el bacilo típico de Eberth y otros el recién aislado por nosotros. Así seguimos practicando las reacciones de Widal hasta que al cabo de varias resiembras nuestro bacilo adquirió la propiedad de ser aglutinado por un suero anti-Eberth experimental, aunque en menor grado que el bacilo homólogo.

A mediados de 1935 el bacilo C R es más difícil de aglutinar por los sueros de los tifoideos de la época que los para A o para B., pero a la saturación de las aglutininas tanto el Eberth como el C R absorben totalmente las aglutininas del suero experimental puesto en su presencia y al cabo de pocos minutos de incubación. El bacilo C R se muestra pues como un mal "hapteno" en relación con el suero anti-Eberth. Pero con un suero llamado J R por nosotros y que fue obtenido mediante un bacilo aislado de una epidemia de tifoidea bastante mortífera aparecida en 1933 y cuyas características bacteriológicas fueron las de ser causada por un bacilo que contenía al menos el doble de endotoxinas mortíferas para conejo que el Eberth típico, la aglutinación del bacilo C R, en las diluciones que sobrepasan al 1 por ciento, son más netas que con el bacilo de Eberth típico.

La epidemia de 1933 fue, pues, causada por un bacilo intermedio entre el Eberth y el C R, pero más cercano a este último.

Los sueros experimentales obtenidos últimamente con los bacilos de Eberth y el C R dan los siguientes resultados de aglutinación:

Suero			
	T-3000		T-1000
	A-2500		A-1000
Anti-Eberth	B-2500	Anti-C.R.	B-1000
	C.R.-3000		C.R.- 500

Vemos pues que el bacilo C R tiene más antígenos "vectores" para el bacilo de Eberth que para sí mismo, pero que a la vuelta de muchos años de resiembra es igualmente "hapteno" al suero anti-Eberth, que este último microbio. En las más altas diluciones, sin embargo, notamos que cada suero da aglutinación más neta con el microbio homólogo, es decir, la inversa de lo que sucede con el suero anti-J.R. (de la epidemia de 1933).

Para concluir y después de expresarle nuestro agradecimiento a D. Luis Bolaños, nuestro asistente del Laboratorio que nos ayudó particularmente en la preparación de sueros experimentales, debemos hacer notar:

1. Que nuestros bacilos típicos pasan por un período de segregación de razas, ya que comienzan a adaptarse a una región donde antes no vivían.
2. Que los bacilos recientemente aislados pueden pasar por gérmenes no patogénicos, dada su carencia o pobreza de antígenos "haptenos".
3. Que en la elaboración de vacunas regionales hay que estudiar estos bacilos, pues pueden ser ricos en antígenos "vectores" criptogénicos.
4. Que en Costa Rica la vacuna que nos dio mayor eficacia fue constituida por una mezcla, en partes iguales de: típico Eberth más típico C R más para A más para B.

5. Que suministraré gratuitamente subcultivos del nuevo bacilo tífico aislado por nosotros, a los laboratorios que tramiten la petición por intermedio de las respectivas Secretarías de Salubridad. (Una sola vez a cada Laboratorio).

Picado Twight, Clodomiro. *Considérations préliminaires sur les précipitines anti-glandes endocrines du sérum humain dans leur ensemble*. Nota de C. Picado T. presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*. 121 :1146-1148. 1936.

CONSIDERACIONES PRELIMINARES SOBRE LAS PRECIPITINAS ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS DE SUERO HUMANO EN SU CONJUNTO

TECNICA

Las glándulas de un cobayo macho de 400 g que acaba de morir por el cloroformo son trituradas con arena de cuarzo en el agua fisiológica al 9 por mil (3% de la glándula fresca). Al cabo de 3 horas en el congelador se centrifuga, se filtra sobre papel y se agregan dos tercios de agua salada; se deja algún tiempo a temperatura ambiente, después se centrifuga y se filtra de nuevo sobre papel. Todas las glándulas dan de esta forma una emulsión bastante fina para ser considerada como libre de precipitados en el momento de su examen al aglutinoscopio x 25 (las suprarrenales nos ofrecen una fina emulsión comparable a una suspensión bacteriana homogénea). Se prueban estas emulsiones por el suero del cobayo del cual provienen, para asegurarse de la normalidad del animal (previamente establecida para un cobayo de 4 meses de edad y que pesa 400 g).

Los sueros humanos son frescos, activos y tomados algunas horas antes. Se estudian siempre con las mismas emulsiones glandulares, los sueros de niños, de adultos y de ancianos para tener testigos que permitan juzgar las anomalías; el examen es hecho al aglutinoscopio después de la adición de suero debidamente diluido. Obtuvimos así los promedios que a manera temporal ofrecemos aquí.

A. Casos normales

Bazo: precipitación a 1/16 000 para los niños de 5 a 9 años con ligero aumento gradual hasta la vejez (70 a 90 años) sin diferencias apreciables para el sexo.

Páncreas: precipitación al 1/50 000 para los niños y los adultos (30-35 años) y 1/70 000 para los ancianos. No hay diferencias sexuales notables.

Suprarrenales: precipitan a 1/25 000 para los niños, 1/40 000 para los adultos y 1/50 000 para los ancianos, con un aumento alrededor del 20% para las personas de sexo masculino.

Hipófisis: 1/27 000 para los niños de ambos sexos; 1/42 000 para los hombres adultos y 1/50 000 para las mujeres. En los ancianos, los hombres precipitan a 1/61 000 y las mujeres a 1/87 000.

Tiroides: niños, muchachos 1/29 000; muchachas 1/17 000; hombres 1/52 000, mujeres 1/65 000.

Timo: niños 1/25 000 para los dos sexos; adultos hombres 1/75 000, mujeres 1/68 000; ancianos, hombres 1/78 000; mujeres 1/119 000.

Testículo: niños: muchachos 1/23 000; muchachas 1/13 000; adultos, hombres 1/57 000, mujeres 1/24 000; ancianos, hombres 1/119 000, mujeres 1/48 000.

B. Casos anormales

1. Diabéticos con una glicemia de más de 2 g por mil precipitan la emulsión del páncreas de 1/100 000 a 1/150 000.
2. Una persona con bocio, hipotiróideo de 22 años precipita: tiroides y testículo a 1/200 000.
3. Una mujer de 30 años, con cinco meses de embarazo precipita: suprarrenales, timo y testículo a 1/100 000; tiroides a 1/75 000 e hipófisis a 1/500 000.

De acuerdo con las cifras que acabamos de dar, habría que suponer que las precipitinas, en tasas muy altas, se encuentran a la vez en los hipo e hiperfuncionamientos endocrinos, pero como las atrofas pueden ser consecutivas a los hiperfuncionamientos o a las lesiones sufridas en el pasado, las precipitinas en tasas exageradas serían el testimonio de hiperfuncionamientos y de lesiones actuales y también retrospectivas. Si así fuera, la supremacía de las precipitinas antitiróideas para el sexo

femenino sería explicada por la supremacía de su metabolismo basal. El timo tendría una invaginación más tardía en la mujer que en el hombre. El aumento de las precipitinas anti-hipofisarias en las mujeres se debería al hiperfuncionamiento periódico de esta glándula, principalmente durante el embarazo y estas mismas influencias serían cuestionadas para mantener la supremacía de las precipitinas anti-tiróideas en las mujeres mayores. Es bien conocido por otro lado que hay hormonas ambisexuales que serían las responsables de las precipitinas antitesticulares en las mujeres.

CONCLUSIONES

1. El estudio comparado de las precipitinas anti-glándulas endocrinas nos permiten explorar el funcionamiento actual o retrospectivo de las glándulas endocrinas de un animal dado.
2. Las precipitinas aumentan con la edad, principalmente para las glándulas harmozónicas.
3. Las precipitinas producidas persisten largo tiempo en la circulación, aún después de la invaginación del órgano que ha actuado como endo-antígeno.

(Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica)

Picado Twight, Clodomiro y Rotter, W. *Précipitines anti-glandes endocrines et longévité chez quelques espèces de Vertébrés.*
 Nota presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus de la Société de Biologie.* Vol. 23, 1936.

PRECIPITINAS ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS Y LONGEVIDAD EN ALGUNAS ESPECIES DE VERTEBRADOS

C. Picado T.
 W. Rotter

En los relatos anteriores, uno de nosotros¹ mostró:

1. Que las precipitinas anti-glándulas endocrinas aumentan con la edad en diversas especies animales;
2. Que ellas aumentan rápido y más en los conejos de corta vida (alrededor de 8 años) y lentamente en las gallinas de vida relativamente larga (15 años).

PRECIPITINAS ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS DE ALGUNOS VERTEBRADOS

Nombre y edad	Longevidad media de la especie	Suprarrenales	Tiroides
Armadillo (<i>Tatusia</i>) (viejo)	15-? años	1/10 000*	1/10 000*
Hombre 40 años	70-100 años	1/50 000	1/60 000
Perro (fox-terrier) 7 años	15-20 años	1/75 000	1/80 000
Toro 7 años	20-30 años	—	1/75 000*
Conejo 1 año	6-9 años	1/100 000	1/100 000
Cobayo 6 meses	4-6 años	1/100 000*	1/75 000*
Mapache(<i>Didelphys</i>) (viejo)	?	1/200 000*	1/250 000*
Loro (<i>Chrysolis</i>) 20 años	50-60 años	Menos de 1/20 000*	—
Paloma 3 años	20-30 años	1/32 000	1/75 000
Oca 7 años	25-40 años	1/100 000	1/200 000
Gallo (<i>Leghorn</i>) 2 años	10-15 años	1/75 000*	1/100 000*
Tortuga (<i>Testudo</i>) (vieja)	?	1/32 000	1/50 000
Serpiente 2-3 años	12-? años	—	1/25 000*

cont...

Nombre y edad	Longevidad media de la especie	Suprarrenales	Tiroides
Serpiente coral			
(<i>Micrurus</i>) hembra 12 años	20-? años	—	—
Lagartija (<i>Sceloporus</i>) (Adulta)	?	—	—
Rana (<i>Leptodactylus</i>) (vieja)	5-? años	1/50 000*	—
Carpa dorada (<i>Carassius</i>) (vieja)	?	—	—

* Indica autoprecipitinas.

En esta nota vamos a resumir los resultados obtenidos en algunas especies escogidas en la serie de vertebrados y que presentan grandes diferencias de longevidad.

En la medida de lo posible dosificamos las autoprecipitinas y sólo en circunstancias desfavorables recurrimos a las glándulas de cobayos de 450 g para los mamíferos y a las glándulas de gallos jóvenes de 1200 g Leghorn o raza de la misma talla para estudiar las precipitinas de las aves y de los reptiles. En todos los casos fue hecha la verificación histológica de los órganos que sirven como antígeno. Todos los testículos estudiados estaban en espermatogénesis activa, salvo en los loros, pero la sangre de estas aves precipitaba al mismo porcentaje el testículo de gallo.

En los mamíferos vemos que el hombre y el armadillo, que son especies de longevidad extraordinariamente alta en relación con su talla, son aquellos que poseen las precipitinas más bajas.

En las aves, el gallo vive menos que la paloma y sus precipitinas tienen una concentración más elevada a pesar de la diferencia de tamaño. La oca de 7 años posee precipitinas comparables a aquellas de un gallo joven de menos de 1 año y apenas púber. Los loros que viven durante muchos años en cautiverio y que como dicen algunos autores, sobrepasan el siglo, son aquellos que presentan precipitinas menos elevadas.

En fin, en los poiquiloterms, las ranas, de vida relativamente corta (se dan 12 años para la rana contra 40 para el sapo) son las que poseen las precipitinas más altas dentro de su grupo, mientras que los peces y sobre todo los reptiles de vida

PRECIPITINAS ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS DE ALGUNOS VERTEBRADOS (Machos)

Nombre y edad	Longevidad promedio de la especie	Tímo	Testículo	Hipófisis
Armadillo (<i>Tatusia</i>) (viejo)	15-? años	1/20 000*	1/32 000*	1/50 000
Hombre 40 años	70-100 años	1/75 000	1/100 000	1/50 000
Perro (fox-terrier) 7 años	15-20 años	1/150 000	1/100 000	—
Toro 7 años	20-30 años	1/200 000*	1/100 000*	—
Conejo 1 año	6-9 años	1/200 000	1/250 000	1/75 000
Cobayo 6 meses	4-6 años	1/150 000*	1/300 000*	1/75 000*
Mapache (<i>Didelphys</i>) (viejo)	?	1/200 000*	1/500 000*	1/250 000*
Loro (<i>Chrysotis</i>) 20 años	50-60 años	1/50 000*	1/50 000	1/20 000*
Paloma 3 años	20-30 años	1/50 000	1/100 000	1/100 000
Oca 7 años	25-40 años	1/100 000	1/200 000	1/200 000
Gallo (<i>Leghorn</i>) 2 años	10-15 años	1/150 000*	1/400 000*	1/100 000*
Tortuga (<i>Testudo</i>) (vieja)	?	1/25 000	1/50 000*	—
Serpiente 2-3 años	12-? años	1/25 000*	1/50 000*	—
Serpiente coral (<i>Micurus</i>)			Ovario	
hembra 12 años	20-? años	1/75 000*	1/75 000	
Lagartija (<i>Sceloporus</i>) (Adulta)	?	—	1/50 000*	—
Rana (<i>Leptodactylus</i>) (vieja)	5-? años	—	1/250 000*	—
Carpa dorada (<i>Carassius</i>) (vieja)	?	—	1/200 000*	—

* Indica autoprécipitinas.

muy larga, tienen precipitinas muy poco marcadas. Es de esta manera que las serpientes de cascabel cuya edad puede ser comparativamente evaluada por el número de anillos y la serpiente coral que vivió 10 años en nuestros laboratorios, nos ofrecen casos típicos de precipitinas muy bajas y comparables a aquellas del armadillo y del loro.

Pareciera por lo tanto que hay relaciones estrechas entre las tasas de precipitinas anti-glándulas endocrinas del suero del animal adulto normal y la longevidad "potencial" de la especie.

(Laboratorios del Hospital San José, Costa Rica)

NOTA

1. C.R. de la Soc. de Biol. 1936, t. 121, pp. 528 y 1146.

Picado Twight, Clodomiro y Rotter, W. *Précipitines sériques antithyroïdiennes chez les goitreux*. Nota de C. Picado y W. Rotter, presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*. 123 : 1111-1114. 1936.

PRECIPITINAS SERICAS ANTITIROIDEAS EN LAS PERSONAS CON BOCIO

C. Picado T.
W. Rotter

Nosotros constatamos en repetidas ocasiones que el número más grande de personas con bocio admitidas en nuestro servicio hospitalario poseen una tasa de precipitinas séricas antitiróideas dos a cinco veces más elevada que los testigos de la misma edad. Ellos comparten esta riqueza de precipitinas con los cretinos y mixedematosos, hechos que parecen indicar que en las enfermedades donde hay hipotiroidismo, éste se acompaña de un aumento inusitado de precipitinas antitiróideas y a menudo también de precipitinas antihipofisiarias.

Por otro lado, se sabe que las personas con bocio se dividen, de acuerdo con su constitución histológica, en dos grandes categorías:

1. Bocios coloides y
2. Bocios parenquimatosos.

Los primeros son muy abundantes en este país mientras que los otros son más raros.

Tuvimos la ocasión de estudiar no sólo las precipitinas séricas de los enfermos sino también de verificar el estudio histológico de las glándulas extirpadas, la naturaleza del bocio y algunas veces comparar las precipitinas antitiróideas en relación con la glándula normal y la glándula patológica.

Sin querer discutir aquí la interpretación de los hechos, damos a continuación algunos de los resultados obtenidos:

a) *Bocio nudoso macrofolicular*: una de las muchas mujeres con bocio cuyo suero precipita la emulsión de tiroides normal,

que proviene ya sea del hombre, del buey o del cobayo, en tasas que sobrepasan siempre el doble de las cifras obtenidas con sueros normales de la misma edad, es sometida a la intervención quirúrgica habitual. La parte de la glándula extirpada, cuyo peso es de 510 g, presenta varios nódulos en los que el diámetro de los folículos varía entre 100 y 1000 μ , siendo el promedio de 300 μ . El epitelio parece aplastado por el coloide acidófilo (Figura N° 1). La emulsión preparada con la trituración de esta glándula y con aquella que proviene de otro bocio del mismo tipo, es precipitada por los sueros normales así como por aquellos de personas con bocio en diluciones que sobrepasan el doble del límite de precipitación por las tiroides normales. Es una glándula hipersensibilizada a las precipitinas séricas.

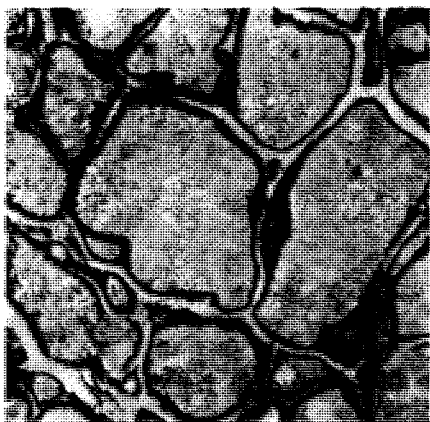


FIGURA N° 1.— Bocio nudoso coloide macrofolicular.

b) *Bocio parenquimatoso difuso*: algunas "basedowianas" examinadas poseen un suero cuyas precipitinas antitiróideas no alcanzan ni siquiera la mitad de las cifras normales. La Figura N° 2 nos muestra la tiroides de una de esas enfermas que presentaba el conjunto de los signos clásicos de "básedowianos" y cuyas tasas de precipitinas no eran más que el 25% de aquel obtenido por los sueros normales de las mujeres de la misma edad. Las precipitinas antitímicas en este caso, doblan la cifra

normal, mientras que las precipitinas para ovario, suprarrenales e hipófisis se muestran normales. La glándula extirpada, con polimorfismo folicular, ofrece numerosas proliferaciones del epitelio folicular que tiene de 15 a 20 μ de alto y está formado por células de nudos basales. En numerosas partes, el epitelio parece estar replegado. El mayor número de folículos están llenos por un coloide que está como diluido y vacuolizado. Es fácil de constatar una descamación epitelial muy fuerte.

La emulsión preparada con ayuda de esta glándula se muestra un poco menos sensible a la precipitación por los sueros normales y patológicos que aquella de tiroides normal. Es una glándula hiposensible.

c) *Bocio nudoso parenquimatoso tubular*: el suero de esta mujer de 20 años posee precipitinas normales para las diversas



FIGURA Nº 2.— Bocio parenquimatoso difuso (basedowiano)

glándulas endocrinas, excepción hecha de las precipitinas antitiroideas, cuya tasa es apenas de 1/10 del número normal. Tal constatación es un hecho único para nosotros. El parénquima de la glándula extirpada (Figura Nº 3) se muestra compuesto por túbulos ramificados y curvados que terminan a menudo en pequeñas ampollas. Las células epiteliales son, por lugares, ya sea grandes, claras, vacuolizadas, cúbicas o

cilíndricas, ya sea cilíndricas y aplastadas, midiendo 15 a 20 μ . No hay casi nada de luz en los tubos pero en el centro de las ampollas se encuentra a veces una cavidad vacía; en ninguna parte se constata la presencia de coloide. Según Wagelin, se puede considerar el adenoma tubular de la tiroides como una persistencia de la estructura infantil de la glándula. En efecto, estos tubos aparecen desde el segundo mes de la vida fetal y persisten durante toda la infancia.

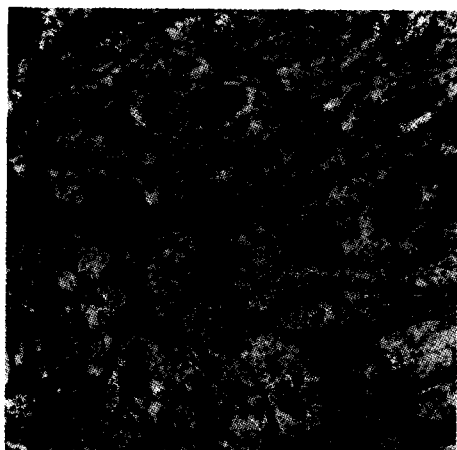


FIGURA N° 3.— Bocio nudoso parenquimatoso tubular.

CONCLUSION

A los diversos tipos de adenomas tiroideos del hombre corresponden diversas producciones cuantitativas o cualitativas de precipitinas antitiroideas: a los bocios coloides precipitinas en un porcentaje elevado, para los bocios parenquimatosos precipitinas en un porcentaje débil.

Picado Twilight, Clodomiro. *Sobre algunas actualidades endocrinológicas (reporte presentado al señor Superintendente del Hospital Doctor don Luciano Beeche). Revista médica.* 2 (40) 645-652, 1937.

SOBRE ALGUNAS ACTUALIDADES ENDOCRINOLOGICAS

Señor Superintendente:

Un propósito noble y generoso le movió a usted al encomendarme un estudio en Francia sobre cuestiones de endocrinología: el de ayudar a un antiguo trabajador del Hospital a soportar la pesada carga que para una persona carente de recursos significaba un inaplazable viaje en busca de alivio para una dolorosa y cruel enfermedad. Gracias a este propósito que fue generosamente acogido por la Honorable Junta de Caridad, y a las vacaciones que me fueron concedidas, es que debo a estas horas, si no verme curado, sí aliviado y en condiciones de seguir trabajando.

Reciban todos ustedes por tan bondadosa deferencia hacia mí, mis más sinceros agradecimientos.

Paso luego a reportar a usted, en enjuto resumen, cuáles han sido los resultados de mayor relieve obtenidos en este ligero vistazo sobre asuntos tan vastos, arduos y complejos. Como no se trataba de hacer luego una exposición con fines didácticos, a lo cual no me habría atrevido por falta de competencia, sino más bien de una ampliación de estudios profesionales, resolví, durante mi estada en París, para sacar el mayor provecho en el menor tiempo posible, oír discutir algunos de los problemas que luego esbozaremos por maestros capacitados para ello; escuchar el juicio crítico de quienes saben vislumbrar la luz de lo trascendental, por pequeña que ella sea, a través de la densa

bruma de trabajos y experiencias que traen a la gavilla poco grano, y, a veces tan sólo paja...

En cada párrafo de la breve exposición que tengo el honor de presentar a usted he pensado qué utilidad pudiese derivar el médico de lo que aquí trato de resumir y particularmente en qué forma pueda esta utilidad favorecer al medio nuestro. Un reporte para uso doméstico, por decir así.

El empeño que pondré en esta rápida exposición es el de ser breve y hacer síntesis. Si no logro ser lo suficientemente claro o si fallo al querer mostrar como altas cumbres lo que sólo son miserables colinas, que ello se me perdone en gracia a un empeño en que pongo mi mejor voluntad.

1. HORMONAS SEXUALES

A) Parentela de las hormonas

Recordemos solamente que los compuestos hormonales que por síntesis se han obtenido ya, forman no solamente la cadena que une las hormonas ováricas entre sí, sino también un lazo entre las hormonas femeninas y las masculinas y, lo que es aún más sorprendente, una serie de cuerpos que aun no han sido encontrados en el organismo animal, pero que gozan, en mayor o menor grado, de las propiedades de las hormonas masculinas y femeninas (Butenandt y Ruzicka).

* *

* * *

Bien sabido es que el determinismo sexual obedece a la presencia de los cromosomas sexuales y que desde el momento de la fecundación el sexo del embrión queda determinado; ahora bien, el tratamiento de embriones de aves y de mamíferos, no solamente por las hormonas sexuales naturales, sino también por aquellas de síntesis, aún no encontradas en el reino animal, conduce a la intersexualización y ésta se debe forzosamente a una formación autocatalítica de la hormona por el mismo organismo inyectado, ya que una sola inyección permite, por ejem-

plo, conservar pollos que se mantienen como intersexuales por largos seis meses.

Muchas son las reflexiones que sugieren los pollos intersexuales que acaban de ser presentados a la Sociedad de Biología y a la Academia de Ciencias de París por Dantchakoff y por Wolff, pero sólo deseamos referirnos a dos de ellas que pueden tener aplicación para el hombre:

1. A la regeneración hormonal autocatalítica
2. A la existencia de las hormonas ambisexuales.

En efecto, muchas deficiencias funcionales de las mujeres han sido corregidas por el empleo de extractos orquíticos y hasta la hora actual ninguna explicación aceptable había sido dada. Ahora la síntesis del "Androstendiol" y de otros productos afines permitirá no solamente la explicación de la utilidad terapéutica de las hormonas sexuales cruzadas, sino que pondrá en manos del médico nuevos medios de corregir deficiencias funcionales sin los riesgos de los antagonismos hormonales que existen como es bien sabido, no solamente entre hormonas masculinas y femeninas, sino aún entre las femeninas entre sí: **a dosis adecuadas, folliculina + luteína, = 0.** (Macht y Bryan, 1936).

La regeneración autocatalítica podrá permitir además la institución de tratamientos separados por largos intervalos que eviten el peligro de los tratamientos hormonales intensivos, sobre los cuales diremos unas palabras.

B) Control hormonal de la herencia "sex-linked"

Todos los avicultores saben que los híbridos de algunas razas de gallinas, presentan el fenómeno de herencia ligada al sexo. Así por ejemplo, los pollos hijos de un gallo rayado, y una gallina roja son: rojos los machos y rayadas las hembras. La genética explica el fenómeno diciendo que los "genes" de los cuales depende la coloración del plumaje van unidos a los cromosomas sexuales y así, matemáticamente, se ha logrado en cruzamientos apropiados hasta llegar a obtener a voluntad un

porcentaje determinado de las dos variedades de mariposas hembras (tomadas antes por especies diferentes) que para un macho único tienen algunas especies (Goldschmidt).

Ahora tuve ocasión de ver en el Instituto de Fisiología del Colegio de Francia algunos animales que han sido obtenidos por el bien conocido experimentador Caridroit y que han de figurar en el pabellón especial que la Exposición Universal de 1937 reserva a estos descubrimientos. Entre las más notables de estas "quimeras" fisiológicas se encuentran:

1. Gallos tratados por algunas sales de foliculina que permanecen en *actividad genital de macho pero con plumaje de gallina*.
2. Gallos así tratados en los cuales se provoca una muda artificial precoz de la mitad del cuerpo y entonces tienen el lado izquierdo con plumaje de gallo y el derecho con plumaje de gallina.
3. Gallos híbridos de dos razas, la una roja y la otra gris, que presentan el fenómeno de herencia ligada al sexo y que tratados como los animales descritos en el párrafo anterior presentan el doble fenómeno de *inversión sexual y racial del plumaje*, y es así que el profesor Caridroit tiene bellos ejemplares cuyo lado izquierdo presenta el plumaje típico del gallo Leghorn dorado y el lado derecho el plumaje de gallina Andaluza azul.

* *

* * *

Si nos preguntamos qué tiene que ver el hombre con esto, debemos considerar que éste está sujeto en algunos de sus caracteres a la herencia ligada al sexo (coloración de los ojos por ejemplo). Ahora bien, no solamente caracteres indiferentes así lo están, sino que también lo están algunas taras fisiológicas, el daltonismo por ejemplo y, según parece, la hemofilia.

Consideremos además que la "demencia climática" está íntimamente ligada a las secreciones hormonales, por una parte, y a la herencia por otra.

Nos formulamos ahora esta pregunta: ¿Se trata acaso de una herencia ligada al sexo?

Si así lo fuera es lógico suponer que muchas demencias del climaterio o de sus épocas vecinas, pudiesen curarse o reducirse mediante un tratamiento hormonal sexual cruzado y sería en extremo deseable que tal se intentara en aquellos casos en que una encuesta psicopatológica revelara en la familia predominancia de locos, sea en el uno, sea en el otro sexo.

2. HORMONAS TIROIDEAS

A) ¿Unidad o dualidad de secreción?

El problema tan debatido e interesante de saber si la tiroides secreta una sola, dos o más hormonas, sigue en pie y podemos comparar su discusión de ahora, a la que fue hasta hace poco el problema de las secreciones ováricas, siendo así que en tratados aún recientes se trata de probar la unidad de secreción hormonal ovárica.

Si bien es cierto que de la tiroides se han aislado varias sustancias, algunas de las cuales muestran entre sí el mismo antagonismo que existe entre foliculina y luteína, tal por ejemplo el antagonismo neto entre tiroxina y diyodotirosina, también se sabe que en varias células del organismo, lejanas de la tiroides, se encuentran cantidades apreciables de diyodotirosina. Unos piensan que tal sustancia no es sino la pre-hormona destinada a convertirse en la tiroides en verdadera secreción hormonal, mientras que los otros creen que, por el contrario, estos productos yodados no son sino la secreción ya utilizada y descompuesta por el organismo.

De cualquiera manera que sea, recordemos que también la foliculina existe en varios órganos fuera del ovario.

* *
* * *

El hecho de que el problema unicista o pluralista siga sin resolver no ha sido obstáculo para que recientemente se hayan

puesto en juego dos sistemas basados en los conceptos hormonales de la tiroides. Uno de ellos, puesto en práctica por Zondek, consiste en provocar, cuando hay signos de hipertiroidismo, sin hiperplasia tiroídea, un bocio producido por inyecciones de diyodotirosina y proceder luego a su extirpación subtotal.

El otro método consiste en la ablación total de la tiroides para curar la *Angina pectoris*. Sobre este método acaba de sustentar una interesante tesis de doctorado nuestro compatriota el Doctor don E. García Carrillo y allí se discuten los detalles.

En estas líneas quiero sí recordar que muchas glándulas accesorias que son constantes en ciertas especies de mamíferos se presentan con carácter esporádico en el hombre (Suprarrenales accesorias del ovario, por ejemplo, que son constantes en el conejo). Estos hechos nos incitan a creer que la supervivencia después de la tiroidectomía total sería explicable por la presencia de tiroides accesorias que pasan desapercibidas, ya que no siempre la supervivencia es de regla y que hasta la hora no se sabe el por qué de las diferencias individuales de la resistencia a la supresión tiroídea total y que por largos años ha sido considerada como imposible de soportar.

* *
* * *

Carezco en cambio de noticias sobre la fisiología experimental tiroideana que tengan una trascendencia comparable a la que tienen los trabajos modernos sobre las hormonas sexuales.

3. HORMONAS HIPOFISARIAS

La separación de la "prolactina" de las otras hormonas hipofisarias es posiblemente lo que mayor importancia actual pueda tener para el tratamiento humano, pues los antiguos tratamientos de las madres carentes de leche por productos antihipofisarios totales aparejan el grave inconveniente de llevar, además de la buscada "prolactina", las hormonas tireotrópicas y gonadotrópicas (entre otras muchas cosas, probablemente) y esto trae como indudable consecuencia un hiperfuncionamiento

tiróideo y ovárico, justamente en el momento que tales glándulas reclaman reposo, debido al hiperfuncionamiento consecuente al embarazo.

* *
* * *

La noción de preparación para el funcionamiento glandular completo ha sido puesta en relieve mediante las notables experiencias del profesor Housay que prueban que si la prolactina se inyecta sola a un perro macho, castrado o no, es incapaz de producir la secreción láctea, pero que si se produce una previa hiperplasia de las glándulas mamarias mediante inyecciones de foliculina, las subsecuentes inyecciones de prolactina determinan una abundante producción de leche aún en perros enteros que no pierden sus funciones genésicas de macho. El mismo fenómeno se produce en otros animales ya sean ellos hembras vírgenes o machos y no vemos razón para suponer que la especie humana se comporte de otro modo.

Nos preguntamos ahora nosotros: Cuando fallan los tratamientos antihipofisarios en la madre carente de leche ¿no será ello debido a falta de la preparación que quizás pudiese obtenerse con pequeñas cantidades de foliculina?

* *
* * *

Siguen llamando la atención los notables éxitos que se obtienen en muchos casos de diabetes mediante la implantación de lóbulo anterior de hipófisis de buey, que aunque no es un injerto, sí realiza una hormonoterapia constante, moderada y a la vez prolongada, como en el caso de la operación de Voronoff.

Ya que en nuestro país se han presentado múltiples casos de diabéticos "insulinorresistentes" hay que pensar que muchos de estos enfermos padecen tal vez de perturbaciones hipofisarias que podrían ventajosamente ser tratadas por las hormonas adecuadas y si ésto fracasa, intentar la transplatación hipofisaria, después de conocer los detalles operatorios. La hipófisis de

los bueyes, particularmente los nuestros, está tan bien protegida que su obtención aséptica no me parece difícil.

* *
* * *

La noción de neurocrinia parece ir ganando terreno pues las inyecciones intraventriculares de productos hormonales hechas al nivel de la hipófisis y de su contacto con el simpático, dan respuestas de orden específico que no se obtienen con productos químicos capaces de producir la simple excitación nerviosa y en menor tiempo que el requerido por vía circulatoria.

No sabemos que se haya intentado hasta ahora ningún tratamiento hormonal por vía intraventricular en el hombre.

4. LOS DIAGNOSTICOS DE LABORATORIO

A) La Interferometria

Hace unos pocos años el método tenía partidarios en Alemania solamente. Ahora en el Hospital Necker de París, lo mismo que en muchas ciudades de Francia se emplea corrientemente y los productos glandulares que se emplean como reactivos y que han de ser puestos en presencia del suero del paciente, para saber si hay o no desdoblamiento de ellos, pueden obtenerse en la casa Poulenc de París.

No hay duda que en manos expertas el método presta utilidad. Para nuestro medio el inconveniente principal consiste en lo dispendioso de su instalación y mantenimiento; solo el interferómetro cuesta unos 15 000 francos y los reactivos son caros. Otra dificultad que tendríamos nosotros es la falta de numerosos casos típicos de cada enfermedad y por tanto de sueros que pudiesen servir como testigos.

B) Las curvas hemolíticas

Richard acaba de establecer un método más simple, menos dispendioso y que, al decir del autor, quien hace años se dedica a estos estudios, tiene, por lo menos, las mismas ventajas de la

interferometría sin que requiera su costosa instalación sino solamente reactivos de las diversas glándulas y el material corriente en las reacciones de hemólisis.

C) Hipotirodismo y colesterol

Las indicaciones que al médico dan los repetidos dosajes de colesterol en el suero sanguíneo de los enfermos que sufren de hipotirodismo y aun en los hipertiróideos, es según muchos investigadores, guía más segura que las indicaciones que da el metabolismo basal cuya determinación es extremadamente difícil si se quiere hacer sin los atropellamientos a que impulsan los vendedores de aparatos más o menos ridículos. Además, y en esto me atengo a lo mucho que al respecto he oído, las personas emotivas no pueden sustraerse a lo teatral del sistema y su misma emotividad es causa de falsos resultados, aún con los mejores aparatos en manos de buenos expertos y haciendo el cuidadoso y difícil cálculo de la superficie dérmica. El hecho de que cuando se logra en unos días de práctica habituar al paciente, las cifras sean muy otras que las obtenidas en las primeras determinaciones prueba lo difícil de obtener los datos justos que se esperan y la necesidad de buscar nuevos métodos de exploración.

5. LOS ESCOLLOS ACTUALES PARA EL DIAGNOSTICO Y EL TRATAMIENTO DE LAS PERTURBACIONES ENDOCRINAS

A) Diagnóstico

Si bien es cierto que por la interferometría, las curvas hemolíticas u otros métodos, puede determinarse aproximadamente cuales glándulas endocrinas están en juego, tales exámenes no pueden disipar las dudas fundamentales:

1. ¿Se trata de hipo, hiper o disfuncionamiento glandular?
2. Como en el suero del paciente los productos de reacción pueden persistir por mucho tiempo, no es posible decir si

las anomalías que los actuales métodos ponen en relieve significan diagnóstico actual o retrospectivo. Solamente el establecimiento de exámenes en serie permite en ciertos casos aclarar el problema.

No significan estos hechos, en suma otra cosa, sino que la interpretación de los resultados de laboratorio deberá someterse a un juicio crítico, tal y como se hace actualmente con una reacción de Widal, por ejemplo, para saber si su significación es actual o pretérita en la historia del paciente.

B) Tratamiento

Las dos grandes dificultades que los investigadores actuales quieren vencer, son las que podríamos llamar "Respuesta tardía" y "Respuesta antagónica".

1. *Respuesta tardía*: nada mejor para aclarar este concepto que citar las experiencias que sobre patos salvajes se conducen actualmente en el Instituto Marey de París:

Benoit había demostrado hace poco que la luz, por intermedio de la hipófisis, produce la actividad testicular anual de estas aves. Experiencias ya clásicas habían demostrado, por otra parte, que su plumaje varía por acción de las hormonas sexuales; ahora bien, nada más lógico, al parecer, que el plumaje es sincrónico con la actividad testicular, y sin embargo, las experiencias bien conducidas muestran que el efecto no es apreciable sino mucho tiempo después que las hormonas han entrado en circulación.

Esto nos aclara, por una parte, por cuál motivo los exámenes de laboratorio puedan significar diagnóstico retrospectivo y no actual, pues, en efecto, cuando se notan los síntomas aparentes en el enfermo, puede muy bien suceder que los trastornos glandulares se hubiesen producido hace ya mucho tiempo. Nos pone en guardia además contra dos errores de tratamiento:

- A) Esperar un resultado inmediato y si éste no se obtiene pensar en lo ineficaz de la actuación.
 - B) Para obtener resultados rápidos y netos instituir un tratamiento excesivo.
2. *Respuesta antagónica:* desde que Collip y sus colaboradores introdujeron en la fisiología endocrina el concepto de antihormonas, muchos trabajos se han venido efectuando para esclarecer el asunto.
- Tres explicaciones han sido propuestas.
- a) Las antihormonas como respuesta somática diferente a las otras conocidas.
 - b) El concepto de fermentos antagónicos del grupo de los descritos por Abderhalden.
 - c) La formación de anticuerpos antihormonales.

Si bien es cierto que la introducción de benzoato de foliculina por vía parenteral puede conducir a la formación de "fermentos de defensa" contra esta sal, aunque esté desprovista de albuminóideos (Sulman, 1937), en la mayoría de los casos hay verdadera producción de anticuerpos.

Valga la una o la otra explicación, lo cierto es que no podemos inyectar impunemente productos hormonales al organismo sin que obtengamos la respuesta antagónica. Si recordamos lo que acabamos de hacer notar con respecto a la respuesta tardía, debemos meditar sobre ello y siempre que sea posible preferir la vía oral para la administración de los productos orgánicos, aunque éstos no sean considerados como hormonas sino como simples extractos de órganos. Es así por ejemplo que a menudo nos encontramos con gentes que han recibido inyecciones de hepatol o de tiroidina, aún en grandes cantidades, sin que prudentemente se hubiese ensayado antes la vía digestiva. Por poco que aun reaccione, gracias a sus múltiples medios defensivos, el organismo del paciente así tratado, ello ha de conducir, al fin, a una atrofia de los órganos afectados.

Para terminar recordemos que el hígado (donde Claudio Bernard constató la primera secreción endocrina) cobra en los

tiempos actuales mayor importancia pues son sus secreciones las que han servido como base para la obtención de las hormonas sexuales sintéticas.

No echemos en olvido el sabio ejemplo que nos han dado los médicos norteamericanos, que han dado la voz de alarma contra el abuso desordenado de la endocrinoterapia en manos inexpertas y cuando falta el sentimiento de responsabilidad. Tal, por ejemplo, el caso recientemente publicado en París, referente a un criptorquídeo doble que fue tratado con productos hormonales hasta la edad de 17 años haciéndole creer a los padres que la intervención quirúrgica no sería necesaria. Cuando finalmente fue llevado al cirujano, éste no pudo, debido a la extrema vascularización sino hacer descender un sólo testículo en estado infantil y comparable al de un niño de cinco años.

He aquí un ejemplo bien neto de los frutos que produce la endocrinoterapia mal conducida.

¿Se abusa entre nosotros de la endocrinoterapia?

¿Está bien conducida?

¿Debe hacerse algo por mejorarla?

Dejamos las preguntas formuladas y ojalá mediten en ella quienes deben.

PRECIPITINAS NATURALES ANTI-TIMICAS Y ANTI-GONADICAS DEL SUERO DE COBAYO EN RELACION CON LA EVOLUCION DE LAS GLANDULAS RESPECTIVAS

C. Picado T.
W. Rotter

El estudio de las auto-precipitinas "anti-glándulas-endocrinas" nos mostró que éstas se acentúan progresivamente con la edad del animal y que las curvas correspondientes a las diversas glándulas no se pueden superponer; pero nos quedaba por saber cuál es la interdependencia de las múltiples precipitinas entre ellas, así como los datos relativos al poder precipitante del mismo suero sobre las glándulas provenientes de animales a diferentes edades y en diferentes estados de funcionamiento endocrino.

También es necesario saber cuál es el grado de especificidad de estas precipitinas y cuál la relación cronológica entre la aparición de las precipitinas y el comienzo funcional del órgano. No era menos útil saber si una glándula que tiene múltiples funciones es capaz de provocar la aparición de una o varias precipitinas y qué pasa con ellas cuando la glándula entra en período de involución.

Con el deseo de aclarar, aunque brevemente, estos problemas fundamentales, así como comparar el comportamiento de las precipitinas naturales con las precipitinas experimentales, emprendimos una serie de investigaciones que esperamos reunir en publicaciones sucesivas. El tema que escogimos para esta primera es el expresado por el título, considerando que el cobayo, por su gestación prolongada, su avanzado desarrollo a la hora del nacimiento, su rapidez de crecimiento y su precoci-

dad puberal, nos permitiría tomar los animales de experiencia a edades bien conocidas y en estados bien diferenciados, en un período relativamente corto, lo que facilitaría la repetición de las experiencias dudosas.

I. EVOLUCION ANATOMICA E HISTOLOGICA DEL TIMO Y DEL TESTICULO EN EL COBAYO

A. Timo

El peso del timo aumenta progresivamente del nacimiento a la pubertad: de 80 mg en el recién nacido, pasa a 160 mg al cuarto día, a 200 mg al segundo mes y a 310 mg al cuarto mes. Este peso es el máximo que hemos obtenido en unos 50 casos; estos números son mucho más bajos que los que otros autores señalan; así es como, por ejemplo, Klein señala haber visto timos que pesan 800 mg. Queda por saber si es una particularidad de raza o de ambiente. En los animales que pasan la edad de 4 meses, el peso de la glándula comienza a disminuir para llegar a 200 mg en animales de un año y 100 mg en aquellos que tienen ya algunos años. Hay que subrayar que el peso del timo disminuye más rápidamente en las hembras, hecho que es confirmado por la observación de Klein quien constata que las inyecciones de "prolan" llevaban a la atrofia del timo.

Si se compara el peso del órgano con el peso total del animal, vemos que el peso relativo disminuye desde el nacimiento: este peso es de 2,28 por diez mil en el recién nacido, de 0,77 por diez mil en el que tiene 4 meses y de 0,12 por diez mil en animales con algunos años de edad.

El timo muestra en el recién nacido el cuadro histológico del órgano en plena evolución. Se compone de lobulillos en forma oval o poligonal cuyo diámetro transversal varía de 800 a 1200 μ ; estos lobulillos están separados por una pequeña cantidad de tejido conjuntivo, que contiene los vasos sanguíneos. La cortical es ancha, regular y netamente delimitada de la medular que contiene un gran número de corpúsculos de Hassall cuyo diámetro es de 200 μ (Foto 1 de la Figura N° 1).

Este cuadro histológico persiste hasta la edad de 4 a 5 meses con la única diferencia de que la cortical se hace más estrecha. Los corpúsculos de Hassall se encuentran en gran cantidad y conservan el mismo tamaño: hecho relevante ya que Klein

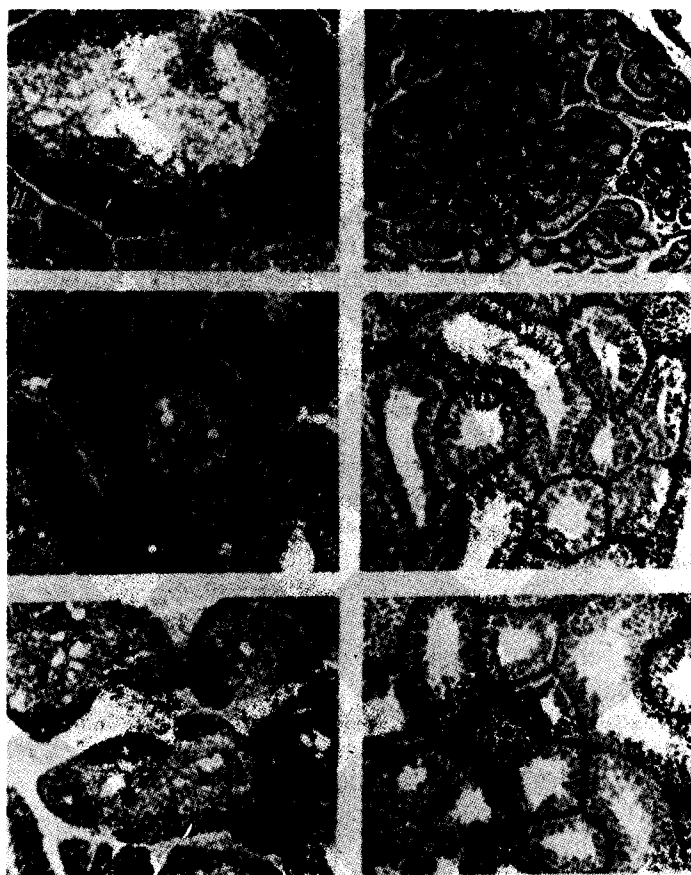


*FIGURA Nº 1.—Evolución histológica del timo (a la izquierda) y del testículo (a la derecha) en el cobayo.
De arriba a abajo. Foto 1. En recién nacido. Foto 2. A los 4 ó 5 meses.
Foto 3. Involución de primer grado.*

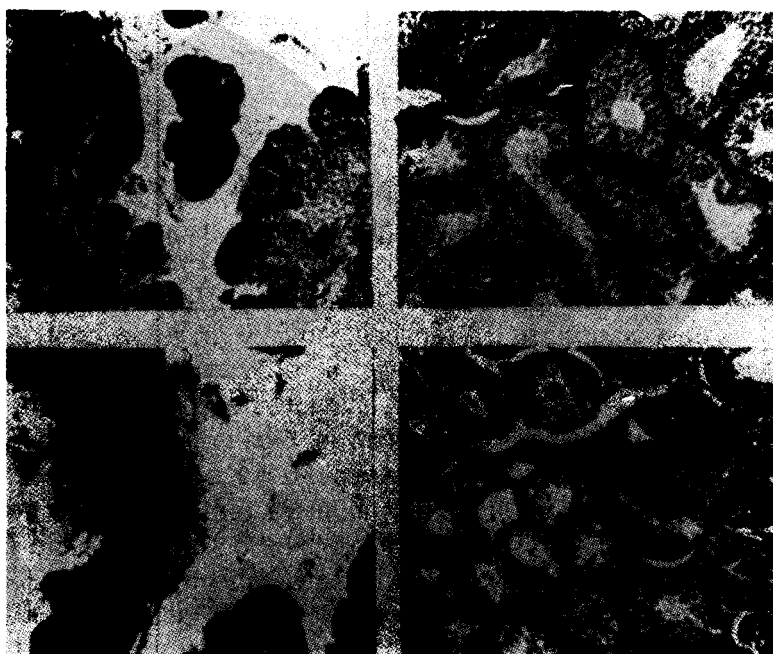


*FIGURA Nº 2.-Evolución histológica del timo (a la izquierda) y del testículo (a la derecha) en el cobayo.
De arriba hacia abajo. Foto 4. Involución de segundo grado. Foto 5. Cobayo viejo.*

sólo encuentra un número muy reducido de estos corpúsculos en los cobayos de 100 a 390 g (Foto 2).

Los primeros signos de involución tímica pueden ser percibidos en los cobayos de 400 g cuya edad pasa los 4 meses, pero por regla general, la involución tímica sólo comienza en los animales que hayan sobrepasado este peso. En este caso, encontramos un aumento moderado de la zona intersticial que se encuentra copiosamente infiltrado por linfocitos. La estructura del parénquima está, sin embargo, bien conservada y la delimitación entre la cortical y la medular es clara. En las figuras, esta involución es considerada como incipiente (*II*). Cuando hay lesiones del parénquima, se consideran como involución de primer grado (*I.I.*). Estos signos son señalados, al principio, por irregularidades de la cortical que se hace más estrecha en algunos sectores de los círculos lobulares, llegando incluso a desaparecer y dejando llegar la medular hasta la superficie. En este estado, los corpúsculos de Hassall comienzan a disminuir, pero se encuentran todavía algunos que miden 100 μ de diámetro. El tejido intersticial aumenta, pero la infiltración linfocitaria es poco a poco substituida por tejido grasoso (Foto 3).

En el transcurso del segundo año de vida, la reducción del parénquima se acentúa aún más, el tejido intersticial se torna casi exclusivamente grasoso y aumenta considerablemente; ocupa la tercera parte o la mitad del órgano; las infiltraciones linfocitarias prácticamente desaparecen. La substancia cortical disminuye progresivamente y muestra, en las partes que quedan, una profunda segmentación. La delimitación entre la cortical y la medular ya no es tan marcada y en ciertos lugares ya no se puede reconocer la estructura típica del parénquima. Los corpúsculos de Hassall se hacen más raros y su diámetro se reduce. Este estado es considerado como involución de segundo grado (*I.II*) (Foto 4).

En los animales con algunos años de edad, la involución sigue progresando respetando solamente algunos islotes del parénquima, mientras que el tejido grasoso ocupa las tres cuartas partes del órgano (*I.III*) (Foto 5).

En las hembras, el cuadro es el mismo, pero la involución es más precoz: hemos estudiado hembras con un año de edad

aproximadamente, cuya involución tímica debía ser clasificada en segundo grado, mientras que los machos de la misma edad sólo presentan la del primer grado. Esta diferencia sexual de involución corresponde también a una disminución más marcada del peso del timo en las hembras viejas.

B. Testículo

El peso de los testículos aumenta del nacimiento a las edades más avanzadas: en el recién nacido, el peso es de 38 mg (los dos); en el adulto de 400 g, 2 400 mg y en el viejo de 800 g, pesan 4 700 mg.

El peso relativo aumenta de 1,08 por diez mil en el recién nacido a 6 por diez mil en el adulto de 400 g y 7,66 por diez mil en el animal de un año de edad (600 g). Solamente, en un animal muy viejo de 800 g fue observada una disminución relativa de 5,87 por diez mil g.

En los primeros días que siguen al nacimiento, los canalículos seminíferos tienen un diámetro de 25 μ . Estos canalículos no tienen luz; los epitelios son formados por una sola capa celular. Las mitosis son poco frecuentes. Numerosas "células intersticiales" se encuentran entre los canalículos. (Foto 1, Figura N° 2).

En un animal con 23 días de edad, el diámetro de los canalículos llega a 80 μ . En algunas partes de ellos se observan pequeñas vacuolas, en otras, ya una luz bien diferenciada. El epitelio está todavía compuesto por una sola capa de células, pero las mitosis son numerosas y se puede decir que casi todas las células epiteliales de los canalículos están en vía de división. El diámetro de los canalículos seminales de los animales que pesan 250 g y que tienen 2 meses de edad, mide 160 μ , todos tienen la luz bien clara y el epitelio germinativo se ha transformado en todas las partes en epitelio funcional, con varias capas celulares, siendo los espermatozoides numerosos. Las capas de la base del epitelio muestran numerosas mitosis, mientras que las células intersticiales son escasas.

Hacia el 4° mes, el testículo del cobayo llega a la plenitud de su evolución: los canalículos alcanzan su diámetro definitivo

que es de 250 μ y la espermatogénesis está en toda actividad (Foto 2).

Este cuadro histológico persiste en los animales con más edad, mientras que el timo está en plena involución (Fotos 3 y 4).

Sólo en los machos viejos de mucha edad, como el que ya mencionamos y que pesa 800 g, encontramos una ligera atrofia del testículo; el diámetro de los canalículos disminuye un poco, y en algunos casos, se encuentran procedimientos regresivos del epitelio, el cual hasta llega a veces a desaparecer y ser reemplazado por una masa homogénea. En otros canalículos, encontramos una reducción de las células epiteliales con picnosis en los núcleos (Foto 5).

Sin embargo, hay que subrayar que estas lesiones son limitadas a zonas restringidas y que la mayoría de los canalículos no las tienen.

II. EVOLUCION DE LAS AUTO-PRECIPITINAS EN RELACION CON LAS GLANDULAS

Escogimos, para el primer experimento, dos cobayos, macho I y macho II, con edades de 23 días y 4 meses respectivamente. (Es el cobayo de 400 g y 4 meses el que hemos utilizado para obtener las glándulas cuya emulsión al 1% nos sirve como patrón).

Encontramos en el cobayo joven un timo funcional y un testículo infantil y en el otro, un testículo en pleno funcionamiento y un timo que no ha entrado todavía en involución, hecho que nos revela el estudio histológico de la glándula. Las auto-precipitinas fueron en el cobayo infantil de 1/30 000 para el timo y 1/20 000 para el testículo. Las del cobayo adulto fueron de 1/20 000 para el timo y 1/500 000 para el testículo.

Sin considerar por el momento algunos experimentos intercalados, detengámonos para estudiar los cobayos:

Macho 6, de 360 g, cercano a la pubertad,

Macho 7, de 400 g, adulto normal y

Macho 8 de 500 g, cuya edad sobrepasa el año.

Las auto-precipitinas del cobayo casi púber son: 1/100 000 para el timo y 1/75 000 para el testículo.

El de 400 g da: 1/100 000 para el timo y 1/200 000 para el testículo, mientras que el cobayo viejo precipita el timo a 1/200 000 y el testículo a 1/750 000.

Si consideramos ahora las hembras, vemos que la 3, de 200 g, con 45 días de edad, precipita timo a 1/75 000 y ovario a 1/50 000 mientras que la hembra 4, multípara, en reposo sexual de más de tres meses y cuyo peso es de 480 g, precipita timo a 1/150 000 y ovario a 1/200 000.

Estos experimentos, al igual que muchos otros, nos muestran que las precipitinas anti-tímicas en el período prepuberal son las que muestran el título más alto; pero a partir de la pubertad, este lugar lo ocupan las anti-gonádicas; sin embargo, a pesar de este desplazamiento, las precipitinas anti-tímicas aumentan todavía durante cierto tiempo, pero si en la época prepuberal no se pueden atribuir las precipitinas anti-tímicas a las anti-gonádicas, porque éstas aún no aparecen, no se puede decir lo mismo cuando éstas últimas aparecen y sobrepasan todas las demás; en ese momento se hace difícil, para no decir imposible, definir cuáles son las precipitinas propias del timo y qué papel hay que atribuir a las precipitinas sexuales en su aumento.

En el Cuadro N° 1, resumimos, a grandes rasgos la evolución del timo y de las gónadas en el cobayo, en diferentes edades, así como la evolución de las auto-precipitinas respectivas.

III. VALORES RELATIVOS DE LOS TITULOS DE LAS PRECIPITINAS

Es muy natural que la tasa de precipitinas del suero aumente a medida que el órgano se desarrolla; el ejemplo más típico es dado por las precipitinas anti-testiculares. Estas empiezan a tomar importancia cierto tiempo después de la aparición de la espermatogénesis y, sin embargo, no hay que considerar las células que condicionan los caracteres sexuales secundarios como base del antígeno; estos hechos son muy claros en los gallos, pero lo que nos interesa por el momento es tratar de interpre-

CUADRO Nº 1.—Auto precipitinas anti-tílmicas y anti-gonádicas en relación con la edad y el peso de las glándulas y de los cobayos.

< = Títulos de precipitinas menores de 1/20 000

Número del animal y sexo	Edad	Peso en gramos	TIMO			TESTICULO-OVARIO				
			Peso absoluto mg	Peso relativo por diez mil	Involución	Auto-precipitinas	Peso absoluto mg	Peso relativo por diez mil	Diámetro de los canaliculos seminíferos	Auto-precipitinas
21 macho	1 día	35	80	2,28	0	<	38	1,08	25	<
1 macho	23 días	200	—	—	0	1/30 000	452	2,26	80	1/20 000
3 macho	60 días	250	200	0,80	0	1/25 000	1 300	5,20	160	1/20 000
4 macho	63 días	310	320	1,03	0	1/100 000	1 320	4,26	180	1/50 000
6 macho	3 meses	360	300	0,83	0	1/100 000	1 500	4,16	200	1/75 000
7 macho	4 meses	400	310	0,77	I	1/100 000	2 400	6,00	200	1/250 000
2 macho	4 meses	400	—	—	0	1/200 000	2 336	5,84	200	1/500 000
10 macho	1 año	500	300	0,60	I	1/200 000	2 650	5,30	250	1/250 000
14 macho	Más de 1 año	600	205	0,34	II	1/250 000	4 600	7,66	250	1/750 000
11 macho	Varios años	800	100	0,12	III	1/100 000	4 700	5,87	200	1/500 000
13 hembra	3 días	80	160	2,00	0	<	15	0,18	—	<
3 hembra	45 días	200	226	0,13	0	1/75 000	50	0,25	—	1/50 000
4 hembra	1 año	480	190	0,39	II	1/150 000	90	0,18	—	1/200 000
5 hembra	Más de 1 año	520	160	0,30	II	1/200 000	105	0,20	—	1/250 000

tar el significado del aumento de las precipitinas anti-tímicas, cuando el timo entra en regresión.

Si consideramos que las aglutininas y precipitinas experimentales pueden ser, a la vez, específicas y "de grupo", a la hora de la inmunización por diversos antígenos, es lógico considerar las precipitinas anti-glándulas endocrinas como constituidas por la unión de las precipitinas propias al órgano y de las que corresponden a las otras glándulas endocrinas. Se sabe, por otra parte, que cuando se aumenta la tasa de un anticuerpo experimental, por inyección de un antígeno heterólogo, se percibe un aumento de anticuerpos que aparentemente existían en el animal y que se produce una sinergia de anticuerpos por "desviación jerárquica". Este fenómeno debe producirse en forma parecida en el caso de las precipitinas anti-tímicas que estarían reforzadas sinérgicamente por las precipitinas anti-testiculares aparecidas nuevamente; es por esto que no debemos tener en cuenta las cifras que alcanzan las precipitinas anti-endocrinas para juzgar su valor real, pero sí, debemos tener en cuenta los valores relativos comparando las tasas de precipitinas de unas con otras. Es así, por ejemplo, con base en los datos del Cuadro N° 1, que podemos decir que si tomamos las precipitinas anti-testiculares infantiles como unidad, las precipitinas anti-tímicas son igual a 1 en el momento de nacer, de 5 en la pubertad y que este número se mantiene durante la edad adulta para subir sinérgicamente a 10 durante la vejez. En relación con las precipitinas anti-testiculares, habría que decir que ellas evolucionan de la misma manera que las anti-tímicas hasta la pubertad, pero que aumentan seguidamente para llegar progresivamente hasta 35 en la vejez. En las hembras, la evolución prepuberal sería comparable a aquella de los machos, pero las precipitinas anti-ovarianas post-puberales no subirían más que a 10 y no presentan, por lo tanto, ninguna diferencia cuantitativa en relación con las precipitinas anti-tímicas. Más adelante veremos que esto se debe a la dualidad hormonal alternativa del ovario.

IV. VARIACIONES DEL "HAPTENO" PRECIPITABLE SEGUN LA EDAD DE LA GLANDULA

El aumento constante y progresivo de las auto-precipitinas, de acuerdo con la edad del animal, puede ser debido a:

1. El simple aumento de las tasas de las precipitinas séricas;
2. La hipersensibilización progresiva de las glándulas;
3. Un doble fenómeno simultáneo.

Es por esto que en cada experimento hemos introducido un cobayo macho de 400 gramos para tener su suero y los antígenos suministrados por sus glándulas, de manera que podamos establecer las precipitinas cruzadas. Veamos un primer ejemplo en relación con los cobayos machos 1 y 2, cuyas auto-precipitinas se presentan en el Cuadro N° 1.

El suero de cobayo de 200 gramos precipita su propio timo y timo de cobayo de 400 gramos a 1/30 000 y testículo de uno u otro a 1/20 000.

Si tomamos ahora el suero de cobayo de 400 gramos, vemos que éste precipita el timo de cobayo joven y el propio a 1/200 000, pero mientras que la precipitación del testículo adulto es obtenida a 1/500 000, ese suero sólo precipita testículo infantil a 1/100 000. Estas cifras nos muestran que hay una equivalencia antigénica entre el timo de los cobayos, pero vemos también que el suero infantil no puede establecer diferencias entre el testículo infantil y el testículo funcional ya que está exento de las precipitinas para este último. Por otra parte, hay que notar que la emulsión de testículo infantil es precipitada por el suero de adulto a una dilución cinco veces mayor que aquella con suero infantil. Como consecuencia de esto, en el testículo de cobayo de 200 gramos comienza ya a aparecer el antígeno precipitable; por lo tanto éste existe en el animal antes de la aparición de las precipitinas correspondientes. En otros cobayos de mayor edad, la aptitud a la precipitación se desarrolla mucho más y la espermatogénesis se nota antes de la aparición de precipitinas en su propio suero. Las precipitinas se suceden siempre al funcionamiento del órgano, jamás lo preceden.

Seguidamente, resumimos estas cifras:

El suero de cobayo macho 1 de 200 g precipita	El suero de cobayo macho 2 de 400 g precipita
Timo de 200 g a 1/30 000	Timo de 200 g a 1/200 000
Timo de 400 g a 1/30 000	Timo de 400 g a 1/200 000
Testículo de 200 g a 1/20 000	Testículo de 200 g a 1/100 000
Testículo de 400 g a 1/20 000	Testículo de 400 g a 1/500 000

Si consideramos ahora las hembras, observamos que es lo mismo. Vamos a resumir las cifras concernientes a las hembras 3 y 4, que figuran también en el Cuadro N° 1, destacando que la 4 presenta ya una involución de segundo grado del timo.

El suero de cobayo hembra 3 de 200 g precipita	El suero de cobayo hembra 4 de 400 g precipita
Timo de 200 g a 1/75 000	Timo de 200 g a 1/150 000
Timo de 480 g a 1/50 000	Timo de 480 g a 1/150 000
Ovario de 200 g a 1/50 000	Ovario de 200 g a 1/50 000
Ovario de 480 g a 1/100 000	Ovario de 480 g a 1/200 000

Hay que notar que la aptitud precipitable del ovario se desarrolló más tardíamente que la del testículo y que este retraso se traduce en una aparición tardía de las precipitinas, lo que coincide con la menor precocidad genital de las hembras en comparación con los machos de la misma edad.

Si ponemos a prueba ahora un mismo suero con antígenos de glándulas provenientes de animales cada vez mayores, observamos que los antígenos son mucho más fácilmente precipitables si el animal donador es más viejo. Es así como:

Suero de cobayo de 310 g precipita	Suero de cobayo viejo de 500 g precipita
Testículo de 250 g a 1/30 000	Testículo de 360 g a 1/500 000
Testículo de 310 g a 1/50 000	Testículo de 400 g a 1/500 000
Testículo de 400 g a 1/100 000	Testículo de 500 g a 1/750 000

De acuerdo con lo que acabamos de ver, parece que las precipitinas, aunque obstaculizan, no impiden el desarrollo y el crecimiento de ciertos órganos como por ejemplo el testículo de cobayo y de otros animales. Los tejidos, lejos de volverse refractarios a las propiedades precipitantes del suero, parecen hipersensibilizarse y encontrarse en un estado alérgico similar al de los tejidos tuberculosos. El órgano se encontraría, por así decirlo, entre dos caminos: uno que conduce a la involución, dado el aumento continuo de las auto-precipitinas. La otra vía es aquella de una multiplicación progresiva de las células; las células nuevas, por su fuerza juvenil, pueden llegar a un desarrollo funcional, pero la hipersensibilización progresiva les impediría habituarse y multiplicarse excesivamente, y es así como la hipersensibilización a las auto-precipitinas permanece como una huella de la edad que es testimonio de la vejez del órgano. Las auto-precipitinas que aumentan y las células que se hipersensibilizan, constituyen probablemente factores que condicionan la disminución progresiva del crecimiento de los órganos.

IV. ESPECIFICIDAD DE LAS PRECIPITINAS

Para no complicar la exposición de los hechos, vamos a considerar por el momento que el suero de cobayo no contiene más que precipitinas anti-tímicas y anti-gonádicas e intentar el análisis de ciertos experimentos con el objeto de hacer resaltar lo que hay de específico y lo que hay que considerar como "de grupo", en el complejo de las precipitinas séricas anti-endocrinas:

A. Precipitinas características del sexo

Tomemos el caso del macho 13 y la hembra 4, animales de igual edad y cuyo peso es de 480 gramos. El suero del macho precipita la emulsión testicular a 1/500 000 y la de ovario solamente a 1/100 000. El suero de la hembra precipita, por el contrario, el ovario a 1/200 000 y el testículo a 1/100 000. Otras veces, las diferencias para las precipitinas propias del sexo son todavía más marcadas, pero la diferencia de simple a doble es

la más frecuente, mientras los órganos empleados como antígeno estén en período funcional, ya que los órganos infantiles reaccionan a los sueros sin establecer diferencias para el sexo de los animales proveedores del suero.

B. Precipitinas anti-tímicas independientes de las precipitinas anti-gonádicas

Los sueros de estos mismos cobayos no señalan diferencias al precipitar timo proveniente ya sea del macho, de la hembra, o de un animal sexualmente no maduro. El Cuadro N° 2 nos muestra las diferentes cifras correspondientes a estas precipitinas.

El análisis del Cuadro N° 2 nos permite observar la independencia relativa que guardan entre sí las precipitinas anti-tímicas, las anti-testiculares y las anti-ovarianas en cuanto a sus títulos respectivos. Agreguemos que el suero de un macho viejo N° 11, cuyo timo está en plena involución y en el cual hay un comienzo de involución testicular, precipita timo de un macho adulto normal de 400 gramos a 1/200 000 mientras que las auto-precipitinas anti-tímicas solo son de 1/100 000, aunque las anti-testiculares suben todavía a 1/500 000.

CUADRO N° 2.—Precipitinas anti-tímicas y anti-gonádicas de cobayos de edad y sexo diferentes.

ANTIGENOS	Suero de macho 180 g 13	Suero de hembra 480 g 4	Suero de hembra 200 g 3
Timo macho de 480 g	1/200 000	1/200 000	1/50 000
Timo hembra de 480 g	1/200 000	1/150 000	1/75 000
Timo hembra de 200 g	1/200 000	1/150 000	1/50 000
Testículo macho de 480 g	1/500 000	1/100 000	1/50 000
Ovario hembra de 480 g	1/100 000	1/200 000	1/100 000
Ovario hembra de 200 g	1/50 000	1/50 000	1/50 000

Por otro lado, el timo de cobayo recién nacido muestra ya propiedades "hapténicas" para ser precipitado, lo que contrasta con la no precipitabilidad, en números que sobrepasan 1/20 000, para testículo.

Es para nosotros un hecho indudable que las auto-precipitinas siguen por curvas paralelas, la evolución de las glándulas correspondientes y si es cierto que las precipitinas anti-gonádicas tienen en parte un carácter bisexual, también es cierto que machos y hembras producen hormonas de igual orden, aunque en cantidades muy variables, y si no hay separaciones marcadas entre los productos hormonales que han sido considerados como propios a cada sexo, menos se puede esperar la producción de precipitinas estrictamente específicas. Sin embargo, por el estudio de las precipitinas anti-testiculares y anti-ovarianas de un suero dado es fácil, en la mayoría de los casos, determinar el sexo del cobayo del cual proviene.

C. Absorción específica

Admitimos comúnmente que la prueba que permite demostrar la especificidad de un anticuerpo consiste en su absorción específica por el antígeno homólogo. Ensayamos esta absorción o "saturación de las precipitinas" y los resultados obtenidos son los siguientes:

1. Si en una emulsión de timo al 1% se agrega también 1% de suero y se deja 1 hora a 37°C, este suero pierde casi la totalidad de las precipitinas anti-tímicas, mientras que las precipitinas anti-gonádicas persisten, aunque disminuidas.
2. Si el suero es puesto en contacto con emulsión de testículo infantil en las mismas condiciones, constatamos que las precipitinas anti-testículo infantil son reducidas a la mitad, mientras que se pierden 80% de las precipitinas para testículo adulto, lo que deja ver que una parte de las precipitinas corresponden al órgano, pero que, por otro lado, el testículo infantil es precipitado por otras sustancias que actúan de manera similar sobre todo un grupo de órganos en vías de desarrollo.
3. El suero de cobayo, no importa la edad o el sexo, tratado por una emulsión de testículo adulto, pierde la totalidad de sus precipitinas: anti-tímicas, anti-testiculares y anti-ovarianas. No se trata de una absorción, sino de una verdadera destrucción cuyo mecanismo no hemos podido comprender.

En el Cuadro N° 3 se muestran las precipitinas de los cobayos machos y los efectos obtenidos por diversas "saturaciones" (El signo < nos sirve para designar las precipitinas cuya tasa es inferior a 1/20 000).

Algunas veces se encuentran leves aumentos de precipitinas en el momento de una "saturación", como es el caso, por ejemplo, del suero de cobayo de 200 gramos que, "saturado" por timo, precipita el testículo de adulto a 1/50 000, mientras que el suero no "saturado" lo precipita sólo a 1/30 000; si tenemos en cuenta la sangre aportada por el órgano que da el antígeno absorbente, es muy comprensible que se encuentren cifras que no calcen con los cálculos matemáticos.

La observación del Cuadro N° 3 nos muestra exactamente que el timo de un animal infantil posee un poder absorbente más marcado que el timo del adulto para las precipitinas específicas. Por el contrario, el suero del animal adulto, tratado con testículo infantil, muestra grandes diferencias con este mismo suero tratado por testículo funcional.

CUADRO N° 3.—Precipitinas de cobayos machos y efectos obtenidos por diversas saturaciones.

SUERO	Timo Cobayo de 200 g	Timo Cobayo de 400 g	Testículo Cobayo de 200 g	Testículo Cobayo de 400 g
Cobayo macho de 200 g	1/30 000	1/30 000	1/20 000	1/20 000
Cobayo macho de 400 g	1/200 000	1/200 000	1/100 000	1/500 000
Suero de 200 + Timo de 200	<	<	1/30 000	1/50 000
Suero de 200 + Timo de 400	<	<	<	<
Suero de 400 + Timo de 200	<	<	<	1/100 000
Suero de 400 + Timo de 400	1/20 000	1/20 000	1/20 000	1/100 000
Suero de 200 + Testículo de 200	<	<	1/20 000	1/20 000
Suero de 200 + Testículo de 400	<	<	<	<
Suero de 400 + Testículo de 200	1/100 000	1/100 000	1/50 000	1/400 000
Suero de 400 + Testículo de 400	1/50 000	1/50 000	1/50 000	1/50 000

V. LAS CRISIS DE PRODUCCION DE AUTO-PRECIPITINAS

Desde nuestros primeros experimentos, nos sentimos sorprendidos por la existencia de cobayos cuya tasa de precipitinas sobrepasaba en mucho lo habitual para cobayos de su edad y peso. Debido a que las emulsiones preparadas con los órganos de esos animales eran también muy sensibles a las precipitinas de otros animales, de igual o distinta especie, consideramos esas anomalías como estados patológicos y no tomamos en cuenta los resultados obtenidos con esos órganos. Fue solo al cabo de cierto tiempo que nos dimos cuenta de que se trataba siempre de machos jóvenes, cuya edad estaba comprendida entre los 2 y los 4 meses y el peso entre 300 y 400 gramos; ahora bien, esta época es justamente aquella que corresponde a la crisis puberal y se conocen los problemas orgánicos que su aparición acarrea.

El cobayo N° 5, por ejemplo, tenía precipitinas anti-testiculares de 1/1 000 000, cifra inusitada en los animales. Los cobayos N° 3 y N° 4 (cuyas precipitinas figuran en el Cuadro N° 1) tenían también espermatozoides activos, pero sólo el N° 5, de 4 meses de edad (menos 3 días) era el que presentaba la crisis humoral que sucede, como lo veremos a la primera producción de espermatozoides activos. Los cobayos machos, en esta época, mueren a menudo después de las inyecciones de glándulas endocrinas (testículo + suprarrenal) que son, sin embargo, muy bien toleradas por los machos en otras épocas, y por las hembras en todo momento.

En los cobayos hembras, no pudimos notar ninguna crisis puberal comparable a aquella de los machos, pero, durante la gravidez, las precipitinas aumentan progresivamente; es así como la hembra N° 8 precipita timo y ovario a 1/200 000. Esta hembra comienza la época gravídica y en su útero se encuentran 2 fetos de 2 centímetros. En las hembras que se acercan al momento del parto, vimos las precipitinas anti-tímicas subir a 1/2 000 000 y a 1/4 000 000 para ovario.

Las precipitinas características de la gravidez solamente se producen después de que las glándulas endocrinas maternas

entran en sobreactividad. En los casos patológicos que hemos observado en el hombre, las precipitinas aumentan para las glándulas del caso, esto es particularmente fácil de constatar en las perturbaciones tiroideas: mixedema, bocio coloide, cretinismo, etc.

VI. DIVERSIDAD DE PRECIPITINAS PARA UNA MISMA GLANDULA EN DIVERSAS FUNCIONES

Las autoprecipitinas del suero de una hembra normal múltipara, en reposo sexual de tres meses, son de 1/100 000 para timo y 1/200 000 para ovario. Este suero, "saturado" por ovario al 1%, durante 1 hora a 37°C, pierde la mitad de cada una de las precipitinas. Si tomamos el suero de una hembra al comienzo de la gravidez y procedemos a "saturar" con ovario de la misma hembra, la absorción es mayor pero no llega a los 2/3 para ovario. Por otro lado, el ovario de la hembra en estado de gravidez absorbe mejor las precipitinas del suero de hembra normal, pero jamás esta absorción es tan completa como aquella que describimos a propósito del timo. Para ovario permanece, en cada caso, una cantidad apreciable de precipitinas no absorbidas.

Dado que el ovario presenta una dualidad (no multiplicidad) alternativa de funcionamiento hormonal, hemos considerado que si el suero de hembra adulta debe contener las precipitinas correspondientes a las diversas hormonas, el ovario no debería, por el contrario, poseer más que los tejidos "hapténicos" propios ya sea de uno o de otro de los ciclos hormonales ováricos. Uno de esos tejidos podría presumiblemente estar constituido por los folículos funcionales, mientras que el otro estaría formado ya sea por cuerpos amarillos característicos de la gravidez o por el tejido intersticial en el que desaparecen los folículos atresicos y que diversos autores consideran como el foco de secreciones hormonales de gravidez.

Si tal concepto fuera justo, el suero de hembras adultas debería liberarse de todas las precipitinas anti-ovarianas por una doble "saturación" con ayuda de ovario de hembra en reposo sexual + ovario de hembra grávida. En efecto, tal absorción deja

el suero desprovisto de precipitinas anti-ovarianas aunque las anti-tímicas persisten. Mostramos en el Cuadro N° 4 las cifras obtenidas.

CUADRO N° 4.—Precipitinas anti-ovarianas.

ANTIGENO	Suero de hembra normal N° 7	Suero N° 7 + ovario de N° 7	Suero N° 7 + ovario infantil	Suero N° 7 + ovario de hembra grávida N° 8	Suero N° 7 + ovario 7 + 8
Timo	1/100 000	1/50 000	1/75 000	1/100 000	1/50 000
Ovario	1/200 000	1/100 000	1/100 000	1/50 000	<

En la hembra grávida, las precipitinas anti-ovarianas, así como las precipitinas para otras glándulas, además de la superactividad consecutiva al hiperfuncionamiento endocrino que tiene lugar en este período, están reforzadas por las precipitinas anti-embriónicas. Por este hecho, el análisis de las precipitinas por absorción específica es más complicado y en cada caso queda una cantidad considerable de precipitinas no específicas.

De acuerdo con lo que acabamos de ver, hay que tener en cuenta que los órganos con diversas funciones endocrinas pueden provocar la aparición de precipitinas múltiples en relación con las diversas actividades endocrinas y cuya especificidad relativa puede ser descubierta con ayuda de diversas absorciones, y que se puede por mezcla de órganos con diversas actividades temporales constituir una especie de antígeno sintético, capaz de absorber la totalidad de las precipitinas específicas. Hay que hacer notar, desde este momento, que para la hipófisis del cobayo, durante la crisis puberal, por lo menos, es posible constatar varias precipitinas diferentes.

VII. PERSISTENCIA DE LAS PRECIPITINAS DESPUES DE LA INVOLUCION DE LA GLANDULA

En los cobayos cuyo timo está en franca involución, las precipitinas anti-tímicas persisten en tasas muy elevadas. Para el caso de las glándulas de dualidad funcional, las precipitinas correspondientes a las diversas hormonas pueden ser descu-

biertas en el mismo suero; esta coexistencia implica persistencia después de la involución rítmica glandular. El refuerzo de los anticuerpos primitivos con aquellos de una nueva formación contribuye probablemente, lo hemos dicho ya, a mantener en tasas muy elevadas las precipitinas anti-tímicas durante la vejez. El fenómeno de "desviación jerárquica" estudiado ya para los anticuerpos experimentales, permite comprender esta homologación de precipitinas.

Para saber cuál es el destino de las precipitinas gravídicas, buscamos si hay transferencia al recién nacido. Tanto en el cobayo como en el hombre, la sangre del feto o la del cordón umbilical se muestra desprovista de ellas. En la madre, la sangre después del parto, guarda, por cierto tiempo, las precipitinas anti-endocrinas en títulos muy altos. De igual manera que la placenta es una barrera infranqueable para las hormonas de gravidez, lo es también para las precipitinas anti-glándulas endocrinas. A veces uno encuentra, de manera excepcional, cobayos recién nacidos, de crecimiento muy precoz, cuya sangre encierra ya precipitinas con tasas que sobrepasan 1/20 000; pero en esos animales los pesos de los timos y de los testículos son también mucho más altos que los normales y esas precipitinas deben ser consideradas como de formación individual en el recién nacido.

VIII. COMPARACION DE LAS PRECIPITINAS NATURALES ANTI-GLANDULARES CON LAS PRECIPITINAS EXPERIMENTALES

Para comparar las influencias específicas y no específicas de las emulsiones glandulares inyectadas al cobayo, sobre la tasa de las precipitinas, así como sobre las glándulas correspondientes, hemos iniciado investigaciones cuyos resultados serán posteriormente publicados, de los cuales podríamos adelantar, que las precipitinas anti-tímicas del suero de los animales inyectados con otras glándulas se aumentan en un grado menor que aquel obtenido para las precipitinas específicas. Por lo tanto, es correcto que el aumento de las precipitinas específicas implica un aumento de las no específicas y debemos por lo tanto consi-

derar a las precipitinas naturales como formadas a la vez por anticuerpos específicos y no específicos.

En presencia de un suero natural con precipitinas altas y de un suero obtenido en el laboratorio inyectando al cobayo emulsiones glandulares de la misma especie, somos incapaces de encontrar las diferencias.

Por otro lado, el hecho de que un suero de buey se comporte como un suero de hembra en relación con los extractos testiculares, nos muestra también la necesidad del antígeno específico para la obtención de las precipitinas. Esta especificidad, correctamente entendida, debe ubicarse en el amplio sentido de la palabra, pues si una hormona puede ser transformada en otra hormona con mucha más razón una precipitina debe presentar un cierto margen de posibles modificaciones; es por esto que hemos considerado ciertos productos glandulares como "haptenos" o antígenos incompletos.

Antes de terminar, queremos manifestar nuestra gratitud al Sr. L. Bolaños, asistente de nuestro laboratorio, quien nos ha ayudado constantemente en las manipulaciones.

CONCLUSIONES

1. El suero de los cobayos posee precipitinas anti-tímicas desde los primeros días. El timo se encuentra entonces en plena evolución.
2. Después de la maduración de las gónadas, aparecen en la sangre las precipitinas correspondientes.
3. La absorción por los antígenos específicos muestra la independencia relativa de las diversas precipitinas.
4. Todas las precipitinas aumentan con la edad al mismo tiempo que se hipersensibilizan los órganos.
5. La crisis puberal en el macho y la gravidez producen problemas humorales que se traducen en un aumento inusitado de precipitinas.

6. Las precipitinas anti-endocrinas de la gravidez no atraviesan la placenta.
7. Las precipitinas persisten en el suero aún después de la involución del órgano correspondiente.
8. Las precipitinas anti-endocrinas pueden ser consideradas como un complejo formado por anticuerpos naturales específicos y no específicos.

BIBLIOGRAFIA

Picado C.—*Synergie d'anticorps par "déviacion hiérarchique"*. Ann. Inst. Pasteur, 1936, t. 56, p. 186.

——— *Evolution des précipitines normales "anti-glandes endocrines" en relation avec l'âge et l'espèce animal*. C. R. Soc. Biol., 1936, p. 528.

——— *Considérations préliminaires sur les précipitines anti-glandes endocrines du sérum humain dans leur ensemble*. C. R. Soc. Biol., 1936, t. 121, p. 1146.

Picado C. et Rotter W.—*Précipitines anti-glandes endocrines et longévité chez quelques espèces de vertébrés*. C. R. Soc. Biol., 1936, t. 123, p. 869.

——— *Précipitines sériques anti-thyroïdiennes chez les goitreux*. C. R. Soc. Biol. 1936, t. 123, p. 1111.

GRUPOS SANGUÍNEOS

Dos nuevas técnicas útiles para la América Latina

Nada más simple y práctico para determinar los grupos sanguíneos que el método de Beth-Vincent; nada más cómodo que tener a mano capilares de sueros aglutinantes de los diversos grupos, y en caso de duda nada más simple que telefonar a la casa que vende los capilares preguntando en qué estado de conservación se encuentran los sueros que usamos, bastando para ello, en la casi totalidad de los casos, recordar el número de orden correspondiente a la cajetilla que empleamos. Todo marcha a pedir de boca si es que estamos en una de las grandes ciudades europeas o americanas. Muy otra es la situación de los modestos laboratorios de las pequeñas ciudades, y peor aún la de los médicos aislados. Aunque se tengan capilares de sueros aglutinantes suministrados por una casa responsable, no se sabe en un momento dado si están buenos o no, y no hay a quién telefonar preguntándoselo. Además, dado caso de haberse agotado su existencia, se queda en la necesidad de buscar gentes de grupo sanguíneo conocido para obtener de ellas un poco de suero y aun en este caso, no se sabe cuáles son las propiedades aglutinantes del suero que se extrae, ni si es de título bajo o anormal en algún concepto.

Es decir, que vivimos en absoluta dependencia de las casas suministradoras de los sueros aglutinantes tipo.

Ahora bien, las dos técnicas que vamos a describir tienden a libertarnos de tal dependencia y en un momento dado, validos de nuestros propios medios, hacer las clasificaciones sanguíneas que toda transfusión necesita previamente. Ambas están basadas en las condiciones cualitativas y cuantitativas de las fórmulas sanguíneas en nuestros pueblos indoamericanos, y

huelga por tanto decir que estas técnicas no son útiles para Europa, Asia, Africa o Estados Unidos.

I. LA DETERMINACION EXTEMPORANEA DE "DONANTES UNIVERSALES"

Los que se han ocupado de las transfusiones sanguíneas las dividen en "quirúrgicas" y "médicas". Aunque para el léxico las denominaciones no sean muy afortunadas, lo cierto es que ellas deslindan claramente las transfusiones de urgencia para reparar las pérdidas por hemorragias agudas de orden accidental de aquellas otras transfusiones que persiguen, sea la reparación hemática en anemias crónicas, sea el aporte al receptor de elementos que le faltan, sean estos anticuerpos, hormonas, trefonas o multitud de otros elementos de autorregeneración catalítica pero que requieren el aporte de elementos sanguíneos en equilibrio normal y que son los que suministra el donador.

Para las transfusiones llamadas *quirúrgicas*, la rapidez de ejecución juega el principal papel en el éxito y, a falta de un donador conocido de mismo grupo sanguíneo, no hay que titubear en echar mano a un *donador universal*.

Si hacemos una mezcla por partes iguales de 30, o más sueros, de los que quedan en los laboratorios como residuo de los empleados en las reacciones de Wassermann, etc., obtenemos un suero que *deja sin aglutinar única y exclusivamente a los glóbulos de los "donadores universales"*. Ahora bien, como se trata de residuos que han de perderse y como estos sueros pueden conservarse por varios meses en nevera, si se les añade la décima parte de su volumen de ácido fénico al 5%, aún sin condiciones de asepsia, ello significa que nuestros laboratorios tienen siempre un material excelente e insuperable para *determinar con una sola prueba los "donadores universales" con mayor seguridad que empleando los sueros tipo que nos llegan del extranjero*.

Los médicos aislados pueden paulatinamente irse procurando la mezcla y para ello basta fenicar y guardar los sueros que vayan teniendo a mano.

Como en nuestra América Latina hay más de la mitad de personas que pertenecen al grupo IV de Moss o "donadores universales", la técnica simplísima que describimos resuelve por lo menos 75% de los casos pues hay más de 50% de probabilidades de que el receptor sea también del mismo grupo IV y aunque no lo fuese, si hay urgencia de transfusión, siempre podrá recibir la de un donador universal.

Para los otros casos que no son de urgencia, habrá siempre, no solamente que determinar cuidadosamente el grupo a que pertenecen receptor y donador, para escogerlos entre ellos mismos, sino verificar adecuadamente las compatibilidades sanguíneas por la prueba directa, hecha por persona suficientemente experimentada. Son muchos los casos de accidentes, mortales a veces, que suceden a una transfusión en que se ha omitido el requisito apunfado y conocemos estadísticas en que pasan de centenares las muertes causadas por emplear para transfusión una persona cualquiera que haya sido catalogada bajo la rúbrica engañosa de "donador universal" y cuya sangre es a veces tan nociva al receptor de otro grupo como si fuese veneno de culebra.

La superabundancia de personas cuya sangre pertenece al grupo IV y la existencia de los grupos II y III junto con la rareza del grupo I es también lo que permite en nuestra América, la obtención del suero Panaglutinante mediante la mezcla de sueros de residuo. En Europa y Estados Unidos una mezcla así constituida dejaría de aglutinar no solamente los glóbulos IV sino los II y en muchos lugares de Asia los IV y los III.

II. DETERMINACION NOMINAL DE LOS SUEROS "PATRON"

Con la técnica ya descrita podemos determinar las personas cuya fórmula sanguínea es del grupo IV, y además, algo menos de un 50% cuyos glóbulos son aglutinados pero cuya denominación desconocemos.

A) Practiquemos las aglutinaciones cruzadas entre estos glóbulos y los sueros respectivos.

Así obtenemos:

1. Sangres que se aglutinan recíprocamente y que deben ser las unas del grupo II y las otras del grupo III sin que nos sea dado saber cuáles son las de un grupo y cuáles las del otro.
2. Sangres cuyos glóbulos se aglutinan por los dos sueros anteriores pero que no aglutinan los glóbulos de esos sueros: estamos en presencia del grupo I de Moss y cuyo suero carente de aglutininas no es útil para nosotros.

B) Tomemos una mezcla de sueros del grupo IV, (preferible que hubiesen sido fenicados y que tengan unos cuatro días de conservación). Diluyamos esta mezcla con cinco volúmenes de agua de sal al 9 por mil (15 gotas de agua 3 gotas de suero) y aglutinemos con ella los glóbulos de sangres que tienen aglutininas recíprocas y veamos cuáles glóbulos comienzan a ser aglutinados. Estos son del grupo II.

Si todos los glóbulos (2 de un grupo y 2 del otro, al menos), se aglutinan a la vez, ello quiere decir que debemos diluir los sueros IV no al 1/6 sino al 1/12 y repetir la prueba. Si no se aglutina ninguno el suero por débil debe ser desechado.

La base de la determinación nominal de los sueros II y III (cuya determinación sin glóbulos o sueros patrón no era posible hasta ahora, según nuestros conocimientos), es la siguiente: nuestros sueros del grupo IV, que es el indígena primitivo, tienen muy desigualmente repartidas las aglutininas alfa y beta, siendo así que las alfa sobrepasan en mucho a las beta, y cuando diluimos los sueros llega un momento en que sólo actúan las aglutininas alfa es decir, se convierte prácticamente en un suero III que aglutina solamente los glóbulos II y deja intactos los III.

Basta ahora fenicar y etiquetar los sueros y hénos ya provistos de los sueros aglutinantes IV-III y II que en un simple tubo tapado con corcho puede por varios meses conservarse en nevera sin que pierda sus propiedades aglutinantes.

Podemos pues, para la determinación de los grupos sanguíneos, bastarnos a nosotros mismos y en vez de arrojar los sueros que nos sobran, utilizarlos y tener los medios a cada instante de verificar las determinaciones de grupo para transfusiones u otros fines sin depender de nadie.

No olvidemos, sin embargo, que es una técnica de *América para los Americanos*.

(Trabajo del Hospital San Juan de Dios)

Picado Twight, Clodomiro y Rotter, W. *Précipitines anti-testiculaires chez le pigeon mâle*. Nota de C. Picado y W. Rotter, presentada por M. Weinberg. *Comptes rendus des séances de la Société de biologie*. 127 : 1096-1097, 1938.

PRECIPITINAS ANTI-TESTICULARES EN EL PALOMO

C. Picado T.
W. Rotter

En nuestro trabajo anterior¹ mostramos que las precipitinas anti-testiculares específicas sólo aparecen en el suero en títulos considerables, después de la pubertad; esto lo pudimos constatar no sólo en el cobayo, sino también en el conejo, el gallo y el hombre.

En los animales castrados, el suero precipita inespecíficamente el jugo testicular pero en niveles inferiores a aquellos que muestran las precipitinas que corresponden a otras glándulas endocrinas, timo e hipófisis, particularmente. En los pollos castrados en forma incompleta, las precipitinas anti-testiculares se mantienen en títulos muy bajos, tanto así que el ave no presenta sus características de macho: desarrollo de la cresta, combatividad y canto, aún cuando las precipitinas suban a tasas comparables a aquellas de los gallos. Algunas veces el aumento de las precipitinas no se presenta sino al cabo de un año o más, después de la castración, y la autopsia muestra que los nódulos testiculares de regeneración, con espermatogénesis abundante, pesan entre 1,50 y 2 g. Al retardo del desarrollo sexual corresponde un retraso en la aparición de precipitinas anti-testiculares.

Las precipitinas anti-testiculares de los animales con espermatogénesis constante se mantienen con títulos comparables, durante varios meses. Así lo pudimos comprobar en el hombre, el conejo y el gallo.

En el palomo hay una alternancia de períodos de actividad sexual seguidos de períodos de reposo durante la incubación. Además, en estas aves, las precipitinas anti-testiculares son por lo general muy bajas y su título muestra fluctuaciones periódicas aunque los ascensos y descensos de la curva de las precipitinas no pueda superponerse a aquella de las épocas de espermato-

génesis; la rapidez con la que se suceden estas últimas no ofrece a veces el tiempo suficiente al organismo para liberarse de las precipitinas que provienen de la actividad precedente; sin embargo si seguimos con un mismo macho, se observa que existen variaciones de simple a doble: 1/75 000 y un mes después 1/150 000 por ejemplo.

Si preparamos emulsiones testiculares de palomo en reposo sexual (R), de palomo en actividad (A), de pollo (P), y de gallo (G) y si dosificamos las precipitinas correspondientes en el suero de los animales proveedores del antígeno, se obtiene:

- Suero de palomo en reposo: precipita R a 1/150 000; A, a 1/200 000; P, a 1/100 000; G a 1/150 000.
- Suero de palomo en actividad: precipita R, a 1/150 000; A, a 1/400 000; P, a 1/100 000; G, a 1/400 000.
- Suero de gallo: precipita R, a 1/250 000; A, a 1/600 000; P, a 1/500 000; G a 1/750 000.
- Suero de pollo: precipita los diversos antígenos alrededor de 1/200 000.

Es decir, que los palomos en reposo sexual son comparables, tanto por sus precipitinas séricas como por las cualidades antigénicas de su testículo, a un pollo impúber,

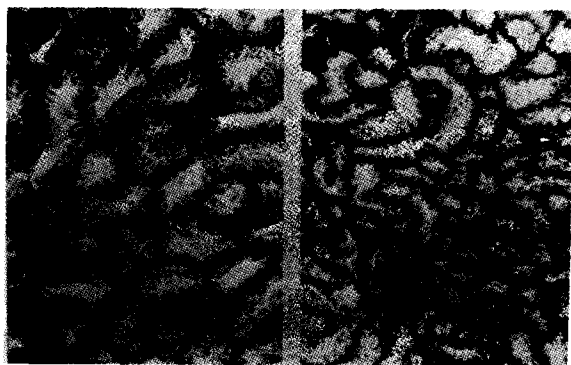


FIGURA Nº 1.—*Testículo en actividad (izquierda) y testículo en reposo usados como antígeno.*

mientras que los palomos en actividad sexual son comparables a un gallo; además, los cortes histológicos (Figura N° 1) muestran una correlación total con los datos obtenidos con la dosificación comparada de las precipitinas.

CONCLUSIONES

1. En los palomos las precipitinas antigonádicas presentan un carácter ondulante al igual que las espermatogénesis.
2. El testículo en reposo proporciona un antígeno poco sensible, mientras que el testículo en espermatogénesis da una emulsión cuya sensibilidad es muy grande.

(Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica)

NOTA

1. Rev. franc. d' endocrinologie, 1937, t. 15, p. 173.

Picado Twilight, Clodomiro y Rotter, W. *Precipitines anti-testiculaires chez l'oie mâle*. Nota de C. Picado y W. Rotter presentada por M. Weinberg. *Comptes Rendus des séances de la Société de biologie*. 127 : 1098 - 1099, 1938.

PRECIPITINAS ANTI-TESTICULARES EN EL GANSO

C. Picado T.
W. Rotter

En nota anterior¹ mostramos que el palomo presenta precipitinas anti-testiculares con carácter ondulante, es decir, de igual tipo que la espermatogénesis de esas aves. La usurpación de diversos períodos de incubación, así como una cierta irregularidad de altos y bajos de los títulos de precipitinas en los diversos individuos, no nos ha permitido superponer las curvas de las precipitinas anti-testiculares con aquellas de las épocas de postura, seguidas en los machos por un período de reposo testicular.

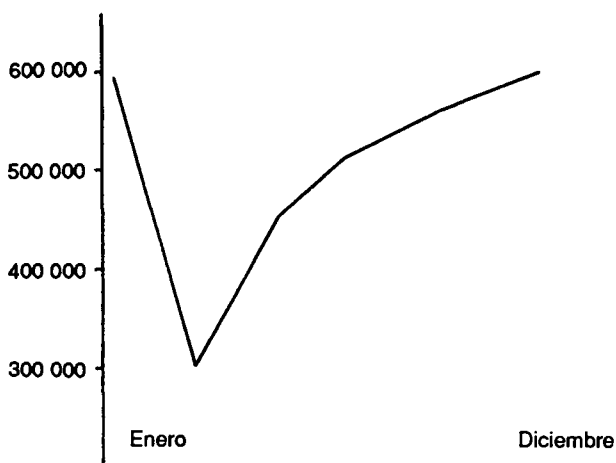
En el ganso como es sabido, existe una sola expulsión espermatogénica anual, que en nuestras regiones corresponde en general al mes de noviembre.

Seguimos la curva de precipitinas de un lote de gansos durante los meses de julio a diciembre de 1936 y pudimos observar que el promedio de precipitinas anti-testiculares de 4 machos de 7, 14, 17 y 17 años aumentaba progresivamente hasta la época de postura. No pudimos continuar el estudio de las precipitinas séricas con este mismo lote porque el nuevo propietario no nos lo permitió. Comenzamos a seguir un nuevo lote compuesto también por 4 machos a partir del mismo mes de diciembre de 1936 hasta diciembre de 1937. Encontramos que hay una caída brusca de las precipitinas hasta la primavera del Hemisferio Norte; en el mes de mayo las precipitinas van en aumento poco a poco hasta la época de apareamiento (curva adjunta).

Estos hechos nos hacen sospechar que a pesar del aparente reposo sexual del ganso, debe haber algún producto hormonal gonádico cuya secreción comienza poco después del apareamiento y que esta secreción cuya naturaleza ignoramos,

provoca la aparición de precipitinas séricas. La maduración testicular no será por lo tanto un fenómeno comprendido en los últimos meses, sino más bien un fenómeno que comienza en primavera como en la mayoría de los animales en su celo anual y que en los gansos por su extrema lentitud no conduce más que al apareamiento de invierno al final del año.

Además, hay que agregar que en los machos jóvenes las oscilaciones de las precipitinas anti-gonádicas durante el año tienen una amplitud mucho más grande que en los machos viejos, en éstos últimos hay como de costumbre el aumento anual pero la caída de precipitinas parece ser menor con el paso de los años. En algunos machos las fluctuaciones son poco perceptibles y el gráfico que presentamos a continuación es un promedio resultante del estudio de 8 machos continuado durante 18 meses.



Curva promedio de las precipitinas anti-testiculares del ganso durante el año.

CONCLUSIONES

En el ganso las precipitinas anti-testiculares presentan un tipo ondulante con periodicidad anual cuya curva se puede sobreponer a aquella de las actividades sexuales.

(Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica)

NOTA

1. C. R. de la Soc. de Biol. 1938, t. 127, p. 1096.

Picado Twight, Clodomiro. *Etude expérimental du venim de Lethocerus del - pontei* (De Carlo) (hémiptère belastomide). Volume jubilaire Maurice Caullery. Paris : Les Presses Universitaires de France, 1938. pp. 553-565.

ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL VENENO DE *LETHOCERUS DEL-PONTEI* (DE CARLO) (HEMIPTERO BELASTOMIDEO)

La conformación bucal de los hemípteros no les permite tomar otro alimento que no sea aquel que ellos puedan aspirar en forma líquida. Son parásitos típicos de las plantas y de los animales; en los primeros provocan anomalías del crecimiento que pueden a menudo conducir a la formación de "tumorciones"; en los animales producen picaduras venenosas. Es la saliva irritante de las chinches lo que las hace tan temibles.

Gran parte de los zooparásitos del orden está constituida por dermoparásitos así como por hematófagos, pero las "chinches de agua": *Nepa*, *Ranatra*, etc., persiguen las larvas de otros insectos y aún los renacuajos y alevines cuando la ocasión es propicia.

Ahora bien, tanto en Africa como en América encontramos los belastomídeos, que son los gigantes del grupo, que alcanzan a menudo tallas de 10 centímetros. En Costa Rica se encuentran diversas especies de las cuales *Lethocerus del-pontei* es conocido bajo la denominación de **cucaracha del diablo** ("Cafard du diable"). Este hemíptero vuela durante la noche y es atraído por las luces de la ciudad. Durante el día permanece escondido entre las hierbas de los riachuelos. Su fuerza —que es muy grande—, ayudada por un veneno muy activo, transforma a estos animales en verdaderos predadores que causan estragos entre los peces y las ranas. Estos insectos, al igual que las serpientes, paralizan su presa inoculándoles un veneno muy activo, y como en las larvas de los ditiscidos, el mismo tubo inculador sirve para la succión.

El aparato bucal se presta muy bien a este doble trabajo pues semeja más bien una máquina debida a la ingeniosidad

profesional de un mecánico que a una simple armadura bucal de un insecto. En efecto, los estiletes maxilares y mandibulares están recubiertos por el labio inferior solo en su parte distal. Este labio constituye una fuerte palanca que está unida a la cabeza por una delgada pero sólida bisagra (Figura Nº 1).

Por pasar de la cabeza a la trompa o rostro, constituido por el labio inferior, los estiletes bucales perforantes deben superar una gran abertura vacía, pero ellos jamás están al descubierto ya que uniendo la cabeza a la trompa, se encuentra un tubo elástico reforzado por anillos quitinosos a la manera de una tráquea. (T, Figura Nº 1).

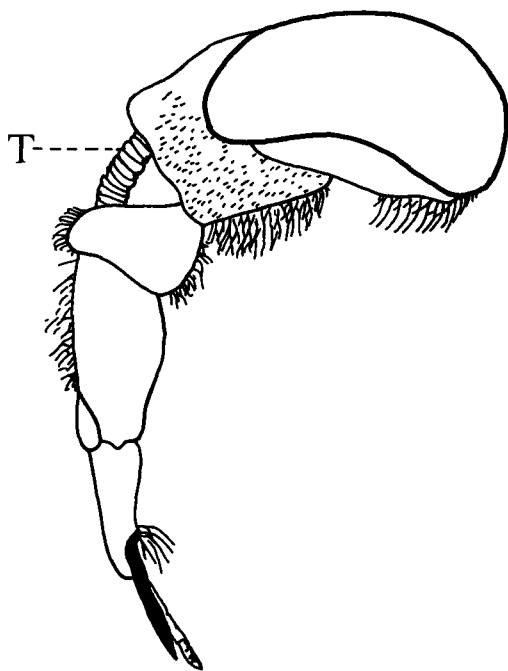


FIGURA Nº 1.—Cabeza de *Lethocerus* con su tubo que sirve de bomba (T).

Los movimientos de báscula que el insecto imprime a su rostro mientras hunde los cuatro estiletes en el cuerpo de su víctima, donde las maxilas son retenidas por las puntas en forma

de harpón que se encuentran en su extremidad, mientras que las mandíbulas con estrías tienen un libre juego de ir y venir, es lo que transforma este tubo elástico en una bomba que sirve a la vez para inocular el veneno y para aspirar los líquidos de los cuales el hemíptero se alimenta.

Vemos que el insecto se libera de la vida parasitaria y se vuelve predador, pero las piezas bucales no regresan más a su forma primitiva y constatamos todavía aquí, que "la evolución no es reversible".

Tuvimos la oportunidad de observar un *Lethocerus* guardado en cautividad que aceptaba pequeñas ranas muertas, y que no se conformaba con chupar los vasos y sacos linfáticos sino también los músculos, los que al cabo de ciertas horas habían desaparecido y entonces se podía decir que de la rana no quedaba más que la piel y los huesos.

Es en este momento que hemos considerado que probablemente estos insectos en el estado de imago realizan la digestión exógena de su presa, a la manera de las larvas de ditiscidos, cuyo estudio detallado fue hecho por Portier. Este sabio no pudo, desafortunadamente, procurarse materiales abundantes para proceder con experimentos *in vitro*. Los *Lethocerus*, al contrario de las larvas antes citadas, son muy grandes y uno puede obtener un gran número de animales para experimentar ampliamente *in vitro* e *in vivo*. Por lo tanto, procedimos a este estudio con los experimentos que iremos describiendo en forma sumaria.

A. Después de haber sido mantenidos algún tiempo en ayuno, ciertos individuos aceptan pedazos de carne de vaca cruda. Se les hace picar en diversos lugares, durante diez minutos, un pedazo de carne de vaca de alrededor de 4 centímetros cúbicos, después se retira; mientras que otro pedazo del mismo tamaño, empapado en el agua del acuario, sirve como testigo. Por presión, se obtiene de cada pedazo alrededor de 1 centímetro cúbico de jugo. A cada tubo se le agrega su volumen de agua cloroformada al 2% y se colocan en la estufa durante 4 horas a 37°C. Al cabo de este tiempo se observa que mientras que el jugo testigo se mantiene rojo, aquel que



Lethocerus nutriéndose de carne de buey.

proviene del pedazo picado por *Lethocerus* se vuelve verdoso a causa del ataque a la hemoglobina. En presencia de diversos reactivos se obtienen las reacciones de peptonas. Hubo por lo tanto una inyección de un líquido proteolítico en el pedazo de carne de vaca mientras que el hemíptero lo picaba en diversos lugares.

B. Después de haber mantenido en ayuno durante 24 horas un *Lethocerus* metemos una pequeña rana en el bote de vidrio. El insecto la ataca inmediatamente. Algunos segundos más tarde la retiramos y constatamos que la pierna picada permanece paralizada totalmente, mientras que la otra extremidad posterior queda a su vez paralizada poco a poco. Los ojos permanecen hundidos y el animal apenas puede arrastrarse con la ayuda de sus miembros anteriores. La boca se abre y se cierra en intervalos irregulares, pero no hay movimientos respiratorios. Media hora después, el animal deja de abrir la boca y al cabo de 3 horas está inmóvil, apoyado sobre las extremidades anteriores, pero muerto. La muerte sobrevino sin convulsiones, por parálisis.

Otra rana puesta en presencia del *Lethocerus*, una vez que se retira la primera, es atacada de la misma manera, pero una vez retirada, no presenta fenómenos de intoxicación. El veneno acumulado por el insecto ha sido, por lo tanto, utilizado en las primeras picaduras. Cuatro horas más tarde: la primera que recibió el veneno está muerta, la segunda que fue picada de la misma manera pero por un insecto con sus glándulas salivales vacías, está perfectamente recuperada.

C. Un rostro de *Lethocerus*, con sus dos glándulas salivales que penetran un poco en el tórax, es triturado con arena de Fontainebleau, retomado en agua para obtener 1,25 cm³ de líquido centrifugado.

Se inyecta 0,25 cm³ de este líquido en una rana de tamaño mediano por vía intraperitoneal y 1 cm³ por vía subcutánea en un cobayo.

La rana permanece inactiva durante 24 horas, y se deja atrapar sin huir, sus movimientos son muy torpes. Se la mata y la autopsia no revela hemorragias internas, sino una congestión hepática y renal muy marcada.



Ranas atacadas sucesivamente por un *Lethocerus*; la primera está muerta, la otra en recuperación.

Otras ranas tratadas en igual forma, presentan siempre los mismos fenómenos.

En el cobayo, los únicos síntomas que pudimos constatar fueron un espesamiento y una infiltración de la piel en la zona inyectada.

D. Un rostro con sus dos glándulas salivales es triturado en 180 cm³ de agua, se filtra y se pone a hervir la mitad del líquido.

Se preparan diversas diluciones de líquido activo, así como de aquel que se ha tratado de inactivar por calentamiento. En estas diluciones colocamos pequeños peces (*Poecilia*).

Los peces que estaban colocados en una solución correspondiente a una cabeza de *Lethocerus* por 700 cm³ de agua, ya fuera en el líquido fresco, o en el líquido hervido, ennegrecían y se quedaban inmóviles. Cinco minutos después caen al fondo del frasco con el vientre vuelto boca arriba y sólo unos movimientos irregulares de los opérculos revelan que el pez aún vive.

Si después de una hora de permanencia en el líquido venenoso se colocan estos animales en el agua fresca, se observa que 15 minutos después nadan activamente y vuelven a su color rosado natural. Los peces que permanecieron en un líquido con 3 veces más veneno, recuperan su actividad una vez puestos en el agua fresca, pero en un tiempo más largo, y una vez recuperados permanecen tan activos como los otros. Este hecho muestra que no hay dosis acumulativas de veneno pero sí una influencia paralizante que no conduce a una intoxicación capaz de producir lesiones estables.

En las diluciones de veneno menores de una cabeza de hemíptero por 5 000 cm³, los peces no presentan ningún síntoma apreciable.

Para comparar el efecto tóxico de las glándulas salivales con aquel que podrían tener los otros líquidos del insecto, hemos preparado:

1. Glándulas salivales en 400 cm³ de agua;
2. Sangre a 1/400;
3. Músculos abdominales triturados también en 400 cm³ de agua.

En cada extracto colocamos un par de peces. Aquellos que están en el líquido que contenía las glándulas salivales, al cabo de 4 minutos se paralizan y caen al fondo como si estuvieran muertos, mientras que los otros nadan activamente; aquellos que recibieron sangre del hemíptero se prestan activamente a devorar los pedazos de fibras que flotan en el agua.

Los *Lethocerus* así como otros insectos del mismo orden, cuando están incómodos, secretan un líquido de fuerte olor que disgusta y que semeja mucho aquel de las chinches. Este líquido al 1% no parece hacer daño a los peces.

E. Los renacuajos de nuestras ranas (*Leptodactylus*) son menos sensibles que los peces a este veneno y en una solución correspondiente a una cabeza por 200 cm³ de agua, se paralizan al cabo de 20 minutos mientras que los peces lo hacen al cabo de 4 minutos. Por el contrario, los renacuajos, una vez paralizados y puestos en agua fresca, demoran 12 minutos en restablecerse, mientras que los peces nadan activamente al cabo de 6 minutos.

Las larvas de *Culex* y de *Chironomus* son insensibles al veneno de *Lethocerus* en las concentraciones indicadas.

El veneno paralizante no existe en las larvas de esta especie, por otra parte, ellas tienen el primer par de patas terminadas en un garfio fuerte y único que transforma sus apéndices en poderosas pinzas. Las larvas débiles deben, posiblemente, alimentarse de cadáveres.

Por otro lado, las maceraciones de diversos hemípteros parásitos de las plantas, así como las maceraciones de cabezas y tórax del Chinche de cama (*Cimex rotundatus*), paralizan a los peces, al menos en las concentraciones de 12 individuos por 50 cm³, lo que es sin duda una dilución más concentrada que aquella de una cabeza de *Lethocerus* por 4 000 cm³.

Para establecer un punto de comparación con un veneno más conocido, hemos escogido aquel de *Crotalus terrificus*, que es el más neurotrópico de los venenos ofídicos de nuestras regiones. Si colocamos los mismos pequeños peces en una solución de veneno de un miligramo de veneno seco por 1000 cm³ de agua, la parálisis se presenta sólo al cabo de 15 minutos y puestos de nuevo en el agua pura, los peces vuelven a nadar

al cabo de 30 minutos. En la dilución al 1/10 000 el veneno parece no tener más acción paralizante.

Lo que hay que retener es que la rapidez de la acción paralizante en relación a los peces es mucho más grande en el veneno de *Lethocerus*, que en aquel de la serpiente de cascabel.

F. Con una emulsión de una cabeza en 100 cm³, constatamos:

1. Que hay aceleración de la coagulación de la sangre normal de hombre y de conejo, pero la sangre citratada no coagula.
2. Que hay hemólisis más rápida de los glóbulos de conejo que con los venenos de serpientes. No hay hemolisinas anti-hombre.
3. Que mezclada volumen a volumen con gelatina timolada, y después llevada a 37°, no hay digestión en 24 horas.

Este último hecho nos prueba que la digestión exógena no es producida por el veneno, sino más bien por otro líquido digestivo que el insecto inyecta en el cuerpo de su víctima, una vez paralizada. Igual ocurre con las larvas de ditiscidos estudiadas por Portier.

G. Sumergimos la oreja de un conejo en un frasco de vidrio en donde se tiene un *Lethocerus* joven desde hace varios días. El insecto comienza a picar la oreja del conejo sin que éste muestre signos de dolor. Un minuto después se retira el conejo y no se observa en la oreja ninguna traza de picadura, pero una hora después se nota una zona hemorrágica, no sólo en el lugar picado sino también a lo largo de la vena auricular mediana, hasta la base de la oreja. Dieciocho horas más tarde hay una zona hemorrágica de 7 mm que deja trasudar la sangre lisada. La zona necrosada atraviesa la oreja, no hay edema. En el lugar picado se forma una escara que persiste por 10 días. Estas lesiones recuerdan aquella que se obtiene en el conejo por inoculación de una pequeña dosis de veneno botrópico.

H. Con el objeto de eliminar los traumatismos que sufre una rana por el ataque del insecto, sumergimos sólo una pata de ésta; el insecto en ayunas desde hace dos días, pica la extremidad que dejamos durante 10 minutos en el lugar. Cinco minutos después de retirar la rana, se paraliza. Si uno la vuelve, ésta no puede volver a pararse. Una hora después, toda la extremidad hasta la base está ennegrecida, hinchada y trasudando sangre hemolisada. Dos horas después la otra pata se paraliza y 3 horas más tarde, también sus extremidades anteriores pierden sus movimientos. La respiración persiste por algún tiempo y 10 horas después el animal muere. Hay rigidez cadavérica salvo en la extremidad picada.

I. Se trituran varias cabezas de *Lethocerus* en agua, de manera que cada centímetro cúbico corresponde a 2 cabezas. Se distribuye a razón de 1 centímetro cúbico por tubo y se adicionan 2 de cada uno de los sueros antivenenosos:

Anti- <i>Vipera berus</i>	(Instituto Pasteur)
Anti- <i>Naja naja</i>	(Instituto Pasteur)
Anti- <i>Crotalus terrificus</i>	(Instituto Butantan)
Anti- <i>Botrópico</i> polivalente	(Instituto Butantan)

Se deja en contacto durante 1 hora a 37°C, después se toma 0,5 cm³ de cada mezcla que se diluye en 100 cm³ de agua, y se colocan dos pequeños peces en cada cristizador. Se establece un testigo con veneno solo en la misma dilución. Estos son los resultados obtenidos:

- Parálisis y ennegrecimiento de los testigos en 15 minutos.
- Veneno + suero anti-*Vipera berus*. Parálisis en 15 minutos y un ennegrecimiento más fuerte que en los testigos.
- Veneno + suero anti-*Naja naja*. Parálisis en 20 minutos pero sin ennegrecimiento.
- Veneno + suero anti-*Botrópico*. Parálisis en 25 minutos con ennegrecimiento moderado.
- Veneno + suero anti-*Crotalus terrificus*. Los peces continúan nadando aún una hora después de la inmersión.



Rana muerta por un piquete en una pata que fue sumergida. Toda la extremidad trasuda sangre y no presenta rigidez cadavérica.

Esta experiencia, repetida varias veces, nos muestra siempre que entre los diversos sueros antivenenosos, sólo el suero anti-crotalino se muestra capaz de neutralizar *in vitro* el veneno del blastomídeo.

Por lo tanto hay que admitir que si los síntomas presentados por los animales picados hacen pensar más bien en los efectos del veneno botrópico, esto se debe a que el insecto inyecta a su víctima no sólo la secreción salival que es un veneno neurotrópico de tipo crotalino, sino también jugos digestivos que producen los efectos locales que acabamos de describir (la secreción salival por sí sola no es proteolítica).

No pudimos constatar si la neutralización del veneno por el suero anticrotalino puede preservar la paloma, ya que se encuentran grandes diferencias de resistencia en estas aves. Algunas de ellas sucumben unos minutos después de la inyección intravenosa de 1 centímetro cúbico de líquido que contiene 1/4 de cabeza por centímetro cúbico. Otras palomas soportan dosis correspondientes a 2 cabezas por centímetro cúbico.

Supusimos, a raíz de nuestros primeros experimentos, que ésto se debía a que el veneno de *Lethocerus* comienza a disminuir de toxicidad hacia el mes de setiembre y como en esta época los insectos se vuelven escasos, suspendimos los experimentos para continuarlos el año siguiente. Ahora bien, una vez reiniciados durante los meses calientes: junio, julio y después de haber verificado la toxicidad de las cabezas empleadas con los peces, que eran, como de costumbre paralizados, pudimos observar que existen a la vez grandes diferencias entre la cantidad de veneno de las distintas cabezas de *Lethocerus* y en la sensibilidad individual de las palomas. Tuvimos que limitarnos a confirmar, una vez más, la neutralización del veneno por el suero anti-crotalino en relación con los peces.

DESTRUCCION DEL VENENO POR CIERTOS TEJIDOS

Si colocamos peces en forma sucesiva en una misma solución de veneno, teniendo cuidado de retirar los que van quedando paralizados, podemos observar que a cada nuevo pez co-

responde un tiempo, cada vez más largo para paralizarse: es así que la primera pareja de peces se paraliza en 4 minutos, la tercera pareja demanda 12 minutos y la sexta se paraliza al cabo de 25 minutos. Con los renacuajos hemos hecho comprobaciones semejantes.

Por otro lado, no sólo los peces que se vuelven a poner en el agua pura se restablecen, sino también aquellos que permanecen en la solución de veneno.

Para lograr aclarar este fenómeno hemos tenido en cuenta diversas hipótesis y verificado por medio de experimentos si éstas eran aceptables o había que descartarlas:

1. Resistencia adquirida

Los peces paralizados que se ponen en la misma cantidad de agua fresca se restablecen sin liberar veneno en esta agua y una vez restablecidos permanecen tan sensibles al veneno como los peces nuevos. Por lo tanto, no estamos en derecho de apelar a la costumbre como explicación de la resistencia.

2. Absorción del veneno

Si colocamos en forma sucesiva los peces en un mismo líquido, éste guarda su poder paralizante durante un cierto tiempo y los peces retirados se restablecen en el agua fresca en el mismo lapso de tiempo; no hay por lo tanto una absorción decreciente paralela al debilitamiento de la acción paralizante del líquido.

3. Auto-digestión del veneno

Había que considerar esta posibilidad, ya que es la auto-digestión la responsable de la pérdida de ciertos principios de los que citaremos, a manera de ejemplo, el del páncreas que pierde sus principios hipoglicemiantes y el de la glándula venenosa de la morena que digiere su propio veneno en las horas que siguen a la muerte del animal.

En el caso del *Lethocerus* no hay auto-digestión ya que tanto el líquido fresco cloroformado como el que ha sido calentado a

100°, guardan su poder paralizante después de permanecer 24 horas a 37°.

4. Destrucción microbiana

El líquido contaminado experimentalmente por las deyecciones de los peces no guarda su poder paralizante en ausencia de los peces.

5. Absorción y destrucción por los tejidos del pez

Un pequeño pez muerto, puesto en pedazos en el líquido, hace perder a éste sus propiedades paralizantes y no hay modo de invocar las diastasas del tejido, pues el fenómeno se repite aún si se lleva a ebullición.

Para tratar de saber a cuáles tejidos del pez hay que atribuir la absorción y destrucción del veneno, pusimos el líquido venenoso en presencia de músculos y encéfalo picados de peces. Cinco horas después, el líquido puesto en presencia del músculo paraliza; el puesto en presencia de la sustancia nerviosa paraliza también aunque más tardíamente, pero aquel que está en presencia de piel permanece inofensivo. Al cabo de 6 horas todos los líquidos perdieron sus propiedades paralizantes.

Repetimos el experimento con los mismos tejidos de un pollo y al cabo de 2 horas de contacto, pudimos observar que los peces puestos en el líquido + piel se vuelven ligeramente paralizados al cabo de 14 minutos; en los líquidos que habían recibido músculos o sustancia nerviosa, la parálisis sobreviene después de 7 minutos. Cuatro horas más tarde comprobamos que sólo el líquido puesto en presencia de la sustancia nerviosa permanece activo y paraliza en 20 minutos.

Notamos, por lo tanto, que el veneno del *Lethocerus* es absorbido y destruido por diversos tejidos de los cuales el tejido dérmico parece ser el más activo, y contra todo lo que parece más obvio, la sustancia nerviosa es la que tiene la menor afinidad por el veneno.

La digestión de la piel no deja recuperar el veneno, por lo que hay una verdadera destrucción. Algunos tejidos vegetales (por ejemplo, las papas) absorben y destruyen el veneno.

Escogí este trabajo para rendir homenaje a mi querido profesor el señor Caullery en sus 50 años de profesión, ya que yo deseaba primero que nada que este trabajo se basara en un tema típico de la fauna de mi país, al que el Señor Caullery honró un día con su visita. Pienso además que calza bien, por la diversidad de consideraciones que comprende, en la concepción de los trabajos propios a ser realizados en un Laboratorio de Evolución de Seres Organizados, como éste que ha sido maravillosamente dirigido por el señor Caullery y en donde todos aquellos que tuvieron la dicha de ser sus discípulos pudieron apreciar sus cualidades de maestro y su gran benevolencia.

Hospital de San José (Costa Rica)
(Memoria recibida el 27 de enero de 1938)

LA REPULSION - SUPREMA LEY (Ensayo de Biología Comparada)

Cuando, dejando el Instituto Pasteur de Túnez, Nicolle llegó a París a profesor en el Colegio de Francia, en su lección inaugural trazó un recuerdo de su vida de estudiante:

Su maestro de patología vivía eternamente envuelto en una nube de humo procedente de la pipa que jamás abandonaba; por este hecho los estudiantes le llamaban "*El Angel*". Ahora bien, tenía el Angel una singular manera de enseñar: explicaba a fondo su tema y cuando los estudiantes, satisfechos de lo que creían haber aprendido, se iban a retirar, "*El Angel*" los llamaba de nuevo y poco a poco exponiendo objeciones, suscitando críticas, demolía aquella certitud, hacía surgir en el espíritu de sus estudiantes la duda, ese bien supremo, que solo muy pocos saben apreciar en todo su valor fecundo.

Nosotros no conocemos el caso de ningún otro hombre que, como lo hizo Nicolle, manifestara su gratitud hacia aquel que inculcó en su mente la duda. Ojalá tuviéramos todos, como lo tuvo el eminente pasteuriano, un Angel de la Duda, que sembrara en nuestras inteligencias ese fermento fecundo que vivifica nuestro espíritu. A él nos encomendamos nosotros antes. A él encomendamos a nuestros lectores ahora.

RESPUESTA ANTAGONICA A LAS SECRECIONES

Para el orden de nuestra exposición, aquí tampoco seguiremos ni datos cronológicos ni fines fisiológicos, sino que tomaremos las nuevas adquisiciones, en su valor abstracto como ele-

mento de refuerzo a la concepción general de nuestra inmunización por antígenos endógenos que conduce al debilitamiento y atrofia de nuestros principales sistemas. (C. Picado. **Vaccination Contre la Sénescence Précoce**. Le François-París).

Enumeraremos algunos nuevos aportes que los diferentes investigadores han traído en los últimos años.

El estudio de la patología tiroídea ha conducido a Terry y Shepardsen a considerar los adenomas tiroides como cuerpos de valor antigénico diferente al de la tiroides normal y, en efecto, por inyección a conejos, encontraron que los sueros de los animales que recibieron las inyecciones de adenoma tienen las propiedades típicas (fijación de complemento) de un suero específico, diferente al de conejos tratados con tiroides normal.

Bauer (1937) hace una constatación sobre la que deseamos hacer hincapié, pues representa para el inmunólogo la formación de anticuerpos producidos por antígenos de parentela química y sobre esto diremos más adelante algunas palabras. Es el caso que este autor encuentra que los conejos tratados con tirotoxina, con di-iodotirosina o con epinefrina dan reacciones positivas de fijación de alexina en presencia, no solamente del cuerpo que les fue inyectado sino con cada uno de los otros. Los enfermos con hipertiroidismo dan también reacciones positivas con los tres antígenos enumerados. El autor busca cual es la parentela química que pueden tener los tres antígenos citados y encuentra que en los tres se encuentra el grupo "fenol". Piensa entonces que es este grupo el que debe ser considerado como el soporte del antígeno común y, en efecto, usando como antígeno una solución que contiene una forma adecuada del grupo fenol encuentra que tanto los sueros experimentales como los de los enfermos con hipertiroidismo, dan también una reacción positiva.

Otro hecho que debemos dejar relatado para la buena comprensión de ciertas interpretaciones aquí expuestas es el siguiente:

Sainton, Simonnet y Barbet, mediante inyecciones de extractos de tiroides humanos normales o provenientes de basedowianos, provocan en las gallinas la muda y la decoloración con-

secutivas a toda inyección de tiroxina pero cuando inyectan un extracto de bocio coloide, el ave no reacciona. Pero, si como ya lo hemos dicho, ha sido posible obtener anticuerpos empleando como antígeno bocio coloide, ello implica que no es solamente la formación de antihormonas lo que debemos tomar en cuenta, sino más bien la formación de anticuerpos, que, si bien es cierto gozan de algunas propiedades antihormonales, también tienen propiedades citotóxicas. Desde el principio de nuestras experiencias llevadas a cabo desde hace años en nuestro Hospital San Juan de Dios, tal fue el concepto que emitimos; siempre hemos hablado de propiedades "anti-glándulas endocrinas" y no de antihormonas simplemente; el hecho es fundamental, pues significa que concebimos la formación de auto-anticuerpos extendiéndose también a los tejidos no hormonales y dando así cabida en el concepto de endo-antígenos a los órganos más diversos; nuestro horizonte en el campo de la investigación queda así sensiblemente ampliado.

Sobre la insulina varias investigaciones han sido llevadas a cabo en campos de experimentación variados y que persiguen diversos fines, siendo, como es de esperarse, el tratamiento adecuado de los diabéticos uno de los más perseguidos.

Desde hace años Barral y Roux habían considerado que los choques anafilácticos consecutivos a las inyecciones de insulina en sujetos que anteriormente habían recibido insulina del mismo origen eran debidos, no a una sensibilización específica contra la hormona misma, sino que los accidentes se debían a choques producidos por las impurezas de origen proteico que eran compañeras inseparables de la insulina. Pero en 1937 Lavis recurre al método de "sensibilizar" cobayos hembras vírgenes con insulina proveniente de diversas especies animales y buscar luego, en el útero aislado, la respuesta al choque "desencadenante" provocado por una insulina proveniente de otra especie. El autor logra así demostrar que el choque anafiláctico puede producirse indiferentemente por cualquier insulina, cualquiera que sea su origen, así sea de una especie alejada en la escala zoológica; queda por lo

tanto descartada toda sospecha de que se trate de impurezas. El útero de cobayos "preparados" por la inyección de insulina de buey responde al recibir insulina de puerco y viceversa, mientras que los animales que reciben simplemente albuminoides de una u otra especie, no quedan "sensibilizados" al choque anafiláctico como ocurre en el caso de la insulina.

Para Spaccarelli tales fenómenos deben ser considerados como provocados por antígenos compuestos en los cuales la insulina representa el papel de "hapteno" y las proteínas el de "vector". Nos encontramos aquí frente a la misma concepción que para todos los auto-anticuerpos hemos expuesto en relación con la senectud.

El estudio de la acción de la insulina, mejor que cualquier otro, ha puesto de relieve el concepto de "resistencia"; aunque desde un principio se notó que no todos los individuos responden por una igual caída de la glucemia a una inyección fisiológicamente dosada de insulina en condiciones impecables, ello fue atribuido, sea al mecanismo de regulación interhormonal de la glucemia, o sea falta de respuesta, y sin explicar motivo alguno, tal como ocurre con los sífilíticos actualmente llamados arsenorresistentes. En estos casos, una vez más, nos contentamos con una simple variación de nomenclatura en lugar de una explicación. Para algunos el fenómeno revestía otro aspecto de interés biológico; y es así que Aubertini considera que en algunos casos de insulinoresistencia hace falta para explicarlos, tomar en cuenta la posible presencia de productos que inactiven la insulina; cita entre éstos los fermentos o los productos de histólisis como en algunas infecciones. Deduce que si la actividad de la insulina de origen exógeno puede ser neutralizada por productos antagónicos elaborados por el individuo mismo, tales productos pueden también inactivar la propia insulina, volverla insuficiente y hasta inoperante. Al lado de los diabéticos por carencia de insulina debemos pues colocar los diabéticos por autoinactivación de la misma.

Llegamos de lleno a inculpar la reacción somática antagónica como causa de un fracaso hormonal endógeno y, aunque la palabra anticuerpo no haya sido pronunciada, el conjunto de hechos nos afirma en la idea de que la insulinoresistencia descri-

ta no es sino la exageración de producción de los auto-anticuerpos normales que siempre circulan en nuestra sangre. Dejemos así la exposición por ahora; más tarde volveremos a ocuparnos de este fenómeno.

Cualquiera que sea nuestro punto de partida en el estudio del sistema endocrino, inevitablemente, en cierto momento nos encontraremos frente a la hipófisis y estaremos obligados a tomarla en cuenta. Nada expresa esta idea mejor que la frase feliz con que alguien define la hipófisis como siendo "el cuartel general de las hormonas".

No debemos olvidarnos que la hipófisis, si tiene una madre que se llama piel, tiene un padre que se llama cerebro. Este doble origen embrionario se conforma en la evolución filogenética de las especies: en la ballena todavía están separados los lóbulos anterior y posterior.

No se les presta sino a los ricos, dice el refrán. Y a la hipófisis talvez se le ha prestado demasiado. Smith se regocija de que no se hayan descrito tantas clases de células hipofisarias como funciones se han atribuido a la glándula. Aron, descubridor de una de las más importante de sus hormonas, (tireotrópica), se pregunta ahora si realmente son tantas las hormonas hipofisarias. Así y todo, las que seguramente le pertenecen son suficientes para merecer el que se haya dicho al referirse a ella que es: "El Director de orquesta de la gran sinfonía endocrina".

Los productos descritos como resultantes de la actividad hipofisaria, serían hormonas cada una de las cuales —siguiendo una admirable división de trabajo— ejercería una acción activadora o estimulante específica sobre cada una de las demás glándulas de secreción interna; a este hecho deben su nombre general de estimulinas.

Pero las otras glándulas, a su vez secretan hormonas cuya acción se ejerce sobre la hipófisis, no solamente frenando sus secreciones, sino repercutiendo sobre su estructura histológica. Las glándulas masculinas, por ejemplo, secretan las "*inhibinas*"; y el

ovario tiene también sus acciones frenadoras sobre la actividad hipofisaria por medio de algunas de sus secreciones. Cuando se suprime el ovario estas hormonas inhibitoras cesan naturalmente de producirse y la hipófisis ya libre de su influencia aumenta sus secreciones. Este aumento de actividad secretora coincide con modificaciones en su estructura histológica que se caracterizan por lo que los histólogos han llamado "células de castrado". Inversamente, si a una hembra se le inyectan durante cierto tiempo, dosis elevadas de foliculina, se provocará una disminución de las gonado-estimulinas producidas por la hipófisis. Esta disminución se traduce histológicamente por la aparición, en el lóbulo anterior de la glándula de las llamadas "células de embarazo"; así denominadas porque fisiológicamente aparecen durante la gravidez, período en el que se realiza una condición comparable a la que experimentalmente se provoca mediante la administración de foliculina a dosis elevadas. Son estas —células de castrado y células de embarazo— casi las únicas modificaciones histológicas que se han podido constatar concomitantemente con las variaciones fisiológicas de la actividad hipofisaria.

Echemos una rápida ojeada sobre lo que concierne a las respectivas reacciones antagónicas provocadas por las hormonas hipofisarias.

Oudet muestra que el efecto antagonista de los sueros de animales tratados por la tireoestimulina no es debido a un exceso de secreción tiroidea (antagonismo ya estudiado por Aron) y para ello se sirve de animales tireoprivos, en los cuales se produce la misma reacción antagónica. El mismo autor pone en evidencia que los sueros al principio de la inmunización responden específicamente contra la especie animal de la cual proviene la hipófisis, pero que una inmunización prolongada produce sueros que neutralizan la hormona tireotrópica proveniente de diversas especies. A este respecto recordemos que Landsteiner considera en su libro sobre el valor específico de las reacciones de fijación, que la especificidad va ampliándose a medida que la inmunización

se intensifica. Para no volver sobre la misma cita hagamos notar que este notable investigador supone —ya en 1937— la existencia y producción de los auto-anticuerpos que irían fijándose, según él, paulatinamente en las células que actúan como endo-antígenos y que esta fijación constante es justamente una de las causas que generan las mayores dificultades para poner en evidencia estas reacciones inmunitarias del organismo

Veamos ahora algunas constataciones de sustancias antagónicas a las secreciones hormonales que se han encontrado en la sangre de animales y hombres sin preparación previa alguna y que no pueden por lo tanto ser consideradas como producciones artificiosas de laboratorio.

Rathery, Bargeton y Traverse encuentran que la sangre de algunos diabéticos inyectada a perros provoca temporalmente en éstos una hipoglucemia y ello prueba que esa sangre vehicula productos que neutralizan la insulina normal del perro.

Black encuentra que no solamente los diabéticos van produciendo sustancias antagonistas a la insulina si no que aún las sangres normales son capaces de neutralizar en mayor o menor grado su efecto hipoglucemiante.

Guy Laroche y Simonnet muestran que muchos sueros de mujeres normales tienen propiedades de neutralizar la acción gonadotrópica de los extractos corrientes de lóbulo anterior de hipófisis.

Schockaert y Lambillon encuentran en la sangre de mujeres encinta la propiedad de neutralizar varias de las hormonas del lóbulo posterior de la hipófisis y es particularmente notable el hecho de que la vasopresina inyectada a tales mujeres no les produce ningún síntoma, mientras que inyectada a mujeres normales los síntomas característicos de su acción sí se presentan, pudiendo llegar hasta la defecación involuntaria. En cambio, si se inyecta la vasopresina junto con suero de mujer grávida, los anticuerpos de esta última —que pueden fácilmente ser puestos en evidencia por las reacciones de fijación de la alexina— neutralizan la hormona. Es esta una demostración evidente de la existencia de anticuerpos circulantes mediante reacciones *in vitro* e *in vivo*. Además, hagamos notar que los autores han encontrado también la antivasopresina en sueros de mujeres normales y fuera de gravidez.

Durupt, Lagarde y Bregou han encontrado que ciertas orinas de dismenorreicas contienen sustancias que neutralizan las hormonas estrales y esos autores suponen que la esterilidad que se observa en estas mujeres se debe a la producción de tales sustancias.

Ultimamente se ha expuesto que la desintegración de los glóbulos rojos causada por el paludismo debe ser considerada como la producción de un endoantígeno; en efecto, fuera de los síntomas que recuerdan la inyección de sangre hemolisada a un individuo, en el suero de los palúdicos se desarrollan anticuerpos que fijan la alexina en presencia, no solamente de glóbulos parasitados, sino también en presencia de antígenos preparados con glóbulos rojos normales.

Sobre varios disturbios hepáticos se han dado explicaciones que invocan la presencia de endo-antígenos. Muchos de los trastornos, que recuerdan la hipersensibilización y la anafilaxia, sufridos por tantas mujeres en las horas que preceden la aparición del flujo menstrual, han sido explicadas también, en los últimos tiempos, como fenómenos alérgicos de causa endógena. Muchas glomerulonefritis han sido atribuidas a la presencia en el suero de sustancias nefrotóxicas del orden de los antígenos, la enfermedad experimental ha podido ser realizada por medio de sueros nefrotóxicos, como lo demostraron los investigadores japoneses Masugi y Tomizuka. Smadel en 1937 ha confirmado las experiencias anteriores y mostrado que la inyección de extracto renal, que puede neutralizar —por mayor avidez— en el torrente circulatorio los anticuerpos nefrotóxicos, preserva a los riñones de sufrir las lesiones específicas típicas. Estos hechos nos dan quizá la clave del por qué son útiles las inyecciones de extractos de órganos no glandulares, en ciertas ocasiones. A nuestro juicio su papel sería, como en el caso de las nefritis estudiadas por Smadel, neutralizar auto-anticuerpos organotóxicos cuando éstos existen.

Las experiencias aún inéditas y en relación con esa parte de nuestra exposición, realizadas en el Laboratorio del Hospital, y que poco a poco y con todos los detalles técnicos irán siendo publicadas son los siguientes:

- A) Preparación de peptonas de glándulas endocrinas que conserven algunas de sus propiedades, pero que carezcan

de poder antigénico capaz de producir anticuerpos. Este problema, aún no planteado por nadie, que sepamos, necesita ser resuelto si es que deseamos poder tratar por largo tiempo, y siempre con eficacia, a los enfermos mediante productos orgánicos.

- B) Demostración fisiológica de la producción de sustancias antagonicas a las secreciones tiroideas en el suero normal de las personas y su aumento en relación con la edad o ciertos estados patológicos. El reactivo empleado han sido los renacuajos de *Rana*.
- C) Demostración de la presencia de sustancias antagonistas a la adrenalina en los diferentes sueros pero con aumento progresivo conforme la edad avanza. El reactivo empleado han sido los melanóforos de las escamas de ciertos peces, así como carótida de buey.
- CH) Disminución de la hipoglucemia provocada en los viejos si se compara con la operada en hombres jóvenes que reciben igual cantidad de unidades de insulina, durante la primera hora que sigue a la inyección.
- D) Presencia de sustancias antitireotrópicas en los sueros de viejos y en mujeres portadoras de bocio no tóxico.
- E) Relaciones entre la edad y la antipresura sanguínea, con una caída hacia la mitad de la vida.
- F) Disminución de las isohemoaglutininas en la edad avanzada y que regularmente coincide con un aumento del poder protector del suero para sus respectivos glóbulos, así como también, frecuentemente con un aumento de la sensibilidad globular.

Otras experiencias se anotarán rápidamente también en los párrafos que siguen, haciendo desde luego la advertencia de que cada serie de experiencias citadas, será proseguida y multiplicada hasta maduración relativa.

Lo expuesto nos basta para confirmarnos en la creencia de que nuestra línea de trabajo, ya no es a la hora actual, una simple hipótesis, sino una serie de hechos: adquiridos los unos de manera definitiva ya, y en vía de serlo los otros, no solamente por las nuevas experiencias que actualmente conducimos, sino por una convergencia general de múltiples trabajos de biólogos de todo el mundo.

SISTEMA NERVIOSO E INMUNIDAD

Las notables experiencias de Ermolaeff y Metalnikov nos muestran que si se establece una fuerte ligadura en el cuerpo de una oruga después de ayuno adecuado, de tal manera que no haya comunicación ni digestiva ni circulatoria entre una y otra parte, puede a voluntad por infección microbiana introducida, sea en la parte anterior, sea en la posterior, matar en un día la parte inyectada, mientras que la otra parte sobrevive unas dos semanas aproximadamente.

Cada mitad puede inmunizarse por vacunas bacterianas como si fuera un organismo independiente y es así que cada una de ellas puede recibir la dosis mortal de microbios patógenos sin daño apreciable. Si después de vacunar la media oruga ligaturada hacemos la inyección de bacterias en la otra mitad, una diferencia enorme se produce en cada caso: si la mitad vacunada fue la posterior; la oruga resiste la infección microbiana si ésta se hace en esa mitad, pero si la inyección se aplica a la mitad anterior esta mitad muere. Al contrario, si la vacunación se llevó a cabo en la mitad anterior la dosis mortal de microbios puede inyectarse indiferentemente en una u otra mitad sin que la muerte sobrevenga en ninguna de las dos.

En 1931 Metalnikov estudia la influencia de los reflejos condicionales en las leucocitosis y la fórmula leucocitaria y encuentra cambios tan netos como si se tratara de inyección de antígenos. Lobatch los encuentra en el hombre en lo concerniente a las leucocitosis digestivas y —hecho capital para nuestras concepciones— constata que, en algunos enfermos mentales la leucocitosis que sigue a las comidas, *puede llegar a ser el doble de lo habitual* a la sola vista de las comidas, sin tomar alimento alguno, es decir,

por un reflejo condicional, que una necesidad no satisfecha lleva al doble de lo que hubiese sido después de saciar el apetito.

La producción de anticuerpos está también sujeta a estos reflejos y las aglutininas aumentan con solo repetir la excitación condicional. Speransky muestra que la sección de los nervios auriculares en el conejo impide la inmunización local por los anti-virus.

Para Metalnikov:

No es sino por la memoria que puede explicarse el hecho de que la inmunidad se conserve frecuentemente mucho tiempo después de la desaparición de los anticuerpos. Desde este punto de vista la inmunidad plantea un problema no solamente biológico y físico-químico, sino también psicológico.

En su primera nota sobre la inmunidad y los reflejos condicionales Metalnikov y Chorine dicen:

Es posible que en muchas enfermedades crónicas y nerviosas (asmas, desórdenes cardíacos, neurosis, etc.), los accesos y los paroxismos se producen bajo la influencia de excitantes condicionales que nada tienen que ver con la causa esencial de la enfermedad y esta es la razón por la cual no solo debe tratarse al enfermo por tal o cual medicamento, sino también por la supresión de los excitantes condicionales que se crean durante la enfermedad.

Un simple cambio de condiciones de vida (es decir, la supresión de algunos reflejos condicionales) es suficiente, a veces, para producir un efecto salutario en el enfermo.

Por otra parte durante la convalecencia y la inmunización se forman también reflejos condicionales que son muy útiles para provocar reflejos de defensa.

Como lo hemos visto, estos reflejos condicionales son frecuentemente capaces de proteger el organismo contra una infección mortal.

Al hacer esta reseña no podemos dejar de recordar la expresión de un eminente médico francés que, refiriéndose a los ex-votos, acompañados a veces de radiografías convincentes

y que vio en un santuario colombiano, dijo que: *"así dejaban los creyentes piadosos el testimonio de cómo su fe religiosa ayudó a su curación"*.

Kryloff, en el Laboratorio de Pavlow estudió el caso de los reflejos condicionales en los envenenamientos; con sorpresa notó en un principio que los perros no se iban acostumbrando paulatinamente a las inyecciones de morfina, sino que a cada nueva inyección los síntomas se repetían. Supuso el fisiólogo ruso que tal fenómeno por apartarse de las reglas conocidas, no podría achacarse a la morfina misma, sino que probablemente se trataba de un reflejo condicional. La experiencia dio la razón, pues los perros, anteriormente inyectados con morfina presentaban los mismos síntomas cuando se les inyectaba con agua pura. En el hombre ocurre el mismo fenómeno, aunque se manifiesta a la inversa y ello debido a sus facultades de imaginación: muchos morfímanos y otros toxicómanos sienten sedación de la necesidad de su tóxico habitual con una simple inyección de agua pura. Aquí el reflejo condicional que se produce no es el de excitación, sino el de reposo.

De mis tiempos de liceísta recuerdo que me enseñaron una sentencia de Goethe que decía: "Los únicos móviles de la vida son el hambre y el amor". En tiempos recientes un distinguido colaborador alemán me decía que tal frase lapidaria pertenece a Schiller; sea del uno o ya del otro, lo cierto es que grandes verdades encierra y que los hombres tan sólo estamos diferenciados los unos de los otros, por la apreciación cualitativa de ambas necesidades: al "comamos y bebamos que mañana moriremos" se opone el "No sólo de pan vive el hombre". Los humanos, por gusto o por fuerza, toman su vía.

Con respecto a los cambios psíquicos enormes que las secreciones de las glándulas sexuales imprimen al individuo, es inútil insistir pues ya nadie lo duda.

Vale más bien la pena que nos refiramos a la influencia que las glándulas endocrinas ejercen sobre nuestras necesidades alimenticias. El hambre insaciable de muchos diabéticos es bien conocida.

A otros corresponde el martirio constante de una sed que nada aplaca.

A los unos, todos les falta. A otros enfermos, no menos desgraciados, todo les sobra y aun con la sensación del hambre, hay la falta de apetitos hasta en la forma selectiva que todos nosotros conocemos y de la que no podemos dar mejores ejemplos que la que nos ofrecen los niños, por una parte, con su afición por los dulces y por otra los herbívoros y ciertas razas humanas, por lo que casi podríamos llamar la sed de sal.

Ya hace algún tiempo que se había demostrado que la hipófisis por sus secreciones hormonales que regulan la circulación gástrica y la secreción de ácido clorhídrico pueden llegar, en perturbaciones extremas, a producir las úlceras estomacales.

Marañón en una hábil conferencia sobre los factores hormonales del hambre, dictada en Río Janeiro en 1937 nos pone a la vista los factores que como el adenoma basófilo de la hipófisis conducen al vicio de la gula mientras que la caquexia hipofisaria de Simmonds lleva a la pérdida completa del apetito; el estómago está sano pero hay anorexia mental.

Acabamos de ver cómo un defecto glandular conduce al vicio de la gula.

Veamos ahora cómo otro defecto conduce a una "virtud": varios peces cuidan esmeradamente de su prole y son magníficos padres, mientras que otras especies devoran a sus hijos. Ahora bien, no hace mucho, se constató que si estos amantísimos padres no devoran a sus hijos es porque al momento de la eclosión el estómago se atrofia y no pueden comer y entonces guardan los pececillos en espera de que renazca el apetito pero ya para esos días la nueva generación sabe huir velozmente a la presencia de su padre como a la de cualquier otro caníbal.

Los fenómenos de ovulación nos conducen también al conocimiento de reflejos cuya importancia a nadie escapa.

En las gatas y en las conejas la ovulación es provocada por el coito y no espontánea como en el hombre, pero la ovula-

ción puede obtenerse por falso embarazo producido por machos con los canales seminíferos ligados; a veces la producen las mordeduras de las hembras entre ellas y, hecho capital para nosotros, la excitación farádica del simpático cervical también provoca la ovulación.

En las palomas, las hembras aisladas no ponen, pero si están juntas, aunque sin macho, sí lo hacen y la sola presencia, por impresión visual, de una hembra semejante es capaz de producir los reflejos y secreciones que conducen a la ovoposición.

INTERRELACION DE LAS FUNCIONES HORMONALES, LA INMUNIDAD Y EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Si consideramos:

- 1° Que la hipófisis se "sexualiza" de acuerdo con la solicitud hormonal que recibe. (Lipschütz-Pfeiffer).
- 2° Que las diversas estimulinas hipofisarias nunca se han aislado al estado de pureza.
- 3° Que para cada glándula y aún otros órganos van cada día describiéndose estimulinas hipofisarias diversas. (Generadora de sangre por Flaks. Del metabolismo por Collip).
- 4° Que en las diversas estimulinas la especificidad no es estricta, sino de grupo, pudiendo las unas substituir parcialmente las otras.
- 5° Que existen casos, raros, pero comprobados, de animales que han podido sobrevivir durante largos años privados de hipófisis.
- 6° Que cada secreción hormonal frena (es decir neutraliza) específicamente la estimulina correspondiente, mejor que las otras. (Aron-Lowes).

No podemos —sobre todo si recordamos nuestra concepción de la regulación funcional por un mecanismo semejante al de la inmunidad— no podemos, digo, impedirnos de ver en cada una de las modalidades del funcionamiento de las estimulinas hipofisarias una semejanza enorme con los anticuerpos, tan grande en su conjunto que no conocemos otro ejemplo en las manifestaciones de la vida.

Pasando a otro orden de hechos, notamos que las ratas en parabiosis, cuando la una es normal y la otra castrada, presentan una hipertrofia desmesurada de los órganos sexuales del animal normal (Thales Martins, etc.). Ahora bien, si la parabiosis se efectúa entre una rata esplenotomizada y una rata normal hay, en esta última, una marcada hipertrofia del bazo y esta hipertrofia se lleva a cabo por hiperplasia de las células retículo-endoteliales según fue constatado por Flaum desde 1931. Es decir, que las células del sistema reticular, se comportan, en parabiosis de la misma manera que las células gonádicas y si la hipertrofia del aparato genital ha sido explicada por liberación de hormonas hipofisarias gonadotrópicas no frenadas, en el partenarío castrado, verosímilmente la hipertrofia del sistema reticular del bazo, en la parabiosis con un partenarío esplenoprivo, obedece a mecanismos comparables, es decir que en el animal esplenotomizado, como en el castrado, por falta de secreciones que frenen o neutralicen, se producirá un exceso de hormonas hipofisarias: gonadestimulinas, en el caso de parabiosis con castrado y "*retículo-estimulinas*" en el del animal esplenotomizado, las cuales provocan la hipertrofia de los órganos correspondientes en el animal normal, que no solamente recibe las estimulinas hipofisarias de su propio cuerpo, sino también las del partenarío esplenoprivo.

Ahora bien, el sistema retículo endotelial es el sistema sobre el cual la inmunidad tiene su mejor sede.

Es ya el momento de decir que de manera alguna queremos significar que las estimulinas hipofisarias sean semejantes por ejemplo a las antitoxinas, pues los anticuerpos corrientes ni resisten la brusquedad de tratamiento que ha permitido separar, o crear *in vitro*, las diversas estimulinas hipofisarias, ni tampoco aumentan los anticuerpos circulantes cuando el antígeno es suprimido, pero fuera de esto tienen analogías tales que algunas veces se puede

hablar de estimulinas hipofisarias y de anticuerpos en los mismos términos. No afirmamos identidad, pero sí algunas semejanzas funcionales.

Con el objeto de aclarar en algo estas ideas hemos emprendido en el Laboratorio del Hospital una serie de experiencias.

Es así por ejemplo que se ha estudiado la sustitución de la estimulina por el suero anti-glandular correspondiente.

En colaboración con el Doctor W. Rotter, trabajando en Alemania y nosotros en nuestro Hospital, hemos estudiado el efecto de los sueros antiglandulares, asociados o no a las hormonas y antihormonas, sobre la tiroides de cobayos. En un trabajo que aparecerá en la Revista Alemana de Endocrinología figurará una serie de microfotografías de cortes histológicos, bondadosamente practicados por el Licenciado Morales, de nuestro Hospital, a quien aquí nos place agradecer el servicio.

Otra serie de cortes, aun no enviada a Alemania y que complementa la primera, nos permite desde ahora, adelantar los hechos siguientes:

Los sueros anti-tiroides, cuando actúan como anticuerpos, en un principio provocan en el cobayo un hipertiroidismo neto correspondiente al tipo Basedow del hombre; pero más tarde, cuando ya provocan la reacción antagonista, se produce el hipotiroidismo con imágenes histológicas típicas de gúeche coloide.

Además, la asociación en tratamiento pasivo intenso por la mezcla de sueros antitiroides y antitireotrópico (que las precipitinas evidenciadas por nosotros manifiestan como habituales en los portadores de bocio coloide) permite obtener lo que a primera vista parece una paradoja: la hipertrofia de la glándula en reposo funcional; y esto es exactamente lo que existe en el bocio coloide simple del hombre.

Con sueros anti-ovario de cobayos machos se ha producido en conejas la reacción positiva de ovulación. (Zondek, Friedmann y Brohua).

Considerando:

- a) Que los reflejos condicionales pueden producirse experimentalmente en el hombre, sea para hacer funcionar las

glándulas de secreción interna, tal por ejemplo la hipoglucemia que se provoca en personas habituadas a tomar refrescos azucarados, si se les da en vez de azúcar sacarina;

- b) Que los reflejos condicionados hacen funcionar nuestros sistemas inmunitarios;
- c) Que el bloqueo del sistema retículo-endotelial hipersensibiliza tanto para los antígenos como para las hormonas.
- ch) Que la pubertad trae nuevas resistencias contra las invasiones microbianas;
- d) Que los animales púberes que reciben vacunas dan más anticuerpos si reciben a la vez la hormona de su sexo;
- e) Que las antihormonas presentan el mismo fenómeno de desviación jerárquica de los anticuerpos.

Hemos investigado el efecto producido en animales nuevos por la inyección de hipófisis o sustancia cerebral proveniente de animales inmunizados contra microbios y a la hora actual ya se ha podido comprobar:

- 1° Que el animal que recibe hipófisis o sustancia cerebral de animales inmunizados contra bacilos de la serie tífica (pero no el que recibe tales sustancias tomadas de animal nuevo) desarrolla aglutininas contra los bacilos que sirvieron para inmunizar al donador;
- 2° Que los cobayos que reciben hipófisis de cobayo inmunizado no sucumben si se les inyecta el microbio patógeno 48 horas después de recibir la inyección de hipófisis.
- 3° Que algunos cobayos que reciben hipófisis procedentes de cobayos no inmunizados sobreviven, pero que los testigos mueren casi en su totalidad.

Nuestra explicación es la siguiente: el sistema retículo-endotelial del animal inmunizado, o cualquier otro sistema defensivo del organismo provoca en los centros nerviosos modificaciones inmunitarias del orden de las que se operan en la producción de reflejos condicionales, siendo la hipófisis el vehículo natural de esa transmisión. En otras palabras, o se ha producido la transmisión pasiva de los reflejos condicionales de inmunidad, o se ha provocado en la hipófisis la formación de una nueva **"estimulina"** semejante a las otras hormonas y que sería una **"hormona de Inmunidad"**. Para nosotros ambas maneras de decir significan lo mismo.

Nuestra concepción general sobre las estimulinas hipofisarias sería pues la siguiente:

Las hormonas provocan reflejos condicionales del mismo orden que los reflejos condicionales de inmunidad y la hipófisis, por sus conexiones nerviosas, sirve para transformar tales reflejos en estimulinas humorales para las glándulas de secreción interna. O sea, en lenguaje indocto: la glándula interna envía, el organismo responde, el centro nervioso acumula y la hipófisis devuelve.

"Por todos los caminos se va a Roma" reza el refrán. Del mismo modo, por el camino de las secreciones hormonales llegamos al sistema nervioso central; los fenómenos de inmunidad nos llevan también al mismo punto, es decir, al sistema nervioso central. Inmunidad y secreciones hormonales están íntimamente ligadas entre sí y a su vez a los reflejos condicionales que llevan también hacia los mismos centros.

Llegamos pues a Roma por muchas vías, pero si hemos llegado a ella es como llegaron antaño los bárbaros, no para quedarse en ella, sino con el fin de destruirla. Veamos:

- 1° Las secreciones hormonales no necesitan indispensablemente, para producirse, la estimulación hipofisaria.
- 2° Los fenómenos de inmunidad pueden obtenerse lo mismo que las hormonas en cultivos puros, es decir sin intervención nerviosa alguna.

3° Los reflejos condicionales pueden obtenerse en toda la serie animal (Metánikov).

Preguntémonos ahora: ¿puede la secreción interna producir el reflejo condicional? Nadie lo duda. ¿Puede el antígeno producirlo? La respuesta es afirmativa.

Si pensamos ahora cuáles son las principales modalidades de las respuestas, veremos que éstas son siempre antagónicas. **La ley suprema es la repulsión:** ni siquiera dos cultivos celulares salidos de una célula única, vuelven luego a unirse; pareciera que cada una reconoce a sus hermanas y las repele.

Pero si en este punto nos detenemos para tratar de comprender cómo puede haberse llegado a la formación de los reflejos condicionales, no solamente a los inmunitarios y a los que conciernen a las secreciones, sino a los otros, a los de mayor importancia para el hombre, a los de orden psíquico, veremos que a la base de cada uno de los fenómenos condicionales se encuentra un reflejo de defensa celular, de repulsión y que estos fenómenos, en fuerza de repetirse llegan a constituir la "**memoria celular**" sin necesidad de sistema nervioso alguno: los cultivos de corazón de embrión de pollo, después de millones de divisiones celulares, se contraen de tiempo en tiempo. Las plantas que cierran sus hojas por la noche siguen haciéndolo a la misma hora aunque estén constantemente iluminadas o todo el tiempo en la oscuridad. En el hombre se constata una baja de la temperatura entre las 2 y 4 de la madrugada aunque no duerma (ritmos nictimerales).

En todos los casos citados la respuesta antagónica ha sido obtenida por *adición* y como lo hemos visto los antagonismos pueden ser incluidos entre los fenómenos defensivos de los cuales, la inmunidad y la digestión, intra o extracelulares, no son sino dos modalidades. Pero fuera de estas respuestas antagónicas de índole inmunitaria, hay otras que se obtienen por *substracción*. Dos ejemplos vulgares van a servirnos de primera prueba: las plantas que se podan retoñan con más fuerza y la barba que se rasura crece tan vigorosamente al principio que, si su crecimiento fuera uniforme durante todo el tiempo, llegaría a la longitud de 15 metros en un hombre de mediana edad. El desgaste cutáneo trae

consigo la formación de callosidades; las sangrías provocan la regeneración globular. La cicatrización produce las excrescencias llamadas queloides y Lumière ha llamado al cáncer la enfermedad de las cicatrices. Los árboles de los páramos tienen las raíces más vigorosas del lado que los azota el viento que tiende a desarraigarlos.

Se ha sostenido, con visos de fundamento, que la falta de procreación trae consigo una esterilidad prematura y como base de curación para la inapetencia se preconiza el ayuno, y el aislamiento y la reclusión como medidas eficaces contra las manías misantrópicas. Los baños fríos, ligeros, que no son sino substracción de calor, producen una reacción de hipertermia. Como en el caso de la poda, la supresión o atrofia de una glándula, trae consigo el aumento de las correspondientes estimulinas hipofisarias, sea, una vez más, excitación por substracción. Entran en el mismo orden de hechos, la necesidad de suministrar alimentos duros para que se forme una buena dentadura y el aumento de la agudeza visual o auditiva en la oscuridad y el silencio, mientras que las luces cegadoras del Neón y los ruidos de radios y automóviles cansan y atrofian no sólo los órganos perceptores, sino los centros cerebrales en que nacen y maduran las ideas y los sentimientos.

Si en nuestro afán de saber qué pasa fuera de la vida, fijamos nuestra mirada en el globo terráqueo, veremos que también hay pulsaciones y respuestas antagónicas producidas, no por efectos comparables a la adición, sino más bien a la substracción; es así que cuando hay una alta marea frente a la luna, hay también una marea alta en los antípodas, siendo más bien una marea baja lo que naturalmente debía esperarse que ocurra, ya que el mar solicitado por la atracción lunar, se levanta del lado opuesto.

La repulsión vuelve pues a presentarse a nosotros como el fenómeno más general y que engloba los demás.

SUEÑO Y SUBCONCIENCIA

El sueño se concibe actualmente como una *forma activa*; como el esencial tal vez, de los fenómenos condicionales (Lhermite), pero al dormir persisten los reflejos y queda el subcons-

ciente que, como el "doble" del muerto egipcio, vela por la integridad del dormido y cada reflejo, cada ensueño, va modelando nuestra personalidad, pero siempre con base en el antagonismo, de la repulsión hacia la solicitud. Sobre esto mucho han dicho desde Jacob a Freud, pero alguien más ingenuo, aunque más pobre que Jacob y más importante que Freud ha resumido lo estéril de tales especulaciones con su célebre sentencia:

"Que todo en la Vida es sueño y los sueños, sueños son".

"Las reacciones defensivas se llevan a cabo antes que nada contra los estímulos externos y contra la invasión de sustancias extrañas se oponen la piel y las mucosas, no sólo mecánicamente sino por sus secreciones. Las células internas participan y, como en todos los fenómenos de este orden, que excluyen la voluntad, caen en la categoría de reflejos". (Metalnikov).

La evolución psíquica ha debido comenzar a realizarse en las formas primitivas de vida sin necesidad de un estado de lo que nosotros, hombres, entendemos por vigilia. En esas formas primitivas tal estado no es conocido; viven en un estado que suponemos semejante al sueño. Se agitan, se nutren, se reproducen, actúan, viven pues, en una perpetua sombra de inconciencia.

Las plantas, desde las más elementales hasta las más evolucionadas, no salen jamás de su sueño. El celentéreo que flota en la superficie de los mares a merced de las corrientes o el cri-nóideo que vive en las profundidades abismales eternamente oscuras semejando una planta fijada a la roca, tampoco conoce jamás el estado de vigilia, como no lo conocen muchos seres que son sus compañeros en las profundidades del océano.

Y lo que ocurre en la evolución filogenética de las especies, ocurre en su evolución ontogenética. El embrión de cualquier organismo superior, realiza las fases de su desarrollo en el mismo estado de sueño. El pollo durante su período de incubación, el hombre durante su vida uterina, no son sino seres sumergidos en el más perfecto y profundo sueño. Y sin embargo, la evolución

psíquica se está realizando de tal manera que el polluelo, al salir de su cascarón ya sabe buscar su alimento y que el hombre, poco a poco va despertando a la vida durante la lactancia.

Y el fenómeno inverso se observa constantemente: en algunos animales vemos cómo se verifica una vuelta atrás, es decir un retorno hacia el estado de sueño perpetuo, cuando la nutrición se ha asegurado. Tal el caso de parásitos como las saculinas, que llegan a no ser prácticamente sino un saco con órganos de reproducción o el de los machos de *Bonelia* y algunos tremátodos y copépodos que ya tan sólo semejan un tumor del animal que parasitan.

Más aún, vemos que el *sumum* de la actividad psíquica humana se realiza en estados que están muy lejos de poder ser considerados como de vigilia típica: la abstracción absoluta y total, que desconecta al hombre del mundo exterior, los estados de profunda meditación, o de éxtasis. Ciertamente que no se podría citar al Arquímedes abstraído en la resolución de sus problemas matemáticos sin darse cuenta de la amenaza de los soldados, de cuya proximidad ni siquiera se apercibe, como un ejemplo clásico del estado de vigilia.

El estoicismo del indio en el tormento y el beduino que para no sentir el dolor y substituir la anestesia empuña su lanza, no son sino casos en que una concentración mental poderosa, logra desconectarlos de algunas de sus sensaciones, tal como ocurre en el sueño más profundo.

La intuición, el más fecundo tal vez de los procesos mentales, no se obtendría ni por reflejos ni por percepciones individuales de nuestros sentidos conocidos, al menos, y otro tanto puede decirse del instinto. Los ciegos de nacimiento tienen también un concepto visual imaginario. La embriaguez causada por la mezcalina, transforma los sonidos en imaginarias visualizaciones.

Si el hombre ha llegado a concebir el estado de vigilia como el normal y el único durante el cual se desarrolla su vida mental, es por el hecho de pasar en él dos terceras partes de la vida. A la inversa, respecto al estado de sueño, en que por el hecho de no pasar en él sino una tercera parte de la vida y llevado por un falso concepto de proporción, ha llegado a considerarlo como el menos importante.

Si comparamos ahora el estado de sueño y el de vigilia con las primitivas formas de vida, sea en la naturaleza con respecto a las especies, sea en los animales superiores durante la vida embrionaria, la similitud que encontramos lógica es la que hay con el sueño y no con la vigilia. Los reflejos de defensa, con la diferenciación celular y orgánica, parecen ser la base del estado de vigilia, así como que los centros nerviosos no actúan sino como acumuladores de los reflejos condicionales.

Esta concepción es bastante macabra y hace que nos presentemos la vida en un estado de semi-sonambulismo parecido al que el Dante nos describe en el Limbo. Esa sería la forma natural de la vida. "Despertar a la vida", se dice en sentido figurado y quizás ese despertar no va siendo sino la consecuencia de nuestra diferenciación orgánica hecha a base de repulsiones sucesivas; desde las más simples manifestaciones vitales del niño que no sabe ni ver y que es incapaz de coordinar sus movimientos, hasta las más elevadas actividades mentales o afectivas.

Hemos incursionado en terrenos que nos están vedados; pero nuestros conceptos pueden explicar y modificar muchas actuaciones si en todos los órdenes esperamos la respuesta antagonista:

Para lograr que un niño que ya comprende, ejecute un acto, basta por lo general pedirle lo contrario. Es un caso de respuesta antagónica natural del individuo y que no deben perder de vista ni el educador ni el psicólogo.

Bien sabemos lo que lograron los romanos cuando quisieron destruir a los Judíos y que no quedara ni uno. En cambio hoy no existen ni 200 de los Samaritanos a quienes se dejó en paz. Se quema y se trata de destruir hasta el último cristiano y el cristianismo se extiende como una atmósfera en la tierra. Estas son las respuestas antagónicas de razas o de creencias a las que se quiere aniquilar. Para acabar con un imperio nada mejor que darle innumerables colonias. Pronto la disconformidad contra el régimen se manifiesta bajo la forma de antagonismo político. Si en el mundo todo se comen hoy las papas, es porque Parmentier se valió del subterfugio de prohibir su cultivo: respuesta de la multitud en forma contraria al estímulo aparente.

Nada de todo esto debe sorprendernos: la repulsión parece ser la gran ley que domina el Universo y no la de atracción universal que sólo se ejerce temporalmente entre una y otra repulsión de ritmos desconocidos: los átomos tienden a dividirse en cargas eléctricas. Las nebulosas espirales que constituyen nuestro cielo están expandiéndose: *repulsión en lo infinitamente grande como en lo infinitamente pequeño.*

A cada uno de estos campos puede llegarse en vías de exploración con la idea de la **repulsión universal** y puede que ella produzca útiles frutos al analizar los problemas.

En los campos de la vida, únicos que nos ha sido permitido entrever, la repulsión universal o sea la respuesta antagónica, podría expresarse en dos leyes que provisoriamente formularíamos así:

- 1° La repulsión se ejerce en razón directa con la sensibilidad.
 - 2° La respuesta antagónica está en razón inversa de la distancia que separa los estímulos.
-

Llegamos al fin de las líneas que la Revista Médica de Costa Rica ofrece a estas investigaciones y a estas ideas. Por la generosa acogida con que siempre nos ha honrado, sentimos verdadera gratitud.

Pueda que la última de estas páginas caiga sobre las anteriores como si fuese un sudario mortuario. Pero quizás en el futuro aparezca alguien que, como el "Angel" de que nos habló Nicolle, las lea y la duda lo incite a investigar de nuevo. Entonces, mientras piense en ello, fumando su pipa, tal vez se diga, como exclamaban los Pieleros Rojas al fumar por última vez en honor del amigo difunto:

*"La brasa de esta pipa,
al arder y transformarse en humo,
deja de ser lo que fue;
pero aunque sea diferente
sigue siendo la misma".*

VARIACIONES DE MOSCAS DEL GENERO *SARCOPHAGA*

Resultados con larvas alimentadas sobre diversas glándulas endocrinas

El objetivo de las investigaciones que vamos a exponer no es estudiar las influencias hormonales de las glándulas de los mamíferos sobre el desarrollo de las moscas, porque para ello habría que experimentar en moscas ovíparas, como las *Lucilia*, cuyas crías asépticas son relativamente fáciles de obtener. Quisi-mos saber, por el contrario, cuáles influencias podrían ejercer sobre los imagos, la alimentación de las larvas sobre diversas glándulas endocrinas en putrefacción cadavérica, es decir, en una de las situaciones en las que esos insectos probablemente están expuestos en la naturaleza.

MATERIALES

Después de algunos ensayos infructuosos, capturamos una *Sarcophaga* que deposita, de una sola vez, un número suficiente de larvas; alrededor de cincuenta sobre un coágulo de sangre donde ya existe un comienzo de putrefacción. Dejamos las larvas durante 24 horas, para tener sobre ellas toda una distribución homogénea de la flora bacteriana. Luego, fueron depositadas, una por una, sobre trozos del mismo peso de hipófisis, de tiroides, de timo, de testículo y sobre músculo de buey (a este último lote, que debía servirnos de testigo, hemos agregado el coágulo sanguíneo que había servido la víspera para la deposición de las larvas). Sobre cada trozo de órgano, depositamos 9 larvas y las colocamos en tubos cubiertos hasta la mitad con tierra de jardín.

CRECIMIENTO

Las larvas que se encuentran sobre el testículo son las que crecieron más y que se muestran más activas.

Al cabo de seis días, las larvas de todos los frascos comenzaron a enterrarse, menos una sobre hipófisis que no se enterró sino hasta el dozavo día. En todos los casos, en el momento de comenzar la ninfosis, ha habido un excedente de alimento, de manera que las probables variaciones no pueden ser atribuidas a su escasez.

ECLOSION

Al trigésimo día, obtuve 5 moscas alimentadas sobre testículo y 1 sobre hipófisis.

Al trigésimo primer día se recogieron 1 de timo; 4 de tiroides; 6 de hipófisis (final de las eclosiones para las larvas de esta última categoría, de las cuales 3 se perdieron).

Al trigésimo segundo día eclosionaron 4 de tiroides (final de las eclosiones de esta categoría, de las cuales se perdió una), 8 de timo (todas las larvas dieron moscas), 3 testigos (músculo y sangre).

El trigésimo tercer día: testigo 2

El trigésimo cuarto día: testigo 1

El trigésimo quinto día: testigo 2

El trigésimo sexto día: testigo 1

Todas las larvas testigos dieron imagos

Desde el punto de vista de las glándulas que sirvieron de alimento a las larvas, la duración de la ninfosis fue progresivamente creciente en el siguiente orden: testículo, hipófisis, tiroides, timo y testigo, con un intervalo del 20% entre las primeras y las últimas moscas aparecidas.

TAMAÑOS DE LOS IMAGOS

Después de habernos asegurado que las diferencias entre las moscas nacidas de las larvas de un mismo lote eran menores que aquellas que encontramos entre cada uno de los diferentes lotes, procedimos a medirlas para establecer las cifras correspondientes. Mirando rápidamente la Figura N° 1 vemos que cada órgano que sirvió de alimento a las larvas produce lo-

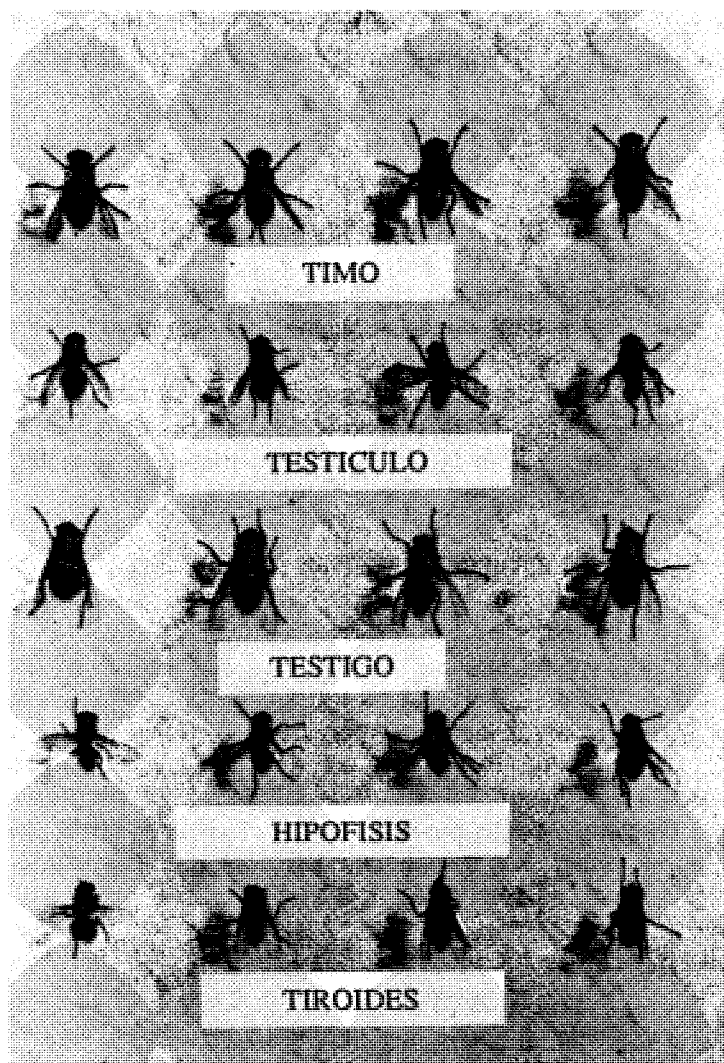


FIGURA N° 1.—*Sarcophaga* proveniente de larvas de una sola postura, alimentadas sobre diferentes glándulas endocrinas. A la izquierda machos, a la derecha hembras.

tes de moscas que presentan entre ellas diferencias de tamaño muy grandes. Los números promedio para las hembras son: 29% de reducción para la hipófisis, 25% para el testículo; 25% para la tiroides y 12% para el timo. La diferencia de tamaño entre los machos y las hembras que es de un 7% para los testigos, nos da 10% para la hipófisis, 15% para el testículo, 5% para la tiroides y 0% para el timo.

El siguiente esquema (Figura N° 2) nos muestra la longitud relativa de las moscas que provienen de los diferentes lotes.

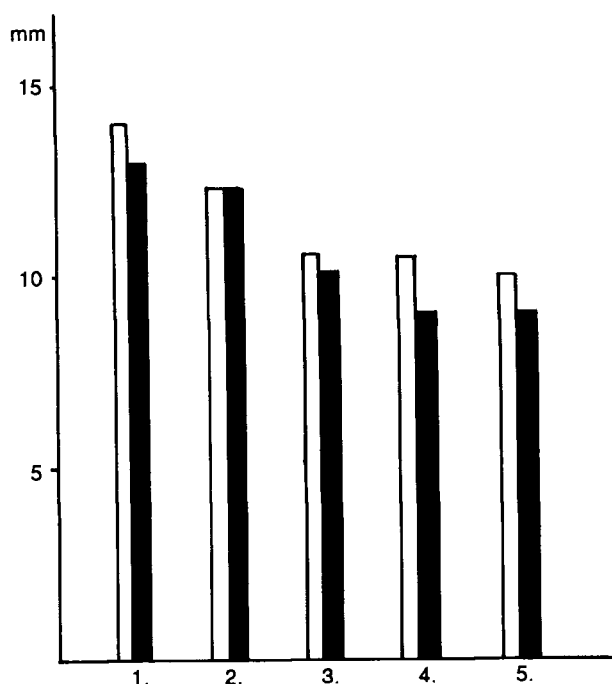


FIGURA N° 2.—Talla relativa de los imagos: 1-Testigo, 2-Timo, 3-Tiroides, 4-Testículo, 5-Hipófisis, -Bandas blancas: hembras, Bandas oscuras: machos.

DISARMONIAS

Si relacionamos las medias reales en los diversos órganos con las que deberían presentar las moscas si hubieran sido armónicamente reducidas y si tenemos en cuenta los caracteres

que se consideran como específicos, de acuerdo con las últimas descripciones de la *Sarcophaga* suramericana, (cuyos diagnósticos han sido hechos por especialistas calificados), vemos que cada lote presenta características bien definidas, de las cuales vamos a resumir los rasgos principales:

Timo

Igualdad en longitud de cuerpo para los dos sexos. El ala 6% más larga, con respecto a la talla. Bosquejo de una espina costal de las alas. Cabeza proporcionada en la hembra;

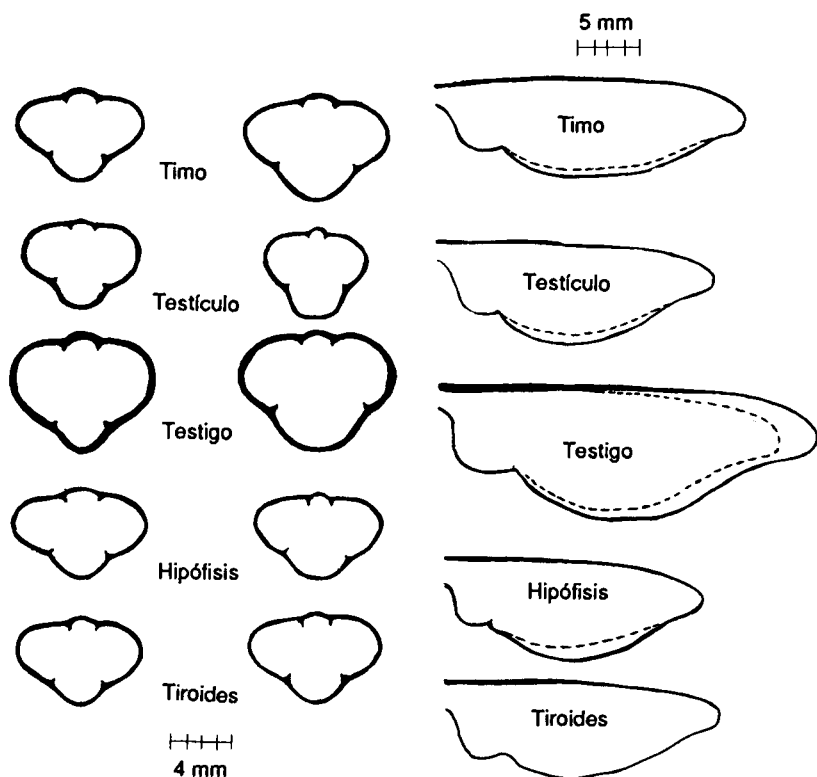


FIGURA Nº 3.—Vista frontal de las cabezas. A la izquierda machos, a la derecha, hembras.

FIGURA Nº 4.—Forma y tamaño de las alas. Trazos completos: hembras, punteados: machos.

ligeramente más ancha en el macho. Cerdas y vibrisas 15% más largas.

Testículo

La diferencia de tamaño entre los machos y las hembras es del doble en relación con los testigos y a costa de los machos. El ala en la hembra 8% y en el macho 11%, más larga que lo normal. Ausencia de espina costal alar. Cabeza 15% más estrecha en la hembra y 15% más ancha en el macho (es el único caso donde las diferencias se producen en sentido opuesto en los dos sexos). Cerdas y vibrisas 13% más largas.

Tiroides

Diferencia de tamaño entre machos y hembras del mismo orden que en los testigos: alrededor de un 5%. Ala proporcionalmente reducida. Espina costal alar muy clara. Cabeza 9% más ancha en los dos sexos. Cerdas y vibrisas 16% más largas, pero las cerdas ocelares, se encuentran por el contrario mucho menos diferenciadas que en las moscas de otras crías.

Hipófisis

Diferencia normal en el tamaño del cuerpo entre machos y hembras. Ala proporcionalmente reducida en la hembra y 9% más corta en el macho (único caso en donde el largo relativo del ala es reducido). La espina costal es mucho más grande que en las otras. Cabeza 30% más ancha en los dos sexos. La diferencia de anchura de las alas de los machos y las hembras es más pronunciada que en las moscas que provienen de otras glándulas.

DISCUSION Y CONCLUSION

De nuestras experiencias, resulta lo siguiente:

1. Que ninguna de las glándulas empleadas, aún en exceso, puede reemplazar el alimento habitual de las *Sarcophaga* sobre los músculos y la sangre en putrefacción.

2. Que entre las glándulas empleadas, es el timo el que proporciona el alimento más completo.
3. Que las necesidades alimentarias son diferentes para cada sexo.

Es así que los machos alimentados sobre timo tienen tamaño casi normal, mientras que las hembras permanecen por debajo de esta talla.

4. El testículo, por el contrario, parece favorecer la talla armónica relativa de las hembras, pero da machos más pequeños en relación con las hembras del mismo lote.
5. La tiroides produce la reducción más armoniosa, ya que las proporciones de los diversos órganos permanecen igual que en los testigos y las diferencias sexuales son también del mismo orden que en éstos.
6. La hipófisis es la glándula que se presta menos para la alimentación de las larvas; los imagos presentan lo que uno podría comparar con el enanismo de los mamíferos: talla reducida, cuerpo más largo, cabeza aplastada y alas acortadas. Los machos son los que sufren más con esta alimentación defectuosa.
7. Entre los caracteres que están modificados por la alimentación de las larvas sobre las diversas glándulas endocrinas, figuran algunos que han sido tomados como características de las especies: ancho del frente, número de vibrisas, relación entre los segmentos antenares, proporción de los ojos, longitud de diversos segmentos de los nervios alares, presencia o ausencia de la espina costal de las alas, etc.
8. Demostramos una vez más que la rapidez del desarrollo prepuberal es inversamente proporcional a la talla definitiva del adulto.

9. Una vez conocidos estos hechos, procedimos a la captura de *Sarcophaga* en pleno vuelo y éstas nos muestran características del todo compatibles con las que obtuvimos experimentalmente, de donde se deriva que en condiciones naturales, estos dípteros están sometidos a cambios eventuales de alimento comparables a aquellos de nuestras crías.
10. Estas variaciones tan grandes entre los diversos individuos de una misma especie contrastan con la uniformidad de algunas moscas de las frutas tales como la *Anastrepha striata*, cuyas larvas parasitan frutas de composición muy diferente (pudiendo variar el pH de 3,2 a 6,4) o pueden ser criadas en medios artificiales y que a pesar de las diferentes circunstancias de alimentación, dan imagos absolutamente comparables. Existe por lo tanto para cada especie de mosca, lo que llamamos un *umbral de sensibilidad* que les es propio, como en los vertebrados superiores.

(Trabajo de Laboratorio del Hospital de San José, Costa Rica).

PRECIPITINAS ANTI-GLANDULAS ENDOCRINAS EN VARIOS TRASTORNOS DE LAS SECRECIONES INTERNAS DEL HOMBRE

C. Picado T.
W. Rotter

I. EXPERIENCIAS PRELIMINARES

En publicaciones anteriores hemos establecido que el suero sanguíneo de diferentes especies animales precipita emulsiones de sus propios órganos a títulos diferentes según los órganos empleados para preparar estas emulsiones¹. Las emulsiones de ciertos tejidos como cerebro o miocardio no son precipitadas sino por diluciones séricas que no pasan de 1/2000, pero las emulsiones de otros órganos, especialmente de las glándulas endocrinas, precipitan por diluciones séricas mucho más sensibles. Por ejemplo: el suero de un conejo de 4 meses de edad precipita la emulsión de bazo a un título de 1/25 000, la del timo a 1/50 000 y la del testículo a 1/50 000. En conejos llegados a la madurez sexual los títulos correspondientes son: 1/60 000, 1/400 000 y 1/400 000 (autoprecipitinas). El suero de un conejo de más de 7 años de edad precipita los órganos citados a diluciones de 1/70 000, 1/1 000 000 y 1/2 000 000, si se usan como antígeno los órganos de un conejo más joven, pero en madurez sexual (isoprecipitinas). Es decir, las precipitinas aumentan con la edad del animal, pero en forma diferenciada para los distintos órganos. Mientras que para el bazo las precipitinas aumentan al doble o al triple, las precipitinas contra timo y testículo aumentan de 20 a 40 veces.

De mucha importancia es que puedan usarse como antígenos los órganos de animales de otras especies, aún de los filogenéticamente muy distantes (heteroprecipitinas). El suero de cobayos u hombres precipita una emulsión de testículo de tortu-

ga a títulos parecidos a los correspondientes a testículo de cobayo (véase Cuadro N° 1). Generalmente usamos como antígeno para el suero de mamíferos (incluido el hombre) los órganos de un cobayo de 4 meses de edad y 400 g de peso, con los que hemos obtenido los mejores resultados.

Pareciera que la cantidad de precipitinas del suero está en relación con la longevidad de los animales. En las aves, de vida relativamente larga, las precipitinas aumentan menos rápidamente que en los roedores, de vida corta. Hemos comprobado la misma relación en varios representantes de vertebrados².

Para conocer mejor las propiedades de las precipitinas hemos emprendido una serie de estudios, de los cuales uno sobre las precipitinas antitímicas y antigonádicas se encuentra en otra publicación³ a la cual nos referiremos para los detalles. Aquí citaremos solamente los datos más importantes, que son necesarios para la buena interpretación de los fenómenos que luego expondremos.

a. Desarrollo de las precipitinas en relación con el crecimiento, madurez e involución de los órganos

Para ilustrar la comprensión de estos fenómenos, creemos útil presentar algunos datos extraídos de un cuadro de la publicación citada, referentes a las precipitinas antitímicas y antigonádicas en el cobayo (Cuadro N° 1).

CUADRO N° 1.—Desarrollo de las precipitinas antitímicas y antigonádicas en el cobayo.

Sexo	Edad	Autoprecipitinas contra timo	Autoprecipitinas contra testículo y ovario
Macho	1 día	1/ > 20 000	1/ > 20 000
Macho	2 meses	1/ 20 000	1/25 000
Macho	3 meses	1/ 75 000	1/100 000
Macho	4 meses	1/ 500 000	1/200 000
Macho	1 año	1/ 750 000	1/250 000
Hembra	45 días	1/ 50 000	1/75 000
Hembra	1 año	1/ 200 000	1/150 000
Hembra	1 año	1/250 000	1/200 000

Estas y muchas otras experiencias realizadas muestran que las precipitinas aumentan progresivamente desde el nacimiento y que las precipitinas antitímicas siguen existiendo en el suero después de la involución del órgano, y aún pueden aumentar un poco. Las precipitinas antitesticulares no aparecen en plena intensidad sino después de la pubertad, que, en el cobayo, comienza a presentarse en el cuarto mes de vida. Antes de la pubertad, las precipitinas antitímicas son más altas que las antigonádicas; después de la pubertad se observa lo contrario. Al comenzar la pubertad, que está acompañada de una serie de trastornos endocrinos, se observa, en el sexo masculino, un fuerte aumento pasajero de las precipitinas, especialmente de las antitesticulares (1/1 000 000 y más). En el sexo femenino no hemos podido observar una "crisis" de las precipitinas durante la pubertad.

b. Valor relativo de los títulos de las precipitinas

Como hemos visto en el párrafo anterior, las precipitinas antitímicas se conservan y hasta aumentan en el suero después de la involución del órgano. Para explicar este fenómeno, recordemos el hecho inmunológico de que las aglutininas y precipitinas experimentales se dividen en específicas y no específicas (de grupo); suponemos que lo mismo sucede con nuestras precipitinas. Además, existen los anticuerpos experimentales heterólogos, que en el caso de inmunidad múltiple basta reforzar un solo anticuerpo para que los demás anticuerpos que existen simultáneamente en el suero, también se aumenten automáticamente⁴. Lo mismo sucede en las precipitinas naturales de las cuales hablamos. Las precipitinas antitímicas se aumentan automáticamente al aparecer las precipitinas antitesticulares, a pesar de que el timo ya ha pasado por la cima de su evolución. Resulta pues, que el título absoluto de las precipitinas tiene un valor muy restringido; para la interpretación de los hechos lo esencial son los títulos relativos de las precipitinas entre sí. Ya mencionamos la relación entre las precipitinas antitímicas y antigonádicas antes y después de la pubertad, presentando un fenómeno de cruzamiento de curvas.

c. Aparición de las precipitinas en el suero e hipersensibilidad antigénica de los órganos según aumenta la edad

Usando el método de las precipitinas cruzadas, en animales de edades diferentes, encontramos que un órgano ya tiene propiedades antigénicas antes de que las precipitinas correspondientes aparezcan en el suero, es decir, que la aparición de las precipitinas en el suero depende de la función específica anterior del órgano.

Además encontramos que al aumentar en edad ciertos órganos, se aumentan también en sensibilidad como antígeno. Se ve, por ejemplo, en cobayos, que no se produce ninguna inmunidad del órgano, aunque los anticuerpos formados contra él en el suero aumenten; al contrario, se hipersensibilizan. En otras palabras, podría decirse que los órganos se encuentran en la alternativa de sucumbir por los anticuerpos dirigidos contra ellos (involución), o superarlos por la continua neoformación de células, que todavía no se han hipersensibilizado.

ch. Especificidad de las precipitinas

Para comprobar la especificidad de las precipitinas usamos el método de la saturación específica por antígenos homólogos. Así encontramos, por ejemplo, que suero saturado con timo pierde su poder precipitante contra timo casi totalmente, mientras que la mayor parte de las precipitinas antitesticulares se conserva, lo cual muestra, que las precipitinas antitímicas y antigonádicas no son idénticas. Si se usa en un experimento parecido testículo infantil, en lugar de testículo maduro, para la saturación del suero, las precipitinas contra timo y testículo infantil se disminuyen a la mitad, pero las contra testículo adulto solamente en una quinta parte, de lo cual resulta que las precipitinas contra testículo infantil son, en su mayor parte, no específicas (de grupo) y pertenecen tal vez a un grupo hipotético contra "órganos infantiles". Llama la atención que la saturación del suero con testículo adulto elimina la totalidad de las precipitinas, fenómeno que no aparece si se usa el suero de animales

castrados. Al parecer no se trata en este fenómeno de una absorción de las precipitinas, sino de una destrucción, cuyo mecanismo desconocemos todavía. Esta cualidad no es compartida por las aves y es así, por ejemplo, que el testículo de gallo no destruye las precipitinas contra las otras glándulas.

d. Multiplicidad de las precipitinas contra órganos de funciones distintas y alternativas

Al saturar el suero de hembras adultas, sea con ovario infantil, sea con ovario de una hembra adulta no grávida o con ovario de una hembra grávida, no hay nunca una absorción total de las precipitinas. Solamente si se usa un "antígeno sintético" compuesto de ovarios de una hembra adulta no grávida y de una hembra grávida se encuentra absorción total de las precipitinas antiováricas, es decir, órganos con secreciones múltiples producen también precipitinas específicas múltiples, correspondiendo a las diferentes funciones del órgano. También para la hipófisis del cobayo encontramos una multiplicidad de las precipitinas antihipofisarias.

e. Precipitinas y embarazo

Durante el embarazo todas las precipitinas anti-órganos endocrinos están aumentadas, especialmente las antihipofisarias y las antiováricas. En una coneja alcanzaron las precipitinas antitímicas y antiováricas, al fin del embarazo, los títulos respectivos de 1/2 000 000 y 1/4 000 000.

Al examinar el suero de cobayos recién nacidos y la sangre umbilical humana no encontramos precipitinas que, por consiguiente, no atraviesan la placenta. Solamente los sueros de algunos cobayos recién nacidos, con crecimiento precoz, presentaron precipitinas antitesticulares de un título mayor de 1/20 000.

Durante las primeras semanas del puerperio encontramos en la orina de mujeres un aumento de las precipitinas antiováricas. En la leche humana no se encontraron generalmente precipitinas, salvo en la leche de madres que amamantaban a niños que presentaban el fenómeno de "pubertad miniatura"

(aumento del volumen testicular, secreción de leche), lo que hace suponer que también las hormonas correspondientes pasaban a través de la glándula mamaria.

f. Precipitinas en hombres normales en relación con la edad

Los títulos de estas precipitinas, con los promedios últimamente obtenidos⁵ se resumen en el Cuadro N° 2. En todos los casos el antígeno fue constituido por una emulsión de glándulas de cobayo de 450 g.

CUADRO N° 2.—Precipitinas de hombres normales en Costa Rica.

Antígeno	NIÑOS		ADULTOS		VIEJOS	
	Varones	Niñas	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres
Suprarrenal	1/50 000		1/50 000		1/70 000	
Páncreas	1/40 000		1/100 000		1/150 00	
Timo	1/50 000	1/60 000	1/90 000	1/100 000	1/200 000	1/150 000
Tiroides	1/50 000	1/40 000	1/75 000	1/90 000	1/100 000	1/100 000
Testículo	1/60 000	1/30 000	1/200 000	1/100 000	1/350 000	1/250 000
Hipófisis	1/50 000	1/50 000	1/100 000	1/150 000	1/150 000	1/200 000

Técnica.—Se muelen con arena los órganos y se hace una suspensión al 1% en agua de sal al 9 por mil. Se deja en nevera 4 a 24 horas, se centrifuga y se filtra repetidas veces para obtener un líquido homogéneo en que se percibe una fina emulsión de lipoides. Se distribuye a razón de 1 cm³ por tubo. Antes de añadir, por medios décimos de cm³ el suero diluido que se examina, habrá siempre que constatar la ausencia de precipitado en los tubos y si lo hubiere habrá que centrifugar y filtrar de nuevo. El suero debe mezclarse con suavidad pues las agitaciones bruscas precipitan aún las emulsiones sin suero. Una vez mezclado el suero se examina al aglutinoscopio x 25 y si aún no se percibe la formación de precipitado, se van añadiendo suplementos de suero hasta obtenerlo. Pronto se adquiere la práctica necesaria.

II. PRECIPITINAS Y TRASTORNOS ENDOCRINOS

Después de estas explicaciones preliminares, que hemos creído necesarias, abordaremos el tema de esta publicación. No tenemos que recalcar que se trata en las observaciones siguientes de los primeros ensayos con un método nuevo y que, por lo tanto, la interpretación sufre todavía ciertas dificultades. Sin embargo queremos anotar de nuevo un hecho importantísimo para la buena interpretación de los fenómenos que vamos a describir: que el título absoluto de las precipitinas no está en relación directa con la hiper o hipofunción del órgano correspondiente; que puede corresponder a la hiperfunción de un órgano una disminución y a la hipofunción un aumento de las precipitinas o que, al disminuir la función de un órgano, disminuyan las precipitinas o viceversa. Las relaciones mutuas entre órganos y anticuerpos pueden estar alteradas en forma tan variada que, hasta ahora, no siempre es posible interpretar bien los fenómenos encontrados. Además, hay que considerar que la persistencia de las precipitinas en el suero puede influenciar mucho su título, pues a la hipofunción puede anteceder un estado de hiperfunción cuyos rastros puedan permanecer en el suero por cierto tiempo. Pero, puede decirse ya, que un cambio de los títulos relativos entre las diferentes precipitinas significa con seguridad un trastorno de las funciones de uno o de varios órganos, pues considerando las estrechas relaciones que existen entre las glándulas endocrinas, es probable que un trastorno funcional de una de ellas repercuta también sobre otras.

Queremos mencionar aquí que, por varios motivos, hemos tenido cierta dificultad en procurarnos el material humano necesario, de manera que, en algunos de los casos no hemos podido conseguir datos clínicos tan completos como hubiésemos deseado. A todos los colegas que nos han ayudado en esta tarea queremos expresar nuestro agradecimiento, así como al señor Luis Bolaños E., que con su trabajo hábil y desinteresado nos ha prestado grandes servicios.

a) Trastornos de la función tiroidea

Sobre los trastornos tiroideos hemos publicado ya una nota corta⁶. Veamos ahora algunos casos de bocio coloide.

CUADRO N° 3.—Precipitinas anti-cavia en casos de bocio coloide.

Antígeno Cavia Macho 600 g	Autopre- cipitinas Cavia	Bocio Coloide Mujer 35 años	Bocio Coloide Mujer 42 años	Bocio Coloide Mujer 50 años	Testigo Mujer 24 años	Testigo Mujer 40 años	Testigo Mujer 60 años
Páncreas	1/100 000	1/50 000	1/75 000	1/50 000	1/50 000	1/50 000	1/75 000
Supra- renal	1/75 000	1/200 000	1/150 000	1/100 000	1/100 000	1/75 000	1/75 000
Timo	1/200 000	1/100 000	1/100 000	1/150 000	1/100 000	1/100 000	—
Tiroides	1/75 000	1/500 000	1/75 000	1/250 000	1/75 000	1/100 000	—
Testículo	1/500 000	1/100 000	1/100 000	1/200 000	1/50 000	1/50 000	1/100 000
Hipófisis	1/75 000	1/500 000	—	—	1/100 000	—	—

CUADRO N° 4.—Precipitinas contra tiroides bovina en casos de bocio coloide.

Antígeno	Bocio Coloide Mujer 48 años	Bocio Coloide Varón 43 años	Testigo Mujer 9 años	Testigo Mujer 35 años	Testigo Mujer 43 años	Testigo Varón 25 años	Testigo Varón 41 años	Testigo Varón 47 años
	1/300 000	1/250 000	1/50 000	1/50 000	1/100 000	1/50 000	1/100 000	1/50 000

De los Cuadros N° 3 y 4 resulta que las precipitinas contra tiroides normal están aumentadas y, a veces, muy aumentadas, en los casos de bocio coloide, comparándolas con las de personas normales. No importa usar como antígeno las glándulas tiroides de cobayos o de bueyes.

Había que esperar que se mostraran también trastornos de las precipitinas de otras glándulas endocrinas. El Cuadro N° 3 muestra que es así: las precipitinas antihipofisarias están aumentadas cinco veces, las antitesticulares al doble. Las precipitinas antisuprarrenales muestran también un aumento aunque de intensidad variada. (La cifra de 1/100 000, correspondiente a las precipitinas antisuprarrenales de la mujer testigo de 24 años, sobrepasa considerablemente el título normal de una persona de esta edad. Buscando más datos sobre esta enferma llegamos a saber que padecía de una gonorrea complicada con bubones, y es de suponer que el título alto de las precipitinas antisuprarrenales se debe a dicha enfermedad).

En resumen, podemos decir que, en los casos de bocio coloide (y lo mismo sucede en casos de bocio basedowiano), las precipitinas antipancréaticas y antitímicas no muestran irregularidades, pero que las precipitinas contra el grupo de órganos tiroides, hipófisis, gónadas y suprarrenales, muestran un aumento considerable, particularmente fuertes para las precipitinas antitiróideas y antihipofisarias.

Seguimos con un caso típico de Basedow. A la enferma, de 42 años de edad, le fue extirpado más tarde el bocio. El examen histológico mostró el cuadro típico de un bocio basedowiano.

CUADRO N° 5.—Precipitinas en casos de enfermedad de Basedow y de adenoma tubular de la tiroides.

Antígeno Cavla Hembra 500	Autopre- cipitinas Cavla	Morbus Basedow Mujer 42 años	Adenoma Tubular Mujer 20 años	Testigo* Mujeres Adultas	Testigo* Varones Adultos
Suprarrenal	1/75 000	1/150 000	1/125 000	1/100 000	1/150 000
Timo	1/100 000	1/200 000	1/100 000	1/150 000	1/100 000
Tiroides	1/100 000	1/25 000	1/100 000	1/100 000	1/100 000
Ovario	1/100 000	1/150 000	1/200 000	1/150 000	1/75 000
Hipófisis	—	1/100 000	1/200 000	—	—

* Como sueros testigos se usaron mezclas de sueros de personas adultas, sanas; femeninas y masculinas.

Considerando el Cuadro N° 5, llama la atención que las precipitinas antitiróideas están muy bajas, a la inversa del gran aumento de ellas en los casos de bocio coloide o basedowiano. Las otras precipitinas muestran un ligero aumento, entre otras, las precipitinas antitímicas, hecho que no ocurre en nuestros casos de bocio coloide. Las precipitinas antihipofisarias y antigonádicas no están aumentadas, haciendo ello contraste con los casos de bocio coloide en que sí lo están y, a veces, mucho.

Completamos la observación anterior con el Cuadro N° 6, que muestra las precipitinas de una muchacha de 10 años de edad con sintomatología basedowiana aunque no muy típica. Todas las precipitinas son relativamente bajas, pero las precipiti-

nas antitiróideas están más disminuidas que las de las otras glándulas. Las precipitinas antitímicas no están aumentadas en este caso.

CUADRO N° 6.—Precipitinas en enfermedad de Basedow

Antígeno Cavia Macho 620	Autoprecipitinas Cavia	Enfermedad De Basedow Niña 10 años	Testigo Niña 10 años
Suprarrenal	1/100 000	1/32 000	1/50 000
Timo	1/100 000	1/50 000	1/75 000
Tiroides	1/75 000	1/25 000	1/50 000
Testículo	1/500 000	1/20 000	1/ > 20 000
Hipófisis	—	1/50 000	—

De interés particular es el caso de adenoma tubular (Cuadro N° 7). En esta mujer de 20 años de edad se encontró una disminución de las precipitinas antitiróideas, que solo llegan a 1/10 000. El examen histológico que se practicó después de la extirpación de la glándula reveló que se trataba de un adenoma tubular que no contenía coloide y que, según Wegelin, representa una persistencia de un estado evolutivo de la tiroides. A este estado corresponde la ausencia casi total de precipitinas antitiróideas, sea que se usara como antígeno tiroides de cobayo o de buey. Se encuentra en este último caso un aumento de las precipitinas antiováricas y antihipofisarias, hecho que no encontramos en el caso de Basedow, con el cual comparte las bajas precipitinas antitiróideas. Tiene de común con los casos de bocio coloide, el título alto para las precipitinas antiováricas y las antihipofisarias.

Del Cuadro N° 7 resulta, además, que el bocio basedowiano es un antígeno malo para las precipitinas contra tiroides normal, pues el suero de personas normales reacciona muy poco contra él, al contrario de los bocios coloides, que constituyen un antígeno hipersensibilizado, como lo muestra el Cuadro N° 8.

CUADRO N° 7.—Precipitinas en un caso de adenoma tubular de la tiroides.

Antígeno coneja hembra 1500 g	Autopreci- pitinas Lepus	Adenoma Tubular 20 años Mujer	Testigo 22 años Mujer	Testigo 34 años Varón	Enfermedad de Basedow 42 años Mujer
Páncreas	1/50 000	1/200 000	1/200 000	—	—
Suprarrenal	1/100 000	1/100 000	1/75 000	—	—
Timo	1/300 000	1/100 000	1/100 000	—	—
Tiroides	1/150 000	1/50 000	1/250 000	—	—
Ovario	1/150 000	1/200 000	1/100 000	—	—
Hipófisis	1/150 000	1/125 000	1/80 000	—	—
Tiroides bovina	—	1/10 000	1/75 000	1/75 000	1/32 000
Bocio Base- dowiano	—	—	1/50 000	1/50 000	—

CUADRO N° 8.—Precipitinas contra tiroides normal y bocio coloide.

ANTIGENO	Bocio Coloide Mujer 51 años	Bocio Coloide Mujer 45 años	Testigo Mujer 40 años	Testigo Mujer 32 años	Testigo Varón 39 años
Tiroides normal co- bayo macho 500 g	—	1/150 000	1/100 000	1/75 000	—
Tiroides normal ca- dáver humano va- rón 46 años	1/250 000	1/250 000	1/100 000	1/100 000	1/100 000
Bocio coloide cadá- ver humano mujer 35 años	1/500 000	1/500 000	1/500 000	1/1 000 000	1/500 000
Bocio coloide hom- bre preparado de operación	1/1 000 000	1/500 000	1/500 000	1/650 000	1/250 000

Muy instructivo para apreciar las relaciones entre antígeno y anticuerpos en casos de bocio coloide es el Cuadro N° 9. En el bocio de la mujer de 48 años operada, el estudio histológico mostró que se trataba de un gran adenoma coloide con procesos regresivos muy avanzados. La enferma (mujer de 25 años)

mostró clínicamente signos de hipertiroidismo (bocio basedowifido). El muchacho de 12 años mostró signos de cretinismo y forma la transición a los casos siguientes de cretinismo típico.

Las Figuras N° 1, 2 y 3 muestran cortes de las biopsias tiroideas.

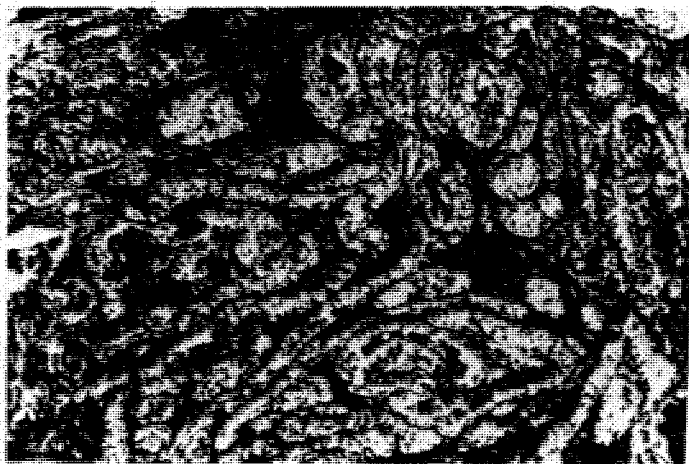


FIGURA N° 1.—Adenoma tubular de la tiroides, mujer de 20 años, del Cuadro N° 5.

CUADRO N° 9.—Precipitinas en varios bocios coloide y cretinismo.

ANTIGENO	Bocio coloide Mujer 48 años	Cretinoide Varón 12 años	Testigo Varón 12 años	Bocio coloide Mujer 25 años	Testigo Mujer 25 años	Testigo Mujer 47 años
Tiroides Cavia	1/75 000	1/200 000	—	1/250 000	—	—
Tiroides Buey	1/50 000	1/100 000	1/32 000	1/500 000	1/75 000	1/75 000
Bocio Coloide Mujer 48 años	1/300 000	1/40 000	1/40 000	1/32 000	1/50 000	1/50 000
Hipófisis Cavia	—	—	—	1/500 000	—	—
Hipófisis Buey	1/750 000	1/500 000	1/100 000	1/750 000	1/200 000	1/100 000
Testículo Cavia	1/32 000	1/200 000	—	1/100 000	—	—
Timo Cavia	1/75 000	1/75 000	—	—	—	—
Suprarrenal Cavia	1/75 000	1/75 000	—	—	—	—

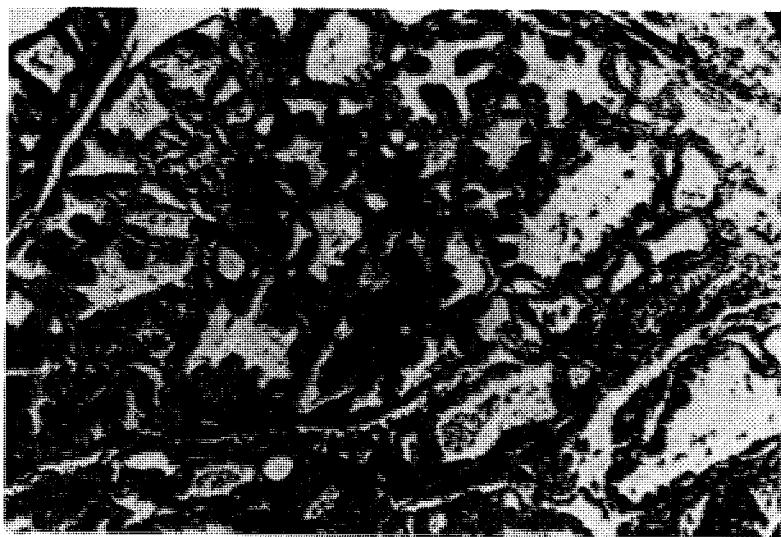


FIGURA Nº 2.—Bocio basedowiano. Mujer de 42 años del Cuadro Nº 5.

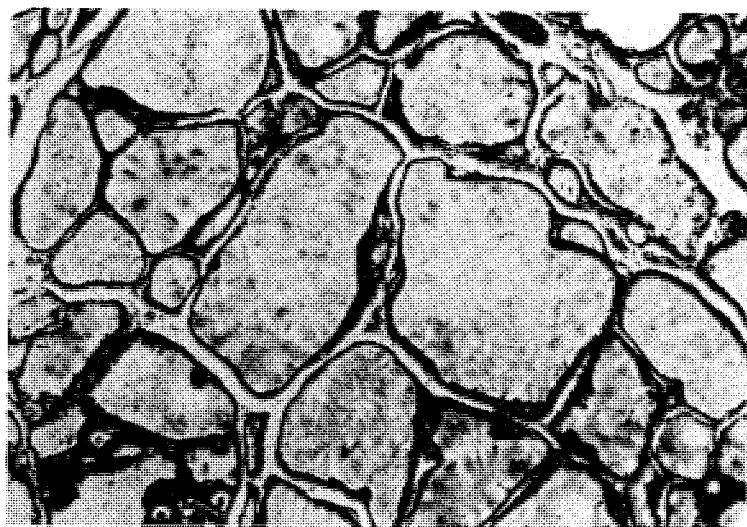


FIGURA Nº 3.—Bocio coloide. Mujer de 48 años del Cuadro Nº 9.

Llama la atención que el suero de la enferma de 48 años, con bocio coloide, casi no contiene precipitinas contra tiroides normal (cobayo y buey), sino solamente contra el propio adenoma tiroideo, y que en los casos de bocio coloide (mujer de 25 años), de cretinismo, y en los testigos, faltan las precipitinas específicas contra el adenoma tiroideo de mujer de 48 años. El examen histológico que se practicó después de la extirpación del adenoma de esta paciente reveló que no existía en el preparado operatorio, tejido tiroideo normal. Los fenómenos arriba mencionados se pueden explicar solamente suponiendo que se formaban en el adenoma (y pasaron a la sangre) sustancias que no existen en tiroides normales ni en otros bocios coloides como los del caso de la mujer de 25 años y del cretinoide, es decir, que se trata en este caso de una disfunción nítida, fenómeno que no presentan otros bocios coloides que, al contrario, representan un antígeno hipersensibilizado también para las precipitinas de individuos normales.

Pasando al muchacho cretinoide de 12 años de edad, vemos que las precipitinas antitiroideas y antihipofisarias están muy aumentadas como en los casos de bocio coloide. Las demás precipitinas muestran un aumento moderado, con excepción de las antitesticulares que, para la edad del individuo, están en aumento considerable.

Seguimos con dos casos nítidos de mixedema. En el primero se trata de una niña de 4 años de edad, que medía 0,75 m y pesaba 13,5 kilos (Figura N° 4).

El segundo caso se refiere a una muchacha de 19 años, con facies mixedematoso típico. La menstruación se presentó por primera vez a los 16 años, pero pronto volvió a desaparecer. Algunos dientes de leche existen todavía. Wassermann y Kahn negativas.

El Cuadro N° 10 muestra las precipitinas correspondientes. Mientras que las precipitinas antipaneáticas, antipararrenales y antihipofisarias están poco aumentadas, las precipitinas antitiroideas y antigonádicas tienen un aumento muy considerable. Las precipitinas antitímicas muestran una disminución a la mitad. Queremos recalcar especialmente el hecho de que en la niña de 4 años, las precipitinas antitiroideas toman 1/3 del total,

mientras que en el caso de 16 años y en otros mixedematosos adultos, aunque la totalidad de precipitinas sea muy alta, las antitiróideas no son sino $1/7$ o $1/8$. Todo se pasa como si faltar de antígeno el cuerpo no continuara la elaboración de estos anticuerpos, lo cual va de acuerdo con la atrofia temprana de esta glándula.



FIGURA Nº 4.—Mixedema. Niña de 4 años que figura en el Cuadro Nº 10.

CUADRO N° 10.—Precipitinas en casos de Mixedema Congénito.

Antígeno Cavia hembra y ma- cho 400 g	Autopre- cipitinas Cavia	Mixedema Mujer 19 años	Mixedema Niña 4 años	Testigo Mujer 16 años	Testigo Varón 8 años
Páncreas	1/50 000	1/1 000 000	1/75 000	1/50 000	1/75 000
Suprarrenal	1/100 000	1/250 000	1/75 000	1/32 000	1/32 000
Timo	1/100 000	1/1 000 000	1/25 000	1/50 000	1/50 000
Tiroides	1/75 000	1/500 000	1/200 000	1/32 000	1/32 000
Testículo	1/400 000	1/500 000	1/100 000	1/> 20 000	1/32 000
Ovario	—	1/2 000 000	—	—	—
Hipófisis	1/75 000	1/500 000	1/75 000	1/50 000	1/50 000

En la cretina de 19 años, llama la atención el aumento fuerte de todas las precipitinas. La relación entre las precipitinas se ha acercado a lo normal. Relativamente altas son las precipitinas antigonádicas y las antipancreáticas (el azúcar sanguíneo no está aumentado).

Veamos ahora el caso de un enano mixedematoso de 56 años de edad (Figura N° 5). Pesaba 44 kg.; mide 1,35 m. Hay hipogenitalismo (semicriptorquidismo, ausencia de pelo pubiano y de barba). Las precipitinas se anotan en el Cuadro N° 11. Para explicar los títulos, sorprendentes a primera vista, hay que suponer que el nivel de las precipitinas está disminuido generalmente, con aumento relativo de algunas de ellas.

CUADRO N° 11.—Precipitinas en un caso de enanismo mixedematoso.

Antígeno Cavia macho 460 g	Autoprecipi- tinas Cavia	Mixedema Varón 56 años	Testigo Varón 18 años	Testigo Varón 40 años
Páncreas	1/75 000	1/ > 20 000	1/50 000	1/75 000
Suprarrenal	1/100 000	1/ > 20 000	1/100 000	1/100 000
Timo	1/75 000	1/50 000	1/75 000	1/100 000
Tiroides	1/50 000	1/100 000	1/75 000	1/200 000
Testículo	1/400 000	1/500 000	1/100 000	1/400 000
Hipófisis	1/75 000	1/75 000	—	—
Testículo tortuga	1/500 000	1/400 000	1/100 000	1/500 000

Si suponemos que los títulos de las precipitinas antipancreáticas y antissuprarrenales se han disminuido a la quinta parte de lo normal, se deben considerar bastante altos los títulos de las precipitinas antitiróideas, antihipofisarias y antitesticulares, a pesar del valor absoluto bajo. El nivel bajo de las precipitinas, opuesto al del caso anterior, podría explicarse por la duración más larga del proceso patológico en este caso, si no son causas complejas que desconocemos.

Se necesitarán observaciones mucho más numerosas para aclarar estos problemas, pero este caso ya enseña muy claramente lo mencionado anteriormente, que *los títulos absolutos tienen un valor muy restringido en relación con los títulos relativos*.

Respecto al nivel general de las precipitinas, queremos mencionar aquí una observación que, en caso de confirmarse, tendría mucha importancia biológica. En un prostático de 70 años encontramos que todas las precipitinas se aumentaron antes de la muerte.

CUADRO Nº 12.—Aumento de las precipitinas antes de la muerte.

Antígeno Cavia	Prostático 18 meses antes de la muerte	Prostático 2 meses antes de la muerte	Testigo Varón 45 años
Suprarrenal	1/25 000	1/200 000	1/75 000
Timo	—	1/200 000	1/100 000
Tiroides	—	1/100 000	1/50 000
Testículo	1/100 000	1/500 000	1/200 000
Hipófisis	1/75 000	1/200 000	1/100 000
Páncreas	1/50 000	1/100 000	1/100 000

El aumento general de las precipitinas podría estar causado en este caso tanto por procesos patológicos como por una "supremacía" de los anticuerpos *ante mortem*, y comunicamos nuestra observación, solamente porque hemos notado el mismo fenómeno en varios conejos muy viejos, de una edad de más de 8 años. Sin embargo se necesitarán muchas otras observaciones para fijar este concepto.

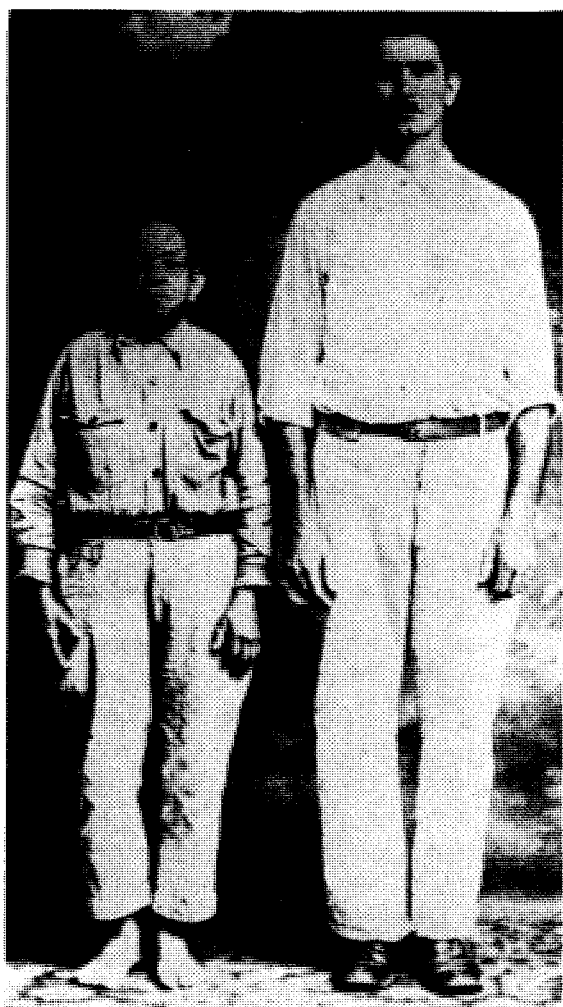


FIGURA N° 6.—Enanismo con mixedema e hipogenitalismo. Hombre de 56 años junto a un testigo normal de cerca de 40 años. (Véase Cuadro N° 11).

b) Trastornos de la función hipofisaria

Trataremos ahora de los casos en los cuales el trastorno de la función hipofisaria parece ser el más importante, y comenzamos con un caso típico de distrofia adiposogenital en una muchacha de 18 años que, siendo de poca altura, pesaba cerca de 100 kg.

CUADRO N° 13.—Precipitinas en un caso de distrofia adiposogenital.

Antígeno Cavia Macho 500 Hembra 500	Autoprecipitinas Cavia	Distrofia Adi-genit Mujer 18 años	Testigo Mujer 18 años
Páncreas	1/75 000	1/100 000	1/75 000
Suprarrenal	1/100 000		1/50 000
Timo	1/100 000	1/100 000	1/75 000
Tiroides	1/75 000	1/100 000	1/75 000
Testículo	1/500 000	1/50 000	1/32 000
Ovario	1/200 000	1/200 000	1/50 000
Hipófisis	1/100 000	1/600 000	1/100 000
Hipófisis buey Lób. ant.	—	1/750 000	1/200 000
Hipófisis buey Lób. post.	—	1/500 000	1/100 000

El caso muestra un aumento de las precipitinas antihipofisarias a seis veces lo normal y de las antiováricas cuatro veces, mientras el resto de las precipitinas no muestra un aumento nítido. Al examinar separadamente las precipitinas contra lóbulo anterior y posterior de una hipófisis de buey, se encontró que, aunque están aumentadas las precipitinas contra los dos lóbulos, las precipitinas contra lóbulo anterior son más altas que las contra lóbulo posterior. (Todavía no tenemos experiencias suficientes sobre el comportamiento de sueros normales respecto a las precipitinas contra los lóbulos anterior y posterior. Además, hay que notar que no se puede considerar como normal la hipófisis de buey, pues se trata de la hipófisis de un castrado).

En el caso siguiente, una mujer de 54 años, existían signos nítidos de acromegalia (Figuras N° 6 y 7). Aumento del tamaño de las manos y de los pies, engrosamiento de los mismos, que no están alargados; dilatación de la silla túrcica. (Figura N° 8).



*FIGURA N° 6.-
Acromegalia. Mujer
de 54 años que
figura en el Cuadro
N° 14.*



*FIGURA N° 7.-
Manos de la
acromégala del
Cuadro N° 14.
Arriba, manos
de una testigo
de la misma
edad.*

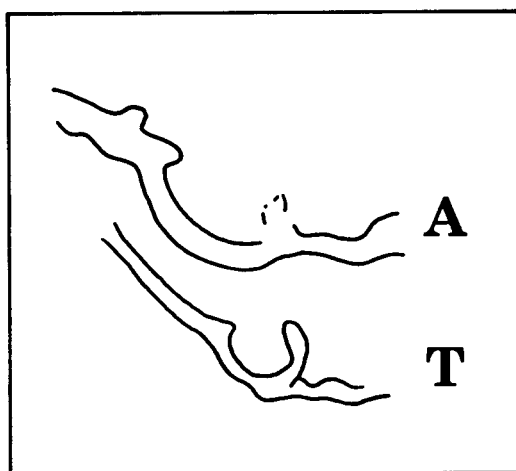


FIGURA N° 8.—Calco de la radiografía de la silla túrcica de la acromégala (A) del Cuadro N° 14 y de un testigo (T).

CUADRO N° 14.—Precipitinas en un caso de acromegalia.

Antígeno Cavia Macho 475 g	Autoprecipitinas Cavia	Acromegalia Mujer 54 años	Testigo Mujer 51 años	Testigo Mujer 59 años
Hipófisis buey Lób. post.		1/250 000	1/125 000	—
Suprarrenal	1/50 000	1/500 000	1/250 000	1/200 000
Timo	1/75 000	1/250 000	1/250 000	1/150 000
Tiroides	1/125 000	1/750 000	1/250 000	1/200 000
Testículo	1/100 000	1/750 000	1/150 000	—
Hipófisis	—	1/300 000	1/200 000	—
Hipófisis buey Lób. ant.	—	1/800 000	1/250 000	—

Las precipitinas antitímicas y antisuprarrenales están aumentadas dos veces, las antigonádicas tres veces y las antihipofisarias cuatro veces. Solamente las precipitinas antitiróideas resultaron normales. Se hace notar el aumento muy marcado de las precipitinas contra lóbulo posterior de una hipófisis de buey (de castrado), mientras que se hubiera esperado un aumento más fuerte contra lóbulo anterior.

Continuamos con dos casos que hemos considerado como caquexia de Simmond, aunque este diagnóstico quede bastante inseguro.

CUADRO N° 15.—Caquexia hipofisaria y otros disturbios endocrinos tratados por hormonoterapia. G. O. mujer 18 años.

Antígeno	I Abril 24	II Mayo 7	III Junio 4	IV Agosto 27	V Octubre 2
Páncreas	>1/20 000	1/150 000	1/50 000	1/75 000	—
Suprarrenal	>1/20 000	1/100 000	1/75 000	1/75 000	1/50 000
Timo	>1/20 000	1/75 000	1/50 000	1/75 000	1/75 000
Tiroides	>1/20 000	1/50 000	1/50 000	1/75 000	1/32 000
Testículo	>1/30 000	1/50 000	>1/20 000	>1/10 000	1/200 000 (ovario)
Hipófisis	>1/20 000	—	1/75 000	—	1/80 000

El primer caso se refiere a una joven, demente, que pudimos seguir por varios meses gracias a la cooperación del Sr. Director del Asilo de enfermedades mentales de nuestro país, Dr. R. Chacón Paut; este caso nos ofrece datos interesantes para la interpretación general de la exploración del funcionamiento glandular por medio de las precipitinas. Cuando llegó al Asilo había gran extenuación y las precipitinas bajísimas (I) menos de medio gramo por mil como glucemia y ausencia de menstruación desde hacía varios meses. Se trata con inyecciones de lóbulo anterior de hipófisis y en la columna II vemos cómo se ha logrado que suban gracias al estímulo de las inyecciones hipofisarias; la glucemia es entonces de 0,75 por mil.

Se suspende el tratamiento y un mes más tarde (III) vemos que las precipitinas comienzan a bajar, la glucemia es de 0,33 y las reglas no se han restablecido.

Se somete a un tratamiento por vía oral de tiroides y ovarina que hacen subir nuevamente las precipitinas, con excepción de las antitesticulares (IV). Se inyecta luego, durante dos semanas, con progynon (50 U.S. cada inyección), y entonces asistimos al aumento de las precipitinas antigónádcas (ovario en este caso) pero con baja de las tiróideas.

Una enfermedad intercurrente y la llevada fuera del Asilo de la paciente, nos impidieron continuar las observaciones, pero de lo anterior se saca bien en claro que las precipitinas fueron aumentadas, especialmente por tiroides y progynon, mientras que el tratamiento por inyecciones de lóbulo anterior de hipófisis, levanta la totalidad de las precipitinas. En otro caso reciente hemos visto lo mismo.

En el segundo caso, un hombre de 44 años cuyo diagnóstico también es dudoso. En él, había comenzado hacía 10 meses una consunción muy fuerte que había avanzado a un grado extremo. No fue posible encontrar clínicamente lesiones orgánicas. El examen de las precipitinas mostró una lesión casi aislada de la función hipofisaria; las precipitinas antihipofisarias (Cuadro N° 16) estaban aumentadas cinco veces. De las otras precipitinas, solamente las antitesticulares muestran un ligero aumento. Podría ser que la diferencia en el comportamiento de las precipitinas entre este caso y el anterior esté basada en la diferencia del tiempo que la enfermedad ha transcurrido en cada cual (10 meses en el segundo caso), y que las precipitinas antihipofisarias se han conservado todavía en el suero a pesar de que la función hipofisaria haya disminuido o terminado.

CUADRO N° 16.—Precipitinas en un caso de caquexia de Simmond. (?)

Antígeno Cavia Macho 620 g	Autoprecipitinas Cavia	Caquexia de Simmond (?) Varón 44 años	Testigo Varón 44 años
Suprarrenal	1/100 000	1/75 000	1/75 000
Timo	1/100 000	1/100 000	1/100 000
Tiroides	1/75 000	1/100 000	1/75 000
Testículo	1/500 000	1/400 000	1/250 000
Hipófisis	—	1/>1 000 000	1/200 000

El enfermo, candidato a ser operado por una úlcera gástrica, fue tratado por medio de inyecciones hipofisarias totales por nuestro amigo el Dr. Don Jorge Vega R, y el éxito fue tan completo que el enfermo no ha querido volver a practicarse ningún examen.

Estudiamos dos casos de enanos hipofisarios, en los cuales el examen de las precipitinas también ha revelado un trastorno preponderante de la función hipofisaria. En el primer caso se trata de un hombre de 24 años de edad, cuya altura y tamaño parecen los de un muchacho de 14 años. Hay carencia completa de la barba.

CUADRO N° 17.—Precipitinas en un caso de enanismo hipofisario.

Antígeno Cavia Macho 580 g	Autoprecipitinas Cavia	Enano Varón 24 años	Testigo Varón 22 años
Páncreas	1/50 000	1/100 000	1/75 000
Suprarrenal	1/75 000	1/150 000	1/75 000
Timo	1/100 000	1/200 000	1/100 000
Tiroides	1/75 000	1/250 000	1/100 000
Testículo	1/100 000	1/150 000	1/250 000
Hipófisis	1/100 000	1/1 000 000	1/75 000

El nivel general de las precipitinas está al parecer, aumentado, al menos el de las antitesticulares. Las precipitinas antihipofisarias muestran un aumento diez veces mayor, sobrepasando en mucho las demás precipitinas.

En el caso siguiente se trata de un muchacho de 15 años (Figura N° 9), de una altura de 1,20 m y de un peso de 27,5 kg. Existía un hipogenitalismo nítido y una adiposis moderada. Algunos dientes de leche conservados todavía.

También en este caso hay un aumento muy fuerte de las precipitinas antihipofisarias; de menor intensidad que las antitiróideas y antitesticulares. Existe un paralelismo marcado con las precipitinas del caso de distrofia adiposogenital, al cual este caso se asemeja también clínicamente.

Se practicó un tratamiento con 6 inyecciones de extracto de lóbulo anterior (Choay). Tres meses después de haber terminado el tratamiento, las precipitinas mostraron los títulos indicados en el Cuadro N° 18, con fecha 3-XI-36. Las precipitinas



*FIGURA N° 9.—Enanismo hipofisario. Ambos muchachos de 15 años.
(Las precipitinas figuran en el cuadro N° 18)*

CUADRO N° 18.—Precipitinas en un caso de enanismo hipofisario.

Antígeno Cavia Macho 500 g 9-VII-36	Autopre- cipitinas Cavia	Testigo Varón 20 años	Testigo Varón 16 años	Enano Varón 15 años 9-VII-36	Mismo Enano Varón 15 años 3-XI-36	Testigo Varón 17 años	Autopre- cipitinas Cavia 3-XI-36
Páncreas	1/50 000	—	—	1/75 000	1/50 000	—	1/75 000
Supra- renal	1/100 000	1/100 000	1/50 000	1/100 000	1/100 000	1/100 000	1/100 000
Timo	1/150 000	1/75 000	1/100 000	1/100 000	1/100 000	1/75 000	1/100 000
Tiroides	1/75 000	1/75 000	1/50 000	1/150 000	1/75 000	1/75 000	1/75 000
Testículo	1/500 000	1/150 000	1/75 000	1/150 000	1/350 000	1/150 000	1/400 000
Hipófisis	1/100 000	—	—	1/600 000	1/400 000	—	—

antitiróideas y antihipofisarias se han disminuido y acercado al título normal; las precipitinas antitesticulares han subido considerablemente sobre el título normal. Lo tratamos luego con tiroides por vía oral, pero no volvió donde nosotros y así lo perdimos de vista.

La influencia de la opoterapia es probable en este caso, aunque no se puede excluir con seguridad una reacción espontánea del organismo.

c) Trastornos de las funciones pancreática y suprarrenal.

No tenemos sino muy pocas observaciones. Comunicamos primero un caso de diabetes pancreática que no se ha tratado nunca con insulina. El título del azúcar sanguíneo fue de 2,50 por mil; el de un testigo de 70 años de edad 0,75 por mil. Un examen de las precipitinas antihipofisarias, que hubiera sido muy importante, no se practicó en este caso.

Hay un aumento de las precipitinas antitímicas y antitiróideas al doble, y de las antipancreáticas al triple. Las precipitinas antitesticulares parecen disminuidas, sin embargo, las desviaciones de los títulos no parecen muy persuasivas. Nuevas observaciones tienen que aclarar este problema.

En el caso siguiente se trata de una mujer de 49 años de edad, en la cual se presentó, después de la menopausia, un hirsutismo general. La presión sanguínea estaba aumentada. Azúcar sanguíneo: 1 por mil.

CUADRO N°19.—Precipitinas en un caso de Diabetes Melitus.

Antígeno Cavia Macho 450 g	Autopreci- pitinas Cavia	Diabetes Hombre 70 años	Testigo Hombre 70 años	Testigo Hombre 35 años	Testigo Niño 10 años
Páncreas	1/50 000	1/150 000	1/50 000	1/50 000	1/50 000
Suprarrenal	1/50 000	1/50 000	1/50 000	1/50 000	1/50 000
Timo	1/200 000	1/200 000	1/100 000	1/75 000	1/25 000
Tiroides	1/75 000	1/100 000	1/50 000	1/50 000	1/50 000
Testículo	1/250 000	1/100 000	1/200 000	1/50 000	1/50 000

Hay un aumento nítido de las precipitinas antisu­prarrenales y antigonádicas, lo que indica un trastorno de las funciones supra­rrenogenitales. Todavía no hemos podido estudiar otras enferme­dades de la suprarrenal, tales como la enfermedad de Addison y otras.

CUADRO N° 20.—Precipitinas en un caso de hirsutismo.

Antígeno Cavia Macho 500 g	Autoprecipi- tinas Cavia	Hirsutismo Mujer 49 años	Testigo Mujer 46 años
Suprarrenal	1/75 000	1/250 000	1/75 000
Timo	1/100 000	1/150 000	1/100 000
Tiroides	1/75 000	1/100 000	1/100 000
Testículo	1/400 000	1/150 000	1/75 000
Hipófisis	1/100 000	1/200 000	—

d) Trastornos de función gonádica

Tampoco hemos podido reunir mucho material sobre los trastornos de la función genital femenina. Podemos comunicar solamente un ejemplo. En una mujer de 38 años se quitó opéra­tivamente un quiste ovárico simple, de pared lisa y contenido se­roso. La mujer menstruaba regularmente. En otra mujer de 27 años se encontraron, en el preparado de operación, varios

pequeños quistes foliculares del ovario y múltiples fibromiomas del útero. En esta mujer existía una dismenorrea muy marcada. En el examen de las precipitinas, practicado antes de las operaciones correspondientes, resultó lo que se presenta como Cuadro No. 21:

CUADRO N° 21.—Precipitinas en casos de quistes ováricos y fibromiomas del útero.

Antígeno Cavia Hembra 500 g	Autopre- cipitinas	Quiste ovárico Mujer 38 años	Quistes foliculares Fibromiomas Mujer 27 años	Testigo Mujer	Testigo Varón
Suprarrenal	1/75 000	1/150 000	1/200 000	1/100 000	1/150 000
Timo	1/100 000	1/100 000	1/250 000	1/150 000	1/100 000
Tiroides	1/100 000	1/75 000	1/200 000	1/100 000	1/100 000
Ovario	1/100 000	1/150 000	1/750 000	1/150 000	1/75 000
Hipófisis	—	1/100 000	—	—	—

En la mujer que menstruaba regularmente, las precipitinas estaban más o menos normales, pero en la dismenorreica se encontró, junto con un nivel general un poco elevado, un aumento de las precipitinas antiováricas a 5 veces; es, pues, de esperar, que un estudio detenido de las precipitinas antigonádicas femeninas nos dará muchos indicios importantes sobre la función de dichas glándulas.

Queremos anotar aquí el hecho de que las precipitinas antitesticulares en el suero femenino, después de la menopausia, suben a un título comparable, a veces, al que da el suero de un hombre joven en plenitud genital.

De los trastornos de la función genital masculina hemos examinado dos casos de criptorquidismo en muchachos de 12 y 8 años de edad. En el primer caso se trató de un criptorquidismo unilateral, por lo cual es posible que, aparte del trastorno endocrino, haya cooperado el factor mecánico. Las precipitinas se muestran en el Cuadro N° 22.

CUADRO N° 22.—Precipitinas en un caso de criptorquidismo.

Antígeno Cavia Macho 460 g	Autoprecipitinas	Criptorquidismo unilateral Niño 12 años	Testigo Niño 13 años
Suprarrenal	1/75 000	1/50 000	1/75 000
Timo	1/100 000	1/200 000	1/75 000
Tiroides	1/75 000	1/200 000	1/50 000
Testículo	1/400 000	1/50 000	1/75 000
Hipófisis	—	1/75 000	1/75 000

Encontrando muy aumentadas las precipitinas antitímicas y antitiroideas, tratamos al muchacho con inyecciones de extracto de timo (Choay), tiroides por vía bucal y después, inyecciones de extracto de lóbulo anterior de hipófisis, con resultado negativo.

En el segundo caso, un muchacho de 8 años, ambos testículos se encontraron en los canales inguinales. El muchacho mostró un retardo general del crecimiento. Altura: 1,10 m (1,24 m es normal en Costa Rica). Peso: 19 kg (23 kg normal en Costa Rica). El cambio de la dentadura acababa de comenzar, lo que significa, en nuestras condiciones, también un retardo.

CUADRO N° 23.—Precipitinas en un caso de criptorquidismo.

Antígeno Cavia Macho 460 g	Auto-precipitinas	Testigo Niño 8 años	Criptorquídeo Niño 8 años			Testigo Niño 8 años
			I (19-VIII)	II (3-IX)	III (23-XII)	
Páncreas	1/50 000	1/75 000	1/75 000	1/75 000	—	1/50 000
Suprarrenal	1/100 000	1/32 000	1/32 000	1/100 000	1/75 000	1/50 000
Timo	1/100 000	1/50 000	1/300 000	1/200 000	1/75 000	1/75 000
Tiroides	1/75 000	1/32 000	1/200 000	1/200 000	1/150 000	1/50 000
Testículo	1/400 000	1/32 000	1/75 000	1/50 000	1/32 000	1/50 000
Hipófisis	1/75 000	1/75 000	1/12 000	1/25 000	1/32 000	1/50 000

(Como las autoprecipitinas de los tres cobayos usados estuvieron casi idénticas, hemos apuntado solamente las del primero).

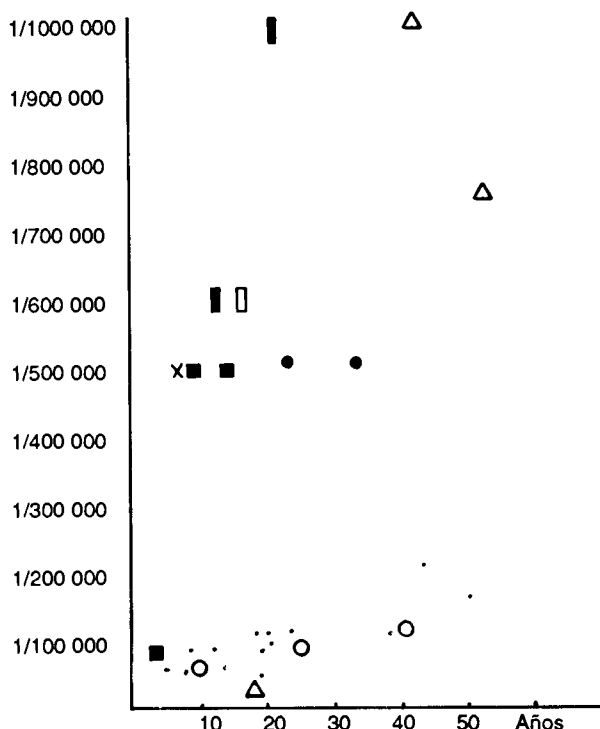


GRAFICO N° 1.—Precipitinas antihipofisarias (Antígeno de cobayo)

X	Antígeno: Buey	■	Enanos hipofisarios
•	Normal	▲	Acromegalia
●	Bocio coloide	△	Caquexia de Simmond??
○	Morbus basedow	□	Distrofia adiposogenital
■	Mixedema		

Exactamente como en el primer caso, hay un aumento considerable de las precipitinas antitímicas y antitiróideas. Las antitesticulares muestran un aumento; las antihipofisarias una ligera disminución. Tratamos este muchacho también con inyecciones de extracto de timo (Choay). Las precipitinas después de este tratamiento están marcadas en el Cuadro N° 23, columna II. Como se ve, han disminuido las precipitinas antitímicas y antitesticulares, pero aumentado las antihipofisarias y antisuprarrenales. Los testículos bajaron un poco, pero no completamente. Continuamos el tratamiento con inyecciones de extracto de lóbulo

anterior, con el resultado de que a la segunda inyección los testículos habían bajado. Al terminar el tratamiento las precipitinas se han acercado a los títulos normales, con excepción de las antitiróideas que todavía sobrepasan tres veces el título normal.

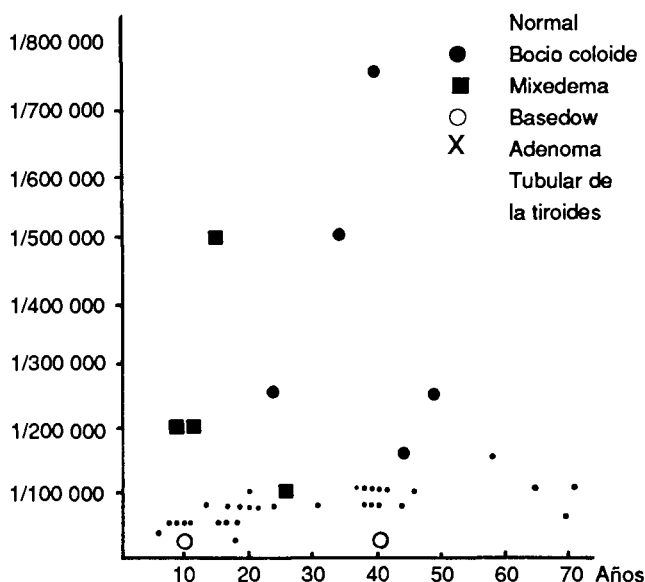


GRAFICO N° 2.—Precipitinas antitiróideas (Antígeno tiroides de cobayo).

Contra lo que pudiera suponerse *a priori*, en los casos de criptorquidismo natural o experimental, las hormonas gonadotrópicas están aumentadas, así como también están aumentadas las hormonas tireotrópicas en el hipotiroidismo.

No es pues por falta de estimulinas hipofisarias que las glándulas respectivas no adquieren su funcionamiento normal. El hecho de que las precipitinas antitesticulares estén aumentadas en los criptorquídeos y las antitiróideas en los casos de hipotiroidismo, hace suponer que, en tales casos, la hipofunción está originada por un exceso de propiedades antagónicas (anticuerpos).

Añadamos que en los casos de criptorquidismo que no presentaron precipitinas antitesticulares en aumento, el tratamiento por las estimulinas hipofisarias quedó sin efecto.

III. CONCLUSION

Al terminar la exposición de nuestras observaciones, queremos volver a recalcar que nuestros estudios representan las primeras exploraciones para conocer el comportamiento de las precipitinas antiglándulas endocrinas en la patología humana. Los resultados que hemos obtenido son, en su mayor parte, tan claros, que hemos creído oportuno publicarlos ya.

Nos hemos abstenido completamente de discusiones teóricas y de explicaciones detalladas de los diferentes casos, pues creemos que hay que reunir un material mucho mayor antes de poder emprender tal tarea y es probable que solamente la experimentación en animales nos aclare algunos conceptos que son fundamentales.

RESUMEN

Precipitinas antiglándulas endocrinas en varios trastornos de las secreciones internas del hombre.

Los autores comienzan por hacer una breve reseña de sus experiencias preliminares en el estudio de las precipitinas que contiene el suero sanguíneo frente a antígenos constituidos por emulsiones de diversas glándulas endocrinas, destacando, entre otras observaciones constatadas, el hecho de que el título de precipitinas del suero es variable en relación con las diversas glándulas endocrinas y que el título o poder precipitante del suero aumenta con la edad del sujeto desde el nacimiento hasta la vejez.

A continuación relatan sus estudios sobre el título de precipitinas de enfermos de diversas afecciones endocrinas (bocios, enanismos hipofisario y mixedematoso y otros diversos trastornos de hipófisis, testículos y ovarios). Hacen notar que, por tratarse de un método nuevo, existen aún dificultades para la interpretación de muchos hechos observados. Sin embargo, sus estudios no llevan a sostener que, si bien el título absoluto de las precipitinas no está en relación directa con la hiper o hipofunción del órgano correspondiente, puede asegurarse que un cambio del título relativo entre las diferentes precipitinas

significa con seguridad un trastorno de las funciones de uno o varios órganos endocrinos, ya que por la sinergia funcional de dichas glándulas, es probable que el trastorno de una de ellas repercute también en las otras.

BIBLIOGRAFIA

- (1) C. Picado T. *Evolution des precipitines normales "anti-glandes-endocrines" en relation avec l'espèce animale.* **C.R.S. Biol.** 121 : 528. 1936.
- (2) C. Picado y W. Rotter. *Precipitines anti-glandes-endocrines et longévité chez quelques espèces de vertébrés.* **C.R.S. Biol.** 123: 869. 1936.
- (3) C. Picado T. y W. Rotter. *Precipitines naturelles anti-thymiques et antagoniques du Sérum de cobaye en relation avec l'évolution des glandes respectives.* **Revue française d'Endocrinologie.** 15, 173. 1937.
- (4) C. Picado T. *Synergie d'anticorps par "déviation hiérarchique".* **Annales de l'Institut Pasteur.** 56 : 186. 1936.
- (5) C. Picado T. **Vaccination contre la Senescence Précocé.** París : Edit. Le François, 1937.
- (6) C. Picado y W. Rotter. *Precipitines sériques antithyroïdiennes chez les goitreux.* **C.R.S. Biol.,** 123. 1111. 1936.

INVESTIGACIONES SOBRE SUSTANCIAS ANTITIREOTROPICAS DEL SUERO SANGUINEO EN ESPECIAL EN PACIENTES CON BOCIO

C. Picado* y W. Rotter**

En publicaciones anteriores hemos informado que las precipitinas antitiróideas y antihipofisiarias, presentes normalmente en el suero sanguíneo, aumentan significativamente en los casos de bocio coloide, mixedema y cretinismo, mientras que disminuyen en los casos de pacientes con Basedow. Estas observaciones nos llevaron a la hipótesis de trabajo de que en los casos de bocio endémico no se trata de una hipofunción primaria de la tiroides, sino de un aumento excesivo de los cuerpos del suero que actúan en contra de la glándula.

Para fundamentar nuestra suposición, realizamos una serie de experimentos sobre los cuales ya hemos dado información parcial. Inyectando suero antitiróideo (S.A.T) pudimos lograr, con un tratamiento corto en cobayos, una hiperfunción de la glándula tiroides (como si hubiésemos inyectado hormona tireotrópica), en cambio, en el caso de un tratamiento prolongado, se obtuvo una hipofunción (posición de reposo). Nosotros supusimos haber logrado en el primer caso, una hiperproducción (tal vez compensatoria) de hormonas tireotrópicas (H.T.), mientras que en el segundo caso, se formaron sustancias antitireotrópicas a causa del vertimiento aumentado de H.T, las cuales ocasionaron la "posición de reposo" de la glándula. Fenómenos parecidos podrían haber sido causados cuando nosotros, después de una inyección de S.A.T, inyectamos hormo-

* Laboratorios del Hospital San Juan de Dios en San José de Costa Rica.

** Departamento de Anatomía y Patología del Instituto de Higiene y Enfermedades Infecciosas en Saarbrücken.

na tireotrópica; también aquí, en tiempos prolongados de experimentación, disminuye el efecto sinérgico inicial de ambas sustancias. En inyecciones alternativas de S.A.T y H.T. obtuvimos, en un tiempo de experimentación de 5 semanas, una fuerte hiperfunción (hipertiroidización) y en un tiempo de experimentación de 10 semanas, un completo estado de reposo de la glándula, con un aumento marcado del tamaño del órgano (hipertrofia).

También en estos casos habría que suponer que, en una experimentación prolongada, se formarían sustancias antitireotrópicas, las que anulan el efecto sinérgico inicial de las dos sustancias inyectadas.

La confirmación de estos resultados nos la proporcionó otro experimento, sobre el cual queremos referirnos aquí.

A un cobayo (macho, 300 g) se le aplicó una mezcla de partes iguales de suero antitiróideo y antitireotrópico (ambos sueros se obtuvieron de conejos machos por medio de inyecciones repetidas de tiroidina y hormona tireotrópica. Esta última fue puesta a nuestra disposición por la amabilidad del Prof. Dr. Schöler, de la firma Schering A.G.) Al animal se le aplicaron: el primer día, 1 ml; el segundo día, 2 ml; el tercer día, 3 ml; el cuarto día, 4 ml de la mezcla. El animal se sacrificó al quinto día. Al practicarse la autopsia, se encontró la glándula tiroides muy agrandada, con folículos histológicamente dilatados, rellenos de coloides y con un epitelio fuertemente aplanado, es decir, el cuadro de la posición en reposo con hipertrofia del órgano. Nosotros obtuvimos con este experimento, en cinco días, el mismo resultado que en el experimento prolongado anteriormente mencionado en el cual inyectamos semanalmente S.A.T. y H.T. en forma alternativa durante 10 semanas.

Creemos haber logrado demostrar con este experimento que, en los ensayos de tiempo prolongado, la posición de reposo de la glándula se produce por la acción de sustancias antitireotrópicas, por cuanto un resultado igual se logra, en poco tiempo, suministrando sustancias antitireotrópicas preparadas externamente.

Con el objeto de verificar si la hipertrofia observada en la glándula tiroides fue causada por la acción combinada de sus-

tancias antitiróideas y antitireotrópicas, emprendimos otro experimento en el cual, bajo las mismas condiciones, en lugar del suero antitiróideo de la mezcla se utilizó suero normal, es decir fue inyectada una mezcla de suero antitireotrópico y suero normal. En este caso se logró una posición de reposo de la glándula sin que ocurriera hipertrofia. Por consiguiente, el suero antitireotrópico por sí mismo no produce una hipertrofia de la glándula tiroides.

Resumiendo se puede decir que es por medio de inyección de sustancias que van dirigidas contra la hormona de la glándula tiroides (suero antitiroidal) que se logra producir primero una hiperfunción de la glándula tiroides (hipertiroidización), la cual (al menos parcialmente) es causada por hiperproducción (tal vez compensatoria) de H.T. ya que se puede evitar mediante la aplicación simultánea de sustancias antitireotrópicas. Posteriormente se logra, en experimentos de larga duración, por formación reactiva de sustancias antitireotrópicas, la hipofunción (estado de reposo) de la glándula.

Mediante la inyección combinada de suero antitiróideo y antitireotrópico se produce una hipertrofia del órgano asociada a una hipofunción, es decir se produce un estado similar al del bocio coloide humano.

En el bocio endémico humano existe también una hipertiroidización inicial, como lo comunica Hotz, quien observó una hipertiroidización en cretinismo en su fase de formación, la cual también se podía ver en el cuadro histológico del bocio. Solamente en el estado final del desarrollo, debe transformarse la hipertiroidización en una hipotiroidización.

En el suero de enfermos con bocio se puede comprobar regularmente, tal y como se mencionó al inicio, un fuerte aumento de las sustancias antitiróideas (y frecuentemente de las antihipofisiarias). De ahí surgió la pregunta sobre si en el suero de pacientes con bocio se determinaría un aumento de las sustancias antitireotrópicas. Las investigaciones respectivas se iniciaron en agosto del año anterior y no han sido aún concluidas. Sin embargo, una publicación de Eitel que trata de experimentos similares, nos induce a dar a conocer ahora nuestras experiencias.

Eitel inyectó cobayos intraperitonealmente durante 6 días consecutivos, con 2 ml de suero; el 5° y el 6° día agregó cada vez 5 K.U. de hormona tireotrópica. Los mató al 7° día. Según la intensidad de la tiroidización, designó el poder de neutralización del suero sanguíneo como: no existente, medianamente presente y fuertemente presente. Con este método logró determinar, en adultos sanos, una fuerte inhibición de la acción tireotrópica en un 25%, débil en un 18% y ausente en el 63%. En niños sanos observó una fuerte inhibición en un 18%, débil en un 18% y ninguna en el 63%. En 4 casos de hipertiroidización y también en 2 casos de bocio, no logró determinar la presencia de sustancias antitireotrópicas en la sangre.

Al contrario de estas investigaciones, nosotros hemos podido comprobar, aunque en cantidades variables, regularmente la presencia de sustancias antitireotrópicas en enfermos con bocio. Nuestra técnica es en realidad diferente de la aplicada por Eitel.

Nosotros también utilizamos cobayos de un peso de 250 g, a los que aplicamos una sola vez, una inyección intraperitoneal de 2,5 ml de suero al cual se le agregaban 200 K.U. de hormona tireotrópica.

Mantuvimos la mezcla de suero y hormona durante una hora en la incubadora a la temperatura de 37° antes de la inyección. Los cobayos fueron sacrificados 48 horas después de la inyección. Como control utilizamos sueros de personas sanas de igual edad e igual sexo. Además, en vista del bajo número de nuestros ensayos, y para contrarrestar el factor individual de variación, utilizamos mezclas de cantidades iguales de sueros de diferentes personas tanto enfermas como sanas.

Designamos el cuadro histológico de la "posición de reposo" de la glándula tiroides como fuerte inhibición (+++); el cuadro de una completa hipertiroidización como ninguna inhibición (—). Cuando, en caso de completa hipertiroidización, se encuentra abundante coloide en las partes periféricas de la glándula, designamos el estado como débil inhibición (+), y en presencia de abundante coloide vacuolizado a media altura del epitelio, como inhibición media (++). Hemos desistido de reproducir las microfotografías por cuanto no presentaban ninguna contribución en especial. Para los interesados están las copias a su disposición.

Los resultados de los experimentos se presentan en el Cuadro Nº 1. En sueros mezclados de cinco mujeres con bocio, se obtuvieron dos casos de una fuerte inhibición y uno de una mediana inhibición. El suero de una mujer de 32 de edad (MLO) con bocio mostró solamente una débil inhibición y el de una de 20 años Z.R. una fuerte inhibición.

Por consiguiente, en la mayor parte de los casos de bocio se verifica una alta concentración de sustancias antitireotrópicas. En el caso MLO se notó que la frecuencia del pulso era elevada (100 por minuto), lo que nos induce a pensar que no se trataba de un caso únicamente de bocio coloide. Además, parece posible que la edad del paciente tenga importancia, sobre todo en caso de ancianos en quienes un estado final del desarrollo del bocio podría involucrar una disminución de las sustancias antitireotrópicas; por lo que parece conveniente, en futuras investigaciones tomar en cuenta la edad de los pacientes. Los resultados negativos que obtuvo Eitel no tienen gran relevancia dado el bajo número de casos examinados (dos). Sus resultados en el caso de la hipertiroidización (4 casos) coinciden con nuestras expectativas.

En cuanto a las observaciones con sueros de personas sanas, hemos obtenido en dos ensayos (sueros mezclados), una baja inhibición y en otro una fuerte inhibición, es decir, un resultado similar al de Eitel quien en una tercera parte de sus casos obtuvo una fuerte y mediana en otro tanto; sin embargo el pequeño número de nuestros ensayos y la utilización de mezclas de sueros, no nos permite establecer comparaciones.

Especial atención hemos puesto en la edad de las personas que nos suministraron los sueros, por cuanto en investigaciones anteriores habíamos observado que las sustancias séricas (precipitinas), dirigidas hacia los órganos endocrinos, aumentaban con la edad. Los resultados de Eitel como nuestras propias observaciones señalan que esto también es válido para las sustancias antitireotrópicas del suero. Entre los individuos sanos examinados por Eitel, la cantidad que mostraron fuerte inhibición era mayor en adultos que en niños, pero los números absolutos son muy bajos para derivar conclusiones.

Algo similar sucede con nuestras propias observaciones. En dos experiencias con sueros mezclados de mujeres jóvenes se

CUADRO N° 1 Resultados de experimentos

COBAYO	SEXO	PESO (g)	SUERO (ml)	HORMONA (M ₂ E)	PROCEDENCIA DEL SUERO	INHIBICION
GI	Macho	250	2,5	200	Mezcla de suero de 5 mujeres con bocio, con edades de 19 a 32 años	+++
NI	Macho	250	2,5	200	Mezcla de suero de 5 mujeres sanas de la misma edad.	+
G2	Macho	260	2,5	200	Mezcla de suero de 5 mujeres con bocio con edades de 19 a 32 años	++
N2	Macho	260	2,5	200	Mezcla de suero de 5 mujeres sanas de la misma edad.	+
MLO	Macho	260	2,5	200	Suero de una mujer de 32 años con bocio	+
G3	Macho	150	2,5	200	Mezcla de suero de 2 mujeres con bocio con edades de 19 a 22 años	+++
N3	Macho	150	2,5	200	Mezcla de suero de 2 mujeres sanas de 20 años	+++
ZR	Hembra	240	2,0	150	Suero de una mujer con bocio de 20 años	+++
J	Hembra	160	2,0	150	Mezcla de suero de 5 hombres jóvenes de 20 a 25 años.	+
V	Hembra	160	2,0	150	Mezcla de suero de 5 ancianos (hombres) de 60 a 70 años	+++

observó solamente una débil inhibición, otro experimento con el suero de mujeres jóvenes mostró fuerte inhibición. En el caso de mujeres jóvenes que previamente estuvieron embarazadas, o que habían abortado, los resultados pueden verse entorpecidos por alguna de esas condiciones. Considerando lo anterior, llevamos a cabo otros experimentos utilizando suero de hombres jóvenes y ancianos (véase Cuadro Nº 1). En este caso se obtuvo con los sueros de hombres jóvenes (entre 20-25 años) solo una pequeña inhibición, mientras que con la mezcla de sueros de cinco ancianos (60-70 años), una fuerte inhibición. Otras investigaciones sistemáticas podrían comprobar las observaciones hasta ahora realizadas sobre el aumento de las sustancias antitireotrópicas en individuos ancianos en relación con individuos jóvenes, y mostrar si en el caso de niños y jóvenes con títulos altos de sustancias antitireotrópicas en el suero, se trata de un condición patológica o si, en realidad es una situación normal.

Tanto los resultados de Eitel en Friburgo, como los nuestros en Costa Rica, se llevaron a cabo en poblaciones con alta incidencia de bocio, por lo que puede ser posible que en una parte de los individuos aparentemente "sanos", existiera una perturbación no perceptible del equilibrio endocrino. Sería deseable, por lo tanto, realizar exámenes comparativos en una región exenta de bocio, y entonces verificar si en esas condiciones el número de inhibidores fuertes, especialmente en niños, es bajo.

RESUMEN

1. *En experimentos llevados a cabo con animales se logró en corto tiempo, mediante inyecciones de suero antitiróideo obtener una hipertiroidización, la cual se origina en una hiperproducción (compensatoria) de H.T. En experimentos de tiempo prolongado sigue a la hipertiroidización un estado de reposo, causado por la formación reactiva de sustancias antitireotrópicas. La inyección combinada de sustancias antitireotrópicas y antitiróideas induce una hipertrofia de la glándula con hipofunción (estado de reposo), es decir, una condición similar a la del bocio coloide humano.*

2. *En el suero humano se puede comprobar la presencia de sustancias antitireotrópicas en cantidades variables.*
3. *El suero de personas con bocio contiene, generalmente, cantidades mayores de sustancias antitireotrópicas que el suero de personas sanas de igual edad.*
4. *El suero de ancianos parece contener mayores cantidades de sustancias antitireotrópicas que el suero de personas jóvenes.*

LITERATURA

H. Eitel, *Klin. Wschr.*, p. 1465. 1938.

G. Hotz, *Klin Wschr.* no. 42. 1922.

C. Picado, *C.R. Soc. Biol.* Paris 121, p. 528, 1146. 1936.

C. Picado y W. Rotter. *C.R. Soc. Biol.* Paris 123, p. 1111. 1936.

— *Rev. Franc. Endocrin.* 15, p. 173. 1937.

— *Rev. Méd. Lat-amer* (en prensa).

— *Endokrinol.* 21, p. 93. 1938.

PRESERVACION ESPECIFICA DE LAS GLANDULAS ENDOCRINAS A LAS ESTIMULINAS HIPOFISARIAS POR SUS RESPECTIVAS PEPTONAS

CONSIDERACIONES GENERALES

Una de las principales características que diferencian las hormonas hipofisarias de las otras hormonas es el hecho, por demás notable, de que nada se conozca sobre su composición química y de que la actuación de cada una de las diversas estimulinas hipofisarias, más o menos empíricamente separadas, no llega nunca a tener una acción fisiológica estrictamente específica. En todo caso mucho se ha avanzado ya en la obtención de preparaciones de acción netamente electiva.

El objeto de nuestras investigaciones fue orientado en sentido inverso y ver si era posible en un animal, tratado por lóbulo anterior total de hipófisis, o por sus derivados, de estimulina electiva, preservar, de tal estimulación solamente ciertas glándulas endocrinas, quedando las otras sujetas a las estimulinas hipofisarias, como si se tratase de un animal normal, intacto.

El hecho de haber constatado que las inyecciones de peptonas de diversas glándulas endocrinas, hacen entrar en reposo funcional las glándulas de las cuales la peptona fue extraída, nos condujo a una serie de experiencias concernientes a la inyección de hormonas hipofisarias en animales sometidos en esos días a la influencia de las inyecciones de peptonas endocrinas y obteniendo, como en notas sucesivas hemos de ir viendo, una preservación de especificidad manifiesta.

Fuera de las consideraciones teóricas, —que muestran primordialmente que las estimulinas hipofisarias pueden, no solamente, ser neutralizadas por las secreciones hormonales que tales estimulinas provocan (tal por ejemplo la neutralización de

las hormonas gonadotrópicas por las hormonas sexuales, la neutralización de la tiroestimulina por la tiroxina, de la pancreatostestimulina por la insulina, etc.), sino que también pueden ser neutralizadas por las peptonas glandulares, incapaces por ellas mismas de suplir la función glandular endocrina correspondiente y cuya explicación, según nuestras cuentas, podría asimilarse a la neutralización de un anticuerpo por un hapteno o antígeno incompleto—, hay consideraciones de orden práctico que permiten prever las utilidades múltiples que el empleo de las peptonas habrá de tener en el futuro, para salvaguardar órganos en hiperfuncionamiento, de origen hipofisario primitivo, y poner así, fuera del alcance de la hipófisis los órganos que deseamos mantener en reposo, sin recurrir, como hasta el presente, a los tratamientos que conducen a la morigeración de las funciones hipofisarias, ya sea por irradiaciones u otros sistemas, y que, si bien es cierto que logran apaciguar los órganos superexcitados por las secreciones hipofisarias, no menos cierto es que tal disminución de actividades hipofisarias recae sobre el organismo todo y no electivamente sobre el órgano que quisiéramos.

El empleo de las peptonas endocrinas sí nos permite el reposo glandular electivo, manteniendo indemne el funcionamiento hipofisario y por ende la plenitud funcional del resto del organismo.

(Trabajo del Laboratorio del Hospital S.J. de Dios).

GLUCORREGULACION SANGUINEA Y EDAD

I. GLUCOLISIS

A la base de los fenómenos de glucorregulación debe sin duda alguna figurar el fenómeno de la glucólisis que consiste, como es bien sabido, en la propiedad que tiene la sangre de ir gastando el azúcar que contiene inicialmente. Esta destrucción o lisis de la glucosa ha sido diversamente interpretada y ella varía en condición:

- a) de la especie animal que se estudie,
- b) del tiempo que la sangre se conserve y
- c) de la temperatura.

En cuanto al hombre se refiere, el hecho de ir variando con el tiempo la distribución de la glucosa entre los glóbulos y el plasma, dejando de ser equivalente, como recién extraída, nos hizo fijar para nuestras experiencias, el plasma desfibrinado de sangre tomada en ayunas y sin adición de antiséptico alguno que hiciese variar los resultados. Se hace un primer dosaje de glucosa inmediatamente después de la extracción y luego se dejan los tubos con plasma a 22°C por 6 ó 7 horas y se repite el dosaje.

Para cada caso se emplearon sangres de hombre viejo cuya edad varió entre 60 a 74 años y por otra parte, sangre de hombre joven de 18 a 25 años; evitamos así las causas de error consecutivas a la preñez y a los ciclos sexuales. Además, hicimos en cada ocasión una mezcla por partes iguales de ambos plasmas desfibrinados, haciendo con la mezcla, primero un do-

saje al instante y luego un segundo dosaje al cabo del mismo reposo a 22°C por 6 ó 7 horas.

La glucólisis de suero de viejos varió entre 6 a 27% con una cifra media de 5,5% y esto debido al hecho de encontrar frecuentemente sangres cuya glucólisis fue nula o casi nula.

En los jóvenes la glucólisis varió de 14 a 31% con una media de 17%, pues en los jóvenes la ausencia de glucólisis no se encuentra sino excepcionalmente.

La práctica de dosar las mezclas de plasmas fue establecida con el fin de ver si podíamos encontrar en los sueros sustancias antiglucolíticas. En estas mezclas encontramos todos los casos posibles pero en el primer dosaje, correspondiente a la mezcla acabada de hacer, fue siempre lo que el cálculo matemático indicaba; mas no así en el segundo dosaje, pues en vez de la media matemática, encontramos: sea aumento, sea disminución, no siendo la media matemática sino la excepción, es decir, todo se pasa como si en el suero de cada individuo existiese junto con el poder glucolítico otro poder antiglucolítico y con un equilibrio diferente en cada persona y por eso es que no se obtiene la media matemática.

Por otra parte el poder glucolítico de la sangre va disminuyendo con la edad, no siendo en los viejos de 70 años sino 1/3 del valor glucolítico de los jóvenes de 25 años y ello parece explicarse por el aumento con la edad de las propiedades antiglucolíticas de la sangre.

II. GLUCEMIA Y EDAD

Los exámenes de rutina que han venido practicándose desde hace más de 25 años en el Laboratorio del Hospital con el fin de establecer la glucemia de base en personas de diferentes edades, nos han mostrado, (y en esto todos los autores han obtenido los mismos resultados) que la cantidad de glucosa, normal en una persona, va aumentando con la edad y que este aumento, para un hombre entre los 20 y 60 años puede calcularse *grosso modo* en un 25%.

Además, por regla general, en nuestros campesinos la glucemia basal es menor que la de las gentes bien nutridas.

III. UMBRAL DE LA SENSIBILIDAD DE LA INSULINA Y EDAD

Para establecer comparaciones en gentes de glucemia normal, llevando a fondo el choque insulínico nada nos pareció más adecuado que aprovechar los tratamientos que a los dementes se hacen, mediante el choque insulínico. A este efecto rogamos a nuestro amigo el Dr. D. Roberto Chacón, Director del Asilo Chapuí, que nos permitiese seguir la caída de la glucemia en algunos pares de pacientes de su Asilo que debiesen ser así tratados; bondadosamente el Dr. Chacón trató a sus pacientes por pares: el uno joven 20 a 30 años y el otro cerca de 50, ya que en los muy viejos el choque insulínico es bastante peligroso.

En estos pares de enfermos tomamos en cuenta el peso y la glucemia basal, después fueron inyectados con 20 unidades de insulina y seguimos la caída de la glucemia.

Haciendo resúmenes tenemos que en los viejos de 50 o más años, con una glucemia basal de 0,600 por mil, como término medio, la glucemia con 20 unidades de insulina se rebaja al cabo de una hora, en 24,5%; mientras que en los jóvenes cuya edad es de 22 años como promedio, la glucemia en ayunas da una media de 0,514 por mil y con las 20 unidades de insulina, al cabo de la misma hora, la pérdida de glucosa es 52%.

Henos aquí en presencia de un hecho cuya importancia práctica no habrá de escapar a los médicos tratantes y para quienes interese el punto de vista fisiológico, hagamos notar además que, aunque la glucosa inicial, en ayunas, fuese igual en ambos sujetos, los más viejos (salvo rarísimas excepciones) son los que menos azúcar pierden en igualdad de tiempo.

Vemos otra vez que en la sangre de los viejos hay propiedades insulinoresistentes cuyo origen endocrino, nervioso o inmunitario sería bastante difícil de precisar, pero, para nosotros, si tomamos en cuenta no fenómenos aislados, sino la glucorregulación en su conjunto, existe la necesidad de concebir parte de ellos como fenómenos inmunitarios.

IV. LOS EFECTOS PASIVOS

Hasta ahora hemos tomado en cuenta ya sea la reacción individual y por lo tanto activa, del sujeto que se inyecta con insulina

o ya experiencias *in vitro* en las cuales he creído ver que cuando se trata de mezclas de sueros, frecuentemente los de personas más viejas, *disminuyen* la glucólisis propia del otro suero de la mezcla, actuando de manera activa, pero *in vitro*.

En esta nota queremos, por el contrario, hacer ver qué efectos se obtienen cuando el animal se inyecta con insulina previamente "incubada" en presencia de sueros provenientes de animales de edades diferentes.

Las experiencias fueron llevadas a cabo en conejos machos de dos kilos y, visto que en esta especie animal no hay igual distribución de azúcar en el plasma y en los glóbulos, procedimos a las sangrías después de 18 horas de ayuno y las muestras fueron inmediatamente desfibrinadas y centrifugadas, de manera que operásemos siempre con material despojado de glóbulos y sin haberlos dejado en contacto, impidiendo así variaciones artificiales de la glucemia plasmática.

Una vez sangrado el conejo se inyecta por vía intravenosa con 2 centímetros cúbicos de suero de conejos jóvenes (mezclados por partes iguales) y que fueron previamente incubados 1 hora a 37° con 1 unidad de Insulina Mulford.

Al cabo de 48 horas de reposo se repite la experiencia en el mismo animal pero usando suero de conejos viejos.

Inútil parece decir que en otras experiencias se comenzó inyectando la insulina incubada en presencia de suero de conejos viejos y 48 horas después, se repitió la experiencia con suero de conejos jóvenes.

En otras series de animales la experiencia se ha repetido una semana después de la primera, pero comenzando en sentido inverso, en cuanto a la edad de los conejos cuyo suero es incubado con la unidad de insulina pero, en este último caso la baja de la glucemia basal es mucho menor que la que se opera en conejos nuevos y este hecho parece ser también el fruto de resistencia o inmunidad que se adquiere contra el complejo insulina-suero homólogo (Hapteno + vector).

Tomando en cuenta los animales nuevos vimos que la glucemia basal de 1,20 g por mil baja a 0,60 g con el suero de conejos jóvenes incubado en presencia de una unidad de insulina;

mientras que la baja de la glucemia no es sino de 1,20 g a 0,84 g cuando el suero proviene de conejos jóvenes.

En otras palabras: la insulina incubada 1 hora a 37°C en presencia de suero de conejo pierde parte de su actividad, pero esta pérdida que en las condiciones de nuestras experiencias se manifestó en 50% cuando el suero es de conejos viejos, no llega sino a un 25% cuando el suero proviene de conejos jóvenes.

Para terminar recordemos que ya en otras publicaciones hemos mencionado el hecho señalado por varios autores de haber obtenido hipoglucemias en animales inyectados con sangre de diabéticos en pequeñas cantidades.

ANTIPRESURA SANGUÍNEA Y EDAD

(Nota preliminar)

I. PROPIEDAD ANTITRIPTICA

Sabido es que, normalmente, todos los sueros tienen propiedades antagónicas a la tripsina y ello ha sido considerado como la prueba de la existencia de una antidiastasa formada por el organismo como respuesta defensiva hacia las diastasas leucocitarias. Por otra parte, el poder antitriptico de la sangre aumenta en las supuraciones internas y en las neoplasias, a tal punto que su dosaje ha sido un poderoso auxiliar del laboratorio en el diagnóstico de tales afecciones.

II. ANTITRIPSINA Y ANTIPRESURA

La tripsina, cualquiera que sea su origen: pancreático o leucocitario, va acompañada de presura; el aumento o disminución de esta última está tan íntimamente ligado a la cantidad de tripsina secretada, que muchos autores no han titubeado en creer que las dos son una sola y única diastasa. Por tanto, el dosaje de la antipresura sanguínea puede decirse que corresponde al de la antitripsina.

Para nuestras experiencias convenía más dosar la antipresura para seguir en una escala, y en función del tiempo, la actuación de la diastasa.

III. ANTIPRESURA Y EDAD

Los sueros empleados fueron de niños, 1 a 11 años; de jóvenes, 15 a 25 años, y de viejos, 50 a 80 años. Todos de sexo

masculino y usando mezclas de 6 en cada caso hasta pasar la centena de cada grupo.

Además de la solución de tripsina empleamos también una solución de presura extraída del cuajar de ternero y así pudimos constatar:

A) Que con respecto a la presura de origen estomacal bovino los sueros van aumentando sus propiedades neutralizantes con la edad, pero de manera poco brusca, ya que si consideramos como 1 el valor de la antipresura de los sueros de niño, el de jóvenes aumenta en 5% y el de viejos en 6%.

B) Que con respecto a la presura de tripsina pancreática el poder antitriptico (antipresura) en niños y jóvenes es de 8 mientras que en los viejos llega a 13, es decir, hay un aumento del 62% para los sueros de viejo.

Estos hechos nos hacen considerar que el suero sanguíneo no tiene una propiedad antipresurante única, sino que su poder antagónico varía según el origen de la presura que se use, y además, que las propiedades antagónicas son leves para la presura de origen estomacal, que no es más que una secreción externa, mientras que el poder antitriptico o antipresurante para las diastasas de origen leucocitario (semejante a las pancreáticas) sí es bastante intenso.

Para nosotros este hecho significa que el organismo no produce antidiastasas defensivas para las secreciones externas, pero que sí las produce para las distasas de origen leucocitario que caen directamente en el torrente circulatorio, tal y como lo hacen lo demás productos denominados secreciones internas, y que este fenómeno defensivo, que según nuestras cuentas entra directamente en el grupo de los fenómenos de inmunidad humoral, va acentuándose con la edad.

AUTO-RAQUITERAPIA

Ensayo sobre antígenos céfallo-raquídeos

C. Picado T.
R. Chacón P.

Al practicar reacciones Wassermann con líquido cefalorraquídeo y establecer índices hemolíticos con mezcla de 0,3 centímetro cúbico de líquido y 0,1 centímetro cúbico de suero sanguíneo del mismo enfermo o de otras personas cuyo Wassermann es negativo y que tienen un índice hemolítico alto para glóbulos de conejo observamos, de tiempo en tiempo, que hay líquidos cefalorraquídeos, provenientes de alienados mentales, que contrariamente a lo que hacen la generalidad de los líquidos raquídeos de personas sanas, o que sufren de sífilis o meningitis diversas, rebajan el índice hemolítico del suero con el cual se mezclan. Los casos no son frecuentes pero vienen presentándose sin interrupción, según constatamos ahora al consultar estadísticas, desde hace años.

Como sabíamos que si establecemos índices hemolíticos en presencia de antígeno para reacciones de Wassermann, encontramos sueros cuyo índice se rebaja en mucho y otros en que no hay disminución del índice, a pesar de que todos sean Wassermann positivos y que la disminución del índice hemolítico corresponde al grado de "avidez" del suero por el antígeno, creímos que en el caso de líquidos raquídeos que disminuyen hemólisis, el fenómeno semejaba el de "avidez" entre un antígeno y su respectivo anticuerpo.

Con la ayuda de nuestro compañero D. Luis Bolaños, comenzamos sistemáticamente a practicar, a la vez que la reacción de Wassermann con el suero sanguíneo, una segunda reacción en que figuraba como antígeno sospecho, el líquido raquídeo de un enfermo, a razón de 0,4 centímetro cúbico de líquido, para 0,1 centímetro cúbico de suero. Después de una

hora de incubación a 37°C, añadimos 50% de los glóbulos que el suero sólo es capaz de disolver, y así encontramos que la generalidad de las reacciones son negativas, ciertos líquidos las dan positivas, pero con sueros de personas sanas y no con su propio suero.

Es decir todo sucede en la reacción de fijación del complemento como si el líquido raquídeo contuviese un antígeno pero que el enfermo no haya producido los respectivos anticuerpos, mientras que los sueros de personas sanas normales sí contienen el anticuerpo respectivo.

Los líquidos cefalorraquídeos de tabéticos, de paralíticos generales y de sífilíticos con otras manifestaciones, no fijan la alexina en presencia de sueros sanos, podemos pues descartar la sífilis como causa del fenómeno, así como también las cantidades, más o menos grandes, de albúmina o globulina.

Como a partir de las experiencias de Speransky, el colaborador de Pavlow, sabemos que las lesiones de la corteza cerebral engendran sustancias de orden diastásico y tóxico que pasan al líquido cefalorraquídeo, nos parece verosímil el atribuir las propiedades antigénicas (haptenas) *in vitro*, del líquido raquídeo de ciertos dementes a productos de esta naturaleza. En cuanto a la ausencia de los anticuerpos correspondientes en el suero sanguíneo del enfermo, ello puede ser debido:

1. A incapacidad orgánica para producirlos;
2. A falta de permeabilidad meníngea e imposibilidad de que estas sustancias penetren al torrente circulatorio y
3. A que el antígeno que se encuentra en el líquido sea un antígeno incompleto, un hapteno.

Nuestros intentos de extraer de mezclas de líquidos raquídeos normales o patológicos, alguna sustancia antigénica específica que fijase la alexina con sueros normales y que no la fijase con sueros de ciertos dementes no tuvieron éxito y ello nos hace creer que no se trata de simples concentraciones de sustancias normales, sino de la aparición de sustancias nuevas del orden de las encontradas por Speransky y que otros autores han confirmado, aunque, en nuestro caso no se trate de sustan-

cias obtenidas por lesiones experimentales de la corteza cerebral, sino por perturbaciones psíquicas del hombre.

Una vez que ya sabíamos que nuestras observaciones no eran de carácter accidental sino que de tiempo en tiempo se repetían, nos pusimos a la caza de algunos casos nuevos con el fin de estudiarlos un poco más de cerca y de intentar en ellos un tratamiento capaz de provocar en su sangre la producción de anticuerpos para las sustancias antigénicas contenidas en el líquido cefalorraquídeo.

Tres caminos se nos ofrecían:

1. Inyecciones de suero sanguíneo de una persona sana que diese reacción positiva con el líquido del enfermo.
2. Preparación de un suero experimental por inyecciones al conejo del líquido cefalorraquídeo portador de sustancias antigénicas y
3. Inmunización activa del paciente por inyecciones de su propio líquido.

Descartamos la primera opción por no disponer a voluntad de donadores de suero fijante de alexina y que fuesen además del mismo grupo sanguíneo que el enfermo y no recurrimos a la obtención del suero experimental para tratar los enfermos por el temor de obtener otros anticuerpos diferentes de los requeridos y que hubiesen perjudicado al paciente. Nos detuvimos pues en el intento de inmunoterapia activa por inyecciones periódicas al paciente de su propio líquido cefalorraquídeo, por vía intramuscular, pero, como en nuestro concepto cabía la hipótesis de un hapteno o antígeno incompleto, resolvimos llevar a cabo la experiencia inyectando al paciente una mezcla de su propio líquido cefalorraquídeo con sangre sacada con la misma jeringa de una de sus venas al instante mismo de practicar la inyección intramuscular. Esperando así que la sangre actúe como "vector" y provocar la formación de anticuerpos.

Al mucho tiempo de buscar infructuosamente casos en que obtuviésemos fijación de la alexina con líquidos que actúan como antígenos, conseguimos dos casos: uno, un antiguo toxicómano (fumador de marihuana) y el otro un esquizofrénico.

Durante un corto tiempo fueron tratados, ya que el toxicómano fue retirado del establecimiento por orden del Juez y que el otro paciente salió a causa de una de sus remisiones.

Como nuestro material humano es tan escaso y la aparición de líquidos que actúen como antígenos "*in vitro*" no es frecuente, hemos creído que sería más útil que alguien que se interese en estos hechos prosiga su estudio y que quien disponga de una clínica con numerosos enfermos que pueda seguir largo tiempo, ensaye el sistema para el cual sugerimos el nombre de autorraquiterapia, u otro de los sistemas que consideramos al comienzo de estas líneas. Hemos resuelto publicar estos hechos previos, aun a sabiendas que nada seguro podemos todavía concluir en cuanto a las derivaciones útiles para el enfermo, a que estos hechos puedan dar lugar.

UN PROBLEMA DE CRECIMIENTO

L. Beeche C.
C. Picado T.

Desde hace unos pocos años la atención de muchos biólogos ha sido atraída con vivo interés por el aumento de estatura al parecer progresivo que presentan las últimas generaciones: fenómeno observado al comparar en épocas sucesivas el tamaño de los jóvenes de la misma edad. **El Journal of the Amercian Medical Association**, del año de 1936 hace notar que los jóvenes que ingresan ahora a los colegios y universidades de los Estados Unidos tienen un tamaño que sobrepasa en 2 pulgadas al que tuvieron sus abuelos a la misma edad. El peso también es mayor y el aumento medio se considera equivalente a 7 libras.

En 1921 los niños de 6,5 años medían 108,7 centímetros, en tanto que los de 1932 midieron 114,9 centímetros.

A los 14 años, cuando salían de la escuela, en 1924, tenían 146,4 cm y 152,7 cm en 1933, y el peso medio había aumentado de 38,9 kg a 42,7 kg.

Mucho se ha discutido acerca de la significación de estos hechos que algunos autores explican por la disminución de crecimiento observado en los años de la post guerra mundial y debido a las privaciones consiguientes. En contra de esta manera de considerar los hechos están las cifras obtenidas en diferentes partes y en épocas fuera de las influencias de la guerra de 1914, y que muestran que los jóvenes a la entrada al servicio militar, teniendo la misma edad, presentan un aumento de talla que podemos resumir en el Cuadro Nº 1.

Una ojeada a este cuadro parece suficiente para descartar la tesis de los que sostienen que no se trata de aumento de tamaño en las nuevas generaciones sino a déficit que por la carestía de épocas anteriores produjo la gran guerra de 1914 a 1918.

CUADRO N° 1.—Aumento del tamaño en los reclutas en diferentes países y épocas.

PAIS	Aumento de la talla en centímetros	Epoca de las pri- meras medidas	Medidas posteriores
Suiza	9,50	1792-1799	1861-1872
Holanda	6,67	1863-1867	1921-1925
Suecia	4,50	1846-1850	1921-1925
Dinamarca	3,69	1852-1856	1904-1905
Noruega	3,01	1878-1887	1923-1925
Italia	2,10	1855-1859	1896

En la Universidad Harvard han establecido medidas comparativas entre padre e hijos, de la misma procedencia y han llegado a las siguientes conclusiones:

1. Que los hijos adultos actuales son más grandes que sus padres cuando tenían la misma edad.
2. Que después de los 18 años hay un aumento notable de tamaño para las nuevas generaciones.
3. Que este aumento puede calcularse en 1 centímetro por cada 12 años y medio.

En una generación de 35 años el aumento parece ser de 3,35 cm.

Como los estudiantes de Massachusetts sobrepasan en 4 centímetros al tamaño medio de la población general, los autores de las estadísticas que citamos creen que el aumento del desarrollo es debido quizás a los mayores cuidados higiénicos a que estuvieron sometidos los colegiales por razón de su condición social.

W. Koch, en el mismo año de 1936 estudia el problema y considera que el aumento considerable en talla y peso, de los escolares, no es sino una de las tantas manifestaciones de un aumento general del desarrollo físico, el cual se revela también por una precocidad en la aparición de la primera y segunda dentición, lo mismo que el cambio de voz y la aparición de las primeras menstruaciones, de manera que prácticamente los es-

colares que salen a los 14 años de las escuelas, tienen un desarrollo correspondiente al que tenían entre 15 y 16 años de edad hace unos 20 años. Pero, según Koch afirma, esta aceleración trae como consecuencia también una terminación precoz del crecimiento, pues ahora los hombres cesan de crecer a los 20 años, mientras que antaño el crecimiento se proseguía hasta los 23 ó 25 años de edad, de manera que la aceleración de crecimiento no corresponde a un aumento de la talla definitiva.

El autor considera que es el ambiente el que provoca este crecimiento intenso y hace notar que ignoramos las consecuencias que esta precocidad comporta y, al efecto, formula esta pregunta: "¿A un crecimiento precoz corresponde también una senectud precoz?".

Las experiencias establecidas por el autor que citamos le han permitido constatar que la desintegración de los folículos primitivos del ovario, siempre en exceso al nacimiento, es tanto más activa cuanto más acelerado es el crecimiento. Si se disminuye por el contrario, la rapidez de crecimiento, la desintegración folicular se disminuye y esto hace pensar que las aceleraciones de crecimiento traen como consecuencia una desintegración y un envejecimiento precoz del individuo.

El Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (Nº 5 de mayo de 1938), publica un resumen de los estudios estadísticos de la Compañía Metropolitana de Seguros de Vida en el cual todo parece dar la razón a las consideraciones de Koch. En efecto: en los Estados Unidos, durante una década, se nota un decaimiento de la fertilidad femenina, pero este decaimiento aumenta de 7,4% en la primera etapa de la edad reproductora de la mujer, comprendida entre los 15 a 19 años, a 18% entre 20 y 24 para llegar hasta una reducción de 29,6% en las mujeres de 30 a 34 años y así sucesivamente.

El comentario dice textualmente:

"Como consecuencia de estos cambios, ha variado la edad de mayor reproducción en la mujer, de los 25-29 años en el quinquenio de 1920-1924 a 20-24 en 1930-1934. Es decir, nos encontramos en presencia de una desviación hacia la izquierda de un ciclo hormonal, el sexual femenino de la especie humana.

A nadie escapa la trascendencia de estos hechos y cuanto se haga por estudiarlos, traerá nuevas luces para instituir los tratamientos adecuados para modificar el crecimiento anormal de los niños y adolescentes.

Quizás sintamos una triste preocupación y un desencanto al pensar si cuando nos hemos extasiado ante la precocidad y vigoroso crecimiento de un niño y al cual pueda que hayamos contribuido con radiaciones solares o ultra violeta o con vitaminas y productos biológicos varios, no estuvimos en lo razonable y más bien contribuimos, a pesar de nuestras buenas intenciones, a quemar precozmente los años que debía durar sobre la tierra, y, aún más, cabe preguntarnos: ¿El desarrollo precoz no comporta también desequilibrios psíquicos?"

Nuestras observaciones, que datan ya de más de 10 años, nos hicieron constatar que los niños de las familias medianamente acomodadas de nuestra ciudad de San José, son más grandes y pesan más que los niños de la misma edad, europeos o de Estados Unidos, lo cual parece bastante extraordinario, dada la menor estatura de nuestros habitantes adultos, si se comparan con los adultos de las regiones citadas.

El Cuadro Nº 2 resume las medidas llevadas a cabo en nuestras escuelas y Liceo centrales, lo cual se hizo mediante el desinteresado concurso del Prof. D. Elías Vicente, a quien aquí repetimos nuestro agradecimiento.

Los niños de Costa Rica son más grandes y pesan más que los europeos, pero al llegar a la pubertad, las curvas se cruzan y es así que a los 13 años un desequilibrio se establece, pues a pesar de ser más altos que los europeos de igual edad, pesan menos y ya a los 15 años también se retarda el aumento de tamaño. Este retardo post-puberal de crecimiento en peso y tamaño se mantiene hasta la edad adulta.

En los primeros tiempos en que llevamos a cabo estos estudios, no pudimos encontrar ningún otro ejemplo más parecido al de la crisis puberal de crecimiento en nuestras regiones que el que fue notado en Bélgica durante la ocupación alemana de la gran guerra mundial.

CUADRO N° 2.—Crecimiento comparado entre niños y jóvenes de San José de Costa Rica y en Europa. (Los asteriscos muestran el cruce de las curvas de aumento de peso y de tamaño).

Edad de niños	Tamaño y peso en Costa Rica	Tamaño y peso en Europa
De 7 a 8 años	1,24 m 23,800 kg	1,13 m 20,000 kg
De 9 a 10 años	1,25 m 26,000 kg	1,23 m 23,000 kg
De 11 a 12 años	1,38 m 31,200 kg	1,35 m 28,000 kg
De 13 a 14 años	1,52 m *40,800 kg	1,50 m 41,000 kg
De 15 a 16 años	*1,59 m *46,000 kg	1,63 m 50,000 kg
De 16 a 17 años	*1,64 m *50,500 kg	1,68 m 55,000 kg

Ningún estudio sobre el crecimiento prepuberal en las regiones intertropicales nos fue dado encontrar. Después , con el fin de comparar los resultados que nosotros habíamos obtenido con los que otros investigadores hubiesen alcanzado en otras regiones, solicitamos a instituciones bien provistas de arsenal bibliográfico los datos concernientes. Los escasos documentos que así hemos logrado obtener, nos muestran claramente que por todas partes andamos escasos en estos estudios antropológicos. De esos, sólo sirven a nuestros fines, los siguientes:

Langton en el Africa Central y de cuyas observaciones establecemos el Cuadro N° 3, muestra que en el Africa Central, se repite el mismo fenómeno que ya nosotros habíamos observado en Costa Rica, con la diferencia de que allá es más tardío. Ade-

CUADRO N° 3.—Crecimiento comparado entre niños y jóvenes de Banyoro y británicos, en la misma localidad. (Los asteriscos muestran el cruce de las curvas de aumento de peso y de tamaño).

Edad	Nativos de Banyoro Talla y peso	Británicos Talla y peso
9 años	128,0 cm 25,9 kg	124,9 cm 24,66 kg
11 años	136,0 cm 30,0 kg	133,8 cm 29,0 kg
13 años	147,1 cm 34,5 kg	142,7 cm 34,4 kg
15 años	160,0 cm *43,9 kg	156,97 cm 44,68 kg
17 años	169,67 cm *54,38 kg	168,65 cm 55,17 kg
18 años	*171,37 cm *56,2 kg	174,0 cm 57,96 kg

lante expondremos los motivos que según nosotros, explicarían esta diferencia cronológica.

Goco en 1926 estudió el crecimiento de los niños filipinos y constató que para la misma edad son más pequeños y pesan menos que los de Estados Unidos. También puso en evidencia que el período de máximo crecimiento prepuberal comienza precozmente en las niñas filipinas.

Volviendo a nuestras observaciones de Costa Rica, nos pareció necesario establecer cuál es el peso medio normal de los recién nacidos y qué relación existe entre el tamaño de ellos y el de las madres.

De 2000 pelvimetrías, 59% dieron un conjugado externo inferior a 12,5 centímetros; 28% entre 18,5 y 19,5; 10,6% de 20 a

20,5 y 24% de 21 o más centímetros. De manera que en el 87% de los casos el diámetro de Baudeloc fue menor que lo considerado como normal en los textos de ginecología y obstetricia, el promedio de peso en 1000 niños nacidos a término, es también menor que el normal clásico en 113,5 gramos, guardando, por tanto, relación con el tamaño de la madre.

Sabemos, pues, que durante la gestación no hay influencias aceleradoras del crecimiento.

Nos queda siempre planteado el problema de resolver si la rapidez de crecimiento prepuberal entre nosotros se debe a un factor hereditario de los factores endógenos de crecimiento o bien a una influencia directa del medio.

Los trabajos citados nos muestran que los hombres de origen malayo tienen un crecimiento menor que los de raza blanca. Esta diferencia corresponde armónicamente a la talla y al peso sin el cruce de curvas que se presenta entre nosotros a los comienzos de la pubertad y en las razas mezcladas del África Central, solamente hacia fines de la adolescencia.

Las condiciones raciales de los habitantes de nuestra altiplanicie central, muestran características europeas bastante marcadas y la distribución de los grupos sanguíneos indica, particularmente en los habitantes mayores de 70 años, una escasa mezcla con sangre de raza cobriza. Por tanto, quisimos verificar qué acontecía con el crecimiento de hijos de padres europeos recién llegados al país, es decir, nativos de primera generación. En éstos, el mismo fenómeno de aceleración prepuberal de crecimiento se produce y ello nos lleva, por lo tanto, a considerar el fenómeno causado por el medio y no como características raciales. Pero si a esto añadimos que nuestros habitantes presentan casos frecuentes de bocio coloide, no podemos menos que pensar que las condiciones climáticas, el aire enrarecido de altura y quizás condiciones telúricas tienen repercusión directa sobre la tiroides, no solamente en su fisiología sino hasta en las anomalías mismas de su constitución anatómica y como bien sabido es que la tiroides condiciona de manera muy marcada el crecimiento, nos vemos llevados a ver transformarse una condición de ambiente en un factor endógeno del crecimiento que al cabo de varias genera-

ciones puede muy bien transformarse en una característica hereditaria.

Todo el trabajo experimental llevado a cabo en nuestro Hospital San Juan de Dios, ha mostrado desde hace algunos años que en las diversas especies animales, ya sean éstos insectos, aves o mamíferos, el crecimiento prepuberal acelerado trae por consecuencia una disminución de la talla del adulto. Después de nuestras investigaciones, hemos tenido el gusto de verlas plenamente confirmadas por muchos investigadores europeos y norteamericanos.

Para no citar sino un ejemplo único, bástenos recordar que los animales machos, enteros, que cuando jóvenes han sido injertados suplementariamente con testículo, según el método de Voronoff, crecen más rápidamente que los testigos antes de la pubertad pero luego el tamaño definitivo es menor.

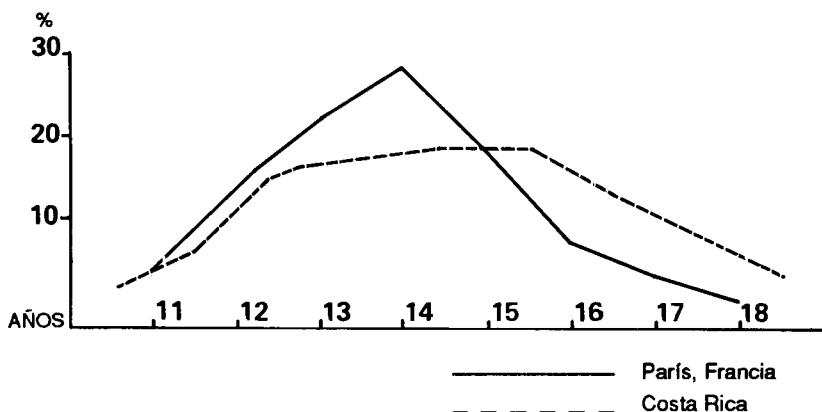


GRAFICO N° 1.—Comparación de la edad a la primera menstruación de las jóvenes en Francia y en Costa Rica.

Como entre nosotros es muy difícil establecer la época del comienzo de la pubertad en nuestras gentes de mediano acomodo y como las estadísticas llevadas a cabo con material hospitalario adolecen, todas, del gran defecto de referirse a personas desnutridas, pensamos en las épocas de cambio de dientes como capaces de fijar mejor, el desarrollo del niño. De los exámenes llevados a cabo en nuestras escuelas de San José, así como el Liceo de Costa Rica, se observó:

1. Que entre los 7 y 8 años de edad, cerca de un 50% tienen ya mudados los incisivos en su totalidad, lo cual significa para éstos una precocidad equivalente más o menos a un año.
2. Que a los 12 años de edad es muy frecuente encontrar niños con dentición fuerte, regular y completa como si comenzasen ya la edad adulta.

La precocidad en la época de aparición de la dentición no es, en nuestras regiones, exclusiva al hombre, sino que también los bovinos tienen brotados sus dientes a época más temprana que lo que acontece en los países de su origen, aún comparándolos con los animales más precoces de los países europeos.

Llegamos al fin de esta breve exposición que hemos tratado de resumir en cuanto nos ha sido posible y como conclusiones podemos sacar las siguientes:

1. Para individuos de raza homogénea, el ambiente hace variar las curvas de crecimiento en tamaño y peso.
2. Estas variaciones pueden o no ser paralelas.
3. Los habitantes de raza blanca en las zonas intertropicales crecen más en peso y en tamaño que cuando se desarrollan en países de clima templado.
4. La precocidad de crecimiento hace variar las épocas de cambios de la dentición así como la época de la pubertad.
5. La precocidad puberal aparece una disminución de la talla del adulto.
6. Nuestros empeños en aumentar el crecimiento de los niños puede traer reducción de los ciclos hormonales infantiles.
7. La disminución de las épocas de crecimiento redundan en menor desarrollo mental definitivo, ya que a su larga infancia debe el hombre, cuando menos en parte, su gran superioridad encefálica, comparada con la de los monos antropomorfos.
8. El empleo de curas actínicas en las zonas intertropicales deberá restringirse y aplicarse solamente a casos excepcionales, ya que las radiaciones naturales constituyen más

bien un exceso que va en detrimento del desarrollo y preponderancia de la raza blanca.

LITERATURA CITADA

Beeche Cañas, L. *Pelvimetría de la mujer costarricense. Memoria del Segundo Congreso Médico Centroamericano*. San José, octubre de 1934.

Goco E. *Weight-Height. Age of Filipino Children*. *Journ. of the Philippine. Med. Assoc.* T. 6. p. 425-1926.

Langton, E. A. C. *Some Observations on Infants and young Persons in Bunyoro, Uganda*. *East African Med. Journ.* T. 11, p. 316, 1934-1935.

Picado, C. *Vaccination contre la Sénescence Précoce*. Le François Edit. París, 1937.

NOTA

En el N° de octubre 21, 1940, de la revista Life, aparece un artículo titulado "Army health", donde se confirman todos estos hechos, pues los reclutas en los Estados Unidos de Norte América en 1940, son dos pulgadas más grandes y quince libras más pesados de como lo fueron los jóvenes de igual edad en 1917.

TRATAMIENTO DEL HIPERTIROIDISMO basado en un nuevo principio biológico

C. Picado T.
German Naranjo

TRATAMIENTOS BIOLOGICOS ANTERIORES

Pueden citarse como principales tratamientos biológicos instituidos para combatir el hipertiroidismo, sobre todo en la enfermedad de Basedow, los siguientes:

1. La diyodotirosina que frecuentemente trae reposo de la glándula pero cuyo inconveniente principal consiste en llevar a menudo al paciente al otro extremo y convertirlo en portador de un gūecho coloide macrofolicular con hipotiroidismo consecutivo.
2. El suero de animales tiroprivos que se mantienen vivos mediante inyecciones de tiroxina.
3. El suero de mixedematosos.

En el segundo caso se trata de un suero antitiróideo experimental y de uno natural en el tercero. Fuera de las dificultades de obtención, el inconveniente de estos tratamientos reside en el hecho de que cada vez el paciente necesita más suero hasta llegar a quedar sin efecto y ello debido a que siendo albuminóideos tienen el carácter antigénico y provocan, por lo tanto, en el receptor la formación de anticuerpos que, al fin, anulan sus cualidades manifiestas en las primeras inyecciones.

BASES DEL NUEVO TRATAMIENTO

Experiencias conducidas por Picado y Rotter¹ mostraron que el tratamiento prolongado por peptonas de tiroides conduce

al reposo de la tiroides del receptor, pero sin llegar a la hipertrofia de la glándula. Tiempos después, prosiguiendo las investigaciones, el primero de los autores encontró que las peptonas de órganos endocrinos preservan específicamente contra las estimulinas hipofisarias². Por lo tanto un animal que recibe peptona de tiroides tendrá preservada su propia tiroides de las estimulinas tireotrópicas, pero no habrá neutralización de las otras hormonas hipofisarias. Está pues en nuestra mano realizar la preservación electiva de la tiroides contra las excitaciones humorales endocrinas por medio de las peptonas que no tienen ninguno de los inconvenientes que apuntamos a los tratamientos biológicos preconizados contra la enfermedad de Basedow. Sus inyecciones repetidas no conducen a la hipertrofia tiróidea y como no tienen carácter antigénico su efecto puede prolongarse por muchísimo tiempo.

RESULTADOS EN EL HOMBRE

Relataremos brevemente la historia de la única persona que ha podido ser seguida por tiempo suficiente, pero, aunque se trate de un sólo caso creemos, que por tratarse de bases terapéuticas nuevas que pueden hacerse extensivas a otras perturbaciones endocrinas, no debemos demorar su publicación.

R. B. de J. Primeras reglas a los 15 años; a los 6 meses desaparecen y comienza la exoftalmia, temblor de las manos y pérdida de peso. Con tratamientos médicos no precisados se restablecen las reglas dos años después; se casa y nace un niño muerto casi a término. Viene a consulta teniendo:

Tiroides, agrandada medianamente (bocio tipo Basedow) pulso hasta 170'. Temblor vibratorio de las manos extendidas. Marcada exoftalmia, 40 kilos de peso para 1,56 de altura y 20 años de edad. Tiene 0,75% de colesterol sérico, bondadosamente dosado por D. Luis Bolaños en el Laboratorio del Hospital.

Se trata exclusivamente con peptona de tiroides de buey al 5% en forma de inyecciones subcutáneas de 2 centímetros cúbicos. La primera semana 2; segunda semana 3; y tercer semana 4. Luego se sigue a 2 por semana durante un mes. Se nota mejoría, pero se establece un reposo de un mes, luego se

trata otro mes a razón de dos inyecciones por semana, sea pues 2,5 g de peptona en 4 meses, como total. Las inyecciones fueron desinteresadamente preparadas por D. Hernán Badilla del Laboratorio del Hospital.

Ahora la exoftalmia es poco aparente, la tiroides ha disminuido de volumen. No hay temblores. El pulso va generalmente a 100, rara vez a 120. Ha ganado 5 kilos de peso y el colesterol sérico se normalizó llegando a 1,50 g. Hay nueva suspensión de reglas.

Damos las gracias a los señores Bolaños y Badilla por su colaboración benévola.

NOTAS

1. **Endokrinologie.** Band 21, Heft 2/3, p. 93. 1938.
2. **Revista médica de Costa Rica.** Año IV-no. 73. p. 188. 1940.

EL AGUA DE COCO COMO MEDIO DE CULTIVO

Hace 25 años, cuando comenzaban los trabajos rutinarios de bacteriología en el Hospital San Juan de Dios, puede decirse que no contábamos con otra clase de medios de cultivo que los que pudiésemos preparar nosotros mismos. No fue sino años después que aparecieron en el comercio los medios desecados para cultivos de bacterias y hongos. A partir de entonces, puede decirse que la gran mayoría de los laboratorios adoptó su empleo, sacrificando la parte económica a la mayor comodidad.

Como ahora, con motivo de la guerra que nos envuelve, muchos laboratorios de los pequeños países de la América Latina se verán privados de la comodidad de emplear medios desecados ya preparados, creo útil publicar mis experiencias sobre el empleo del agua de coco como medio de cultivo, ya que aunque datan de 25 años, sólo incidentalmente me he referido a ellas en publicaciones anteriores. Creo que el Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, dada su amplia difusión, es el mejor órgano para ello.

AGUA DE COCO Y LIQUIDO DE RAULIN

Si recordamos que el conocido y excelente líquido de Raulin para cultivo de hongos lleva los elementos minerales siguientes: magnesio, nitrógeno, fósforo, sodio, potasio, azufre, zinc, y hierro en la proporción de 0,67%, y sacarosa en la de 4,66%, y que el agua de coco contiene los mismos minerales, junto con pequeñas cantidades de calcio, aluminio y cloro en una proporción total de cerca de 1%, y además, cerca de 3% de sacarosa, salta a la vista la similitud de constitución, a tal extre-

mo que no titubeamos en afirmar que si Raulin hubiese conocido la composición del agua del coco, pronto se habría dado cuenta de que sus largas y pacientes investigaciones, que tan sólo a fuerza de tanteos sucesivos pudo llevar a cabo en varios años de esfuerzo, no lo llevaban a otra cosa que a preparar "agua de coco artificial, sintética" y si el conocido bacteriólogo francés Burnet sospechase su composición, no habría podido decir tampoco, comentando los trabajos de Raulin, que "ningún medio natural de cultivo para los *Aspergillus*, puede ventajosamente compararse al líquido de Raulin".

Al constatar estos hechos, desde hace muchos años, me vino la idea de probar el agua de coco esterilizada como medio de cultivo para hongos, ya fuese en forma líquida o bien gelificada con 2% de agar-agar. Los resultados obtenidos fueron excelentes, como luego lo veremos, pero antes de referirme a ellos, creo útil dar a conocer algunos datos y cifras concretas sobre la composición del agua de coco, que con el auxilio del Dr. W. Casseres, recogí para estas líneas. Es tanto más necesario tener estas cifras a la vista, cuanto que frecuentemente la denominación de "leche de coco" sirve a ciertos autores para designar un extracto total del coco, junto con la pulpa sólida, mientras que otros reservan la palabra "leche" para designar lo que nosotros llamamos agua. Las cifras mencionadas a continuación se refieren al agua del coco fecundado, seco, despulpado y listo para entrar en germinación y provienen de Bachofen en análisis recogidos por Winton ("Structure and Composition of Foods").

Ceniza	0,38%
K ₂ O	34,57%
Na ₂ O	13,96%
CaO	7,43%
MgO	3,97%
Fe ₂ O ₂ —Al ₂ O ₃	Indicios
P ₂ O ₂	5,68%
SO ₂	3,94%
SiO ₂	2,95%
Cl	35,52%
O	8,02%

Nosotros, por nuestra parte, con el auxilio de nuestros compañeros de laboratorio, cuya colaboración agradecemos, hemos encontrado:

Densidad	1,025
Extracto seco	6,0 %
Sacarosa	2,50%
Glucosa	0,50%
Fosfatos	0,07%
Cloruros	0,70%
Albúmina	0,01%
Nitrógeno orgánico	0,01%
pH	5,6

Hagamos notar desde ahora que a la excelencia de su composición mineral como medio de cultivo, debemos añadir el hecho de que su pH es el mismo que se emplea en los medios artificiales para cultivar hongos: el bien conocido medio de Sabouraud, por ejemplo; además, no lleva solamente sacarosa sino también una pequeña cantidad de glucosa junto con otra pequeña cantidad de albuminóideos que aseguran la nutrición de los hongos que allí se siembran, y cuyo cultivo en un medio limpio transparente e incoloro es fácil de seguir.

Veamos ahora cuáles son las múltiples utilidades que puede prestar este medio, cuyo costo no es sino de pocos céntimos por litro.

I. EL MEDIO ACIDO NATURAL

Micosis

El agua de coco, simplemente esterilizada por ebullición, nos ha permitido en lugares apartados de los laboratorios recoger y cultivar *Aspergillus* de micosis pulmonares. En agua gelificada hemos cultivado, en todo el transcurso de los 25 años pasados, la gran mayoría de los hongos patógenos del hombre que son causa de las diversas micosis y que sería largo enumerar (Figuras Nº 1 y 2).

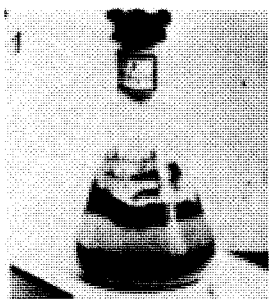


FIGURA N° 1.—*Aspergillus fumigatus* proveniente de un caso de micosis pulmonar humana, en agua de coco esterilizada. (Microfoto Morales)

FIGURA N° 2.—Aspecto microscópico del cultivo anterior.

Hongos fitopatógenos

El agua de coco gelificada con agar-agar al 2 ó 3% nos ha servido también para aislar y conservar gran número de hongos fitopatógenos entre los cuales citaremos el *Fusarium cubense*, que es causa de la enfermedad del banano (Figura N° 3).

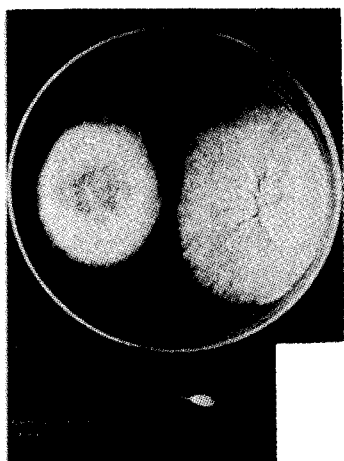


FIGURA N° 3.—Cultivos de hongos en agua de coco gelificada con agar-agar. A la derecha *Fusarium cubense*, causante de la "enfermedad de Panamá" del banano; a la izquierda, *Fusarium genevense* no patógeno (el primero se torna rojo, y el segundo amarillo al cabo de dos semanas).

Levaduras y micodermas

Las levaduras industriales corrientes de panificación, vinificación, cervecería y destilería encuentran, así como los *Mycoderma* de los vinagres, un medio propicio en el agua de coco.

Bacteroides y bacterias fitopatógenas

En este mismo medio, sin modificación alguna, pueden cultivarse los diversos bacteroides de las nudosidades radiculares de las leguminosas, así como también diversas bacterias causantes de mayas, necrosis y putrefacciones en diversas plantas: bananos, tomates, frijoles, etc. (Figura N° 4).

Bacilos lácticos

Tanto los bacilos búlgaros como los acidófilos proliferan perfectamente en este medio, que sirve no sólo para su multiplicación, sino para su ingestión.

Germinación aséptica de orquídeas

Si recordamos que las semillas de orquídeas no germinan habitualmente sin el concurso de los hongos simbióticos debido a la falta de albumen en tales semillas, y que el agua de coco no es en suma otra cosa que albumen líquido de una semilla de otra monocotiledónea, intentamos en este medio el cultivo de

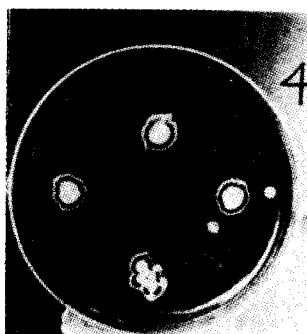


FIGURA N° 4.—Bacterias causantes de una enfermedad (hielo) de los frijoles, cultivadas en agar-agua de coco, donde producen zonas concéntricas de color chocolate, que en otros medios no aparecen.

orquídeas, asépticamente, y el éxito más completo nos ha sido dado obtener con géneros diversos, sea partiendo de frutos antes de abrirse, sea de semillas lavadas en líquidos desinfectantes. (Figuras N° 5 y 6).

5



FIGURA N° 5.—Híbrido de *Cattleya* con 5 meses de edad (ampliado cinco veces).

6

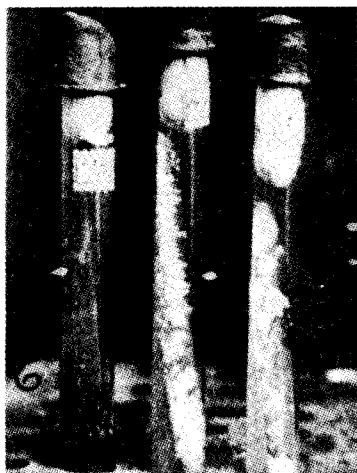


FIGURA N° 6.—Cultivos asépticos de orquídeas en agar-agua de coco, pertenecientes respectivamente a los géneros *Epidendrum*, *Cattleya* y *Oncidium*. (Tamaño natural y 5 meses de edad).

Gusanos de frutas

Las larvas de moscas que atacan nuestros frutos (*Anastrepha*), pueden seguir viviendo en tubos de agar-agua de coco. Su vida prosigue con tal normalidad que así pueden obtenerse no sólo las moscas con sus caracteres normales específicos, sino también los himenópteros cuyas larvas parasitan los gusanos de las frutas. Si añadimos tornasol al agar de coco en que viven las larvas de las moscas de fruta, obtenemos *in vivo* la coloración del tubo digestivo: roja en su parte anterior y azul en el intestino posterior; lo cual es útil cuando se estudian las propiedades bactericidas de las larvas.

II. AGUA ALCALINIZADA AZULADA

Si lo que deseamos es cultivar en este medio bacterias patógenas para el hombre o los animales vertebrados, ya el pH del medio no es soportable para muchas y entonces debemos cambiarlo y alcalinizar. Como indicador podemos usar la tintura de tornasol adicionada al medio, o bien emplear las hojas del Azul (*Justicia tinctoria*), planta de la familia de las acantáceas, de la cual nuestros indios sacaban un colorante, y que es bien conocida de nuestros campesinos, pues desde la época colonial ha venido sirviendo para azular la ropa blanca, después de lavada, tal y como se emplea el azul de Prusia.

El "azul" como indicador de pH

Las hojas frescas de la planta hervidas en agua o maceradas en agua fría, dan un líquido azul violeta cuyos virajes son más preciosos que los que nos ofrece la tintura de tornasol. En efecto, si a 2 centímetros cúbicos del líquido en examen añadimos 0,1 centímetro cúbico de infusión fresca de hojas de "azul" al 25%, obtenemos:

- con pH-8, coloración verde
- con pH-7, coloración azul
- con pH-6, coloración violeta azulada
- con pH-5, coloración violeta rojiza
- con pH-4, coloración violeta roja

Es decir, que fuera de las gamas intermediarias tenemos tres variaciones netas de color: verde para el francamente alcalino, azul para el neutro y rojo para el ácido, en vez de las dos del "tornasol".

Fermentación bacteriana

Si neutralizamos agua de coco, hervida con 2% de hojas de azul, cuya coloración es violeta, por adición de soda y alcalinizamos hasta coloración netamente azul la totalidad del líquido

y luego la mitad de él hasta que comience a virar a verde, y si entonces mezclamos ambas porciones obtenemos un medio con un pH aproximado de 7,6. En tubos ordinarios de cultivo ponemos 10 centímetros del líquido, un tubo de hemólisis invertido para que sirva de campana para recoger gas y autoclavamos.

Varios fenómenos pueden producirse:

1. Acidificación con viraje rojo estable, sin gas y sin decoloración parcial del líquido, en su base (en 24-48 o más horas a 37°C);
2. Mismo fenómeno, pero con "camaleonaje" al cabo de 48 horas a 37°C;
3. Acidificación con producción de gas y coloraciones como en (1) y (2);
4. Producción de gas con decoloración del medio.

Como ejemplo citaremos el caso de los bacilos paratífico A y B y Coli.

	24 horas a 37°C	48 horas a 37°C
Tífico	Rojo sin gas ni decoloración	Rojo sin gas ni decoloración
Para A	Rojo sin gas ni decoloración	Viraje a violeta en la parte superior
Para B	Rojo —decoloración en el fondo— comienza a producirse gas	Viraje como el A, pero con una burbuja neta de gas
Coli	Rojo—decoloración— bastante gas	Mayor decoloración y producción de gas

En un principio atribuimos las diferencias de comportamiento notadas en los paratíficos al hecho de que el agua de coco tuviese algún azúcar, xilosa por ejemplo, que fuese fermentado exclusivamente por el Para B y no por el Para A, pero el estudio de las osazonas nos mostró la presencia de glucosa como único azúcar fermentable por los paratíficos.

La dualidad de comportamiento se debe a la concentración de azúcares en el medio: demasiado fuerte para el Para A, que no puede producir allí la fermentación gaseosa, pero no para el Para B, ni menos aún para los colibacilos.

En medios artificiales por concentraciones variadas entre azúcares diferentes, aunque ambos sean fermentables aisladamente, podemos establecer los índices específicos de fermentación gaseosa, propios a cada especie bacteriana. Es pues obra de la casualidad el hecho de que en el agua de coco el 0,5% de glucosa vaya adicionada de la cantidad de sacarosa (3,5%) y de sales minerales que establecen el índice diferencial entre los dos paratíficos.

Para la diferenciación de las bacterias intestinales, presta pues el medio de que nos ocupamos inmensos servicios, pudiendo sustituir medios diferenciales caros y de preparación difícil.

Inútil parece añadir que el agua de coco azulada y alcalinizada es susceptible de gelificación, prestándose para el cultivo de las bacterias más diversas.

Si deseamos tener un medio de cultivo más pobre y privado de azúcares para poner en él los que a voluntad deseamos, podemos despojar al agua de coco de sus azúcares y parcialmente de sales, mediante una previa fermentación por levaduras que ataquen la glucosa y sacarosa. Una vez terminada la fermentación el líquido decantado es azulado, alcalinizado, adicionado de los azúcares u otras sustancias con que quiera enriquecerse (peptona, por ejemplo) y finalmente gelificado por adición de 3% de agar-agar.

Sobre este medio de cultivo pueden aislarse las diversas bacterias intestinales patógenas, y luego comenzar su identificación en el medio natural líquido con campana, que algunas veces es suficiente en cuanto a fermentación se refiere.

El hecho de contener sacarosa y glucosa permite con el agua azulada, neutralizada y gelificada, preparar tubos semejantes a los de Russell, que se presten a la vez para sembrar, en profundidad por picadura, y en superficie por estría, las bacterias en estudio.

En los medios de cultivo indicados, previa la experiencia que todo principio requiere, encontrarán quienes quieran experi-

mentarlos, una fuente de economía monetaria y de esfuerzos que habrá de facilitarles los trabajos de bacteriología y micología necesarios para sus estudios en estos tiempos difíciles y en laboratorios mal equipados.

Nuestra pródiga Naturaleza tropical, viene, una vez más, a traernos ya hecho lo que a otros ha costado largos años de trabajo. No conozco por sus diversas aplicaciones, ningún medio de cultivo artificial o natural que pueda ni lejanamente compararse al que nos ofrecen los cocoteros en nueces huecas, estériles, que son verdaderos recipientes ya listos para sembrar en ellos los microbios que deseamos estudiar, llegando pues en su generosidad la Naturaleza no sólo a darnos el medio de cultivo ya listo sino a permitir que trabajemos aun sin autoclave, y lo que es aun más milagroso, sin cristalería, ya que podemos sembrar directamente en el coco mismo.

INTENTOS DE JUSTIFICACION ANTE UNA CRITICA

Son muchas las actuaciones del Dr. Eugenio García Carrillo que debo agradecer. A ellas añade el bondadoso análisis que de nuestro último libro (Biología hematológica elemental comparada) ha publicado en Repertorio Americano. Según reza un viejo proverbio castellano, y según nosotros lo pedimos en el prólogo, buena es la discusión y bueno también que en ella haya "Dos de Cal y una de Arena". En su artículo el Dr. García Carrillo ha introducido una reforma al adagio y pensado que mejor es, "Dos de Cal, una de Arena y un guijarro por añadidura".

En nuestra contestación separaremos la cal como un símbolo de grato recuerdo, tamizaremos la arena para limpiarla de tierra y también guardarla, pero una vez libre de escorias. En cuanto al guijarro con facilidad lo apartaremos.

Al contestar, a veces, nos referiremos a e.g.c., que es la firma usada.

Como e.g.c. ha querido hacer sus primeras armas en el campo profesional como cardiólogo, y nosotros queremos aplaudir sus empeños, vamos a tomar muy en serio las objeciones que como cardiólogo nos presenta. El se sitúa en el puesto de un médico que ve a un Hombre; nosotros, en lugares lejanos en que debemos considerar en el tiempo y el espacio toda la serie animal. Si se hubiese tratado de escribir sobre cardiología humana o sobre fisiología general del hombre, lo primero que hubiésemos hecho es no alentar tales propósitos y ello, por una razón suprema: nuestra incompetencia, que somos los primeros en reconocer.

En el preámbulo del libro analizado ya dijimos que cada uno de nuestros capítulos peca por déficit y que habrá de com-

pletarse. Es decir: si el propósito de enmienda quedó ya hecho, el día de hacer penitencia no creo que haya llegado. Veamos lo que al respecto e.g.c. dice: *"En la página 26 los autores se preguntan qué papel desempeñan en los latidos del corazón las células cardíacas llamadas embrionarias y añaden "Nada de esto sabemos". Afirmación sorprendente en vista de tantos trabajos clásicos sobre la materia como los de Lewis, de Wilson, de Katz etc. Recordemos que el llamado tejido embrionario es más bien un conjunto altamente especializado de fibras musculares: el nodal y las fibras de Purkinje. Es precisamente este tejido el principal factor en tan importantes propiedades fisiológicas del corazón como la ritmicidad, la conductibilidad y la irritabilidad. Su mecanismo íntimo se revela, por lo menos en parte, en el electrocardiograma, de tanta importancia en la Clínica cardiológica".*

El médico se sorprende de nuestras afirmaciones de ignorancia, un biólogo se espantaría algo menos si considera:

1. Que no solamente las células cardíacas a que hicimos referencia son las células embrionarias que persisten en los mamíferos adultos, sino que ellas persisten también en otros órganos en los cuales las palpitations normales no existen: tales por ejemplo las células estrelladas de los cuernos anteriores de la médula espinal (citadas por Picado en la página 96 de su libro "Vaccination Contre la Sénescence Précoce", desde 1937).
2. Que aunque el Fascículo de His y el Nódulo de Tawara, constituidos por las células embrionarias a que hicimos referencia, queden en la parte superior, la punta de corazón separada del resto continúa palpitando con ritmicidad, (si el líquido de perfusión es adecuado), como hacemos referencia en la página 26 de nuestro último libro.
3. Que es al mismo tiempo que en el embrión se origina el labio bastopórico, que actúa como organizador de la médula, que conserva de por vida sus células embrionarias, cuando los esbozos cardíacos también se manifiestan; conservando ellos así mismo de por vida, sus reliquias embrionarias. (pág. 24).

4. Que en los animales cuyo corazón no tiene la misma constitución que la de los mamíferos y donde no hay nódulos ni fascículos embrionarios, la contracción y el ritmo existen: tal una oruga, por ejemplo.
5. Que Osterhout ha demostrado por medio de electrogramas que con la multiplicación todas las células van cambiando su conductibilidad eléctrica. (pág. 68 de mi libro sobre la Senectud).

Así el biólogo, para quien el hombre no representa sino un accidente en la serie de la vida, verá que nada hay más natural que el hecho de que las células cardíacas embrionarias presenten a los iones una permeabilidad diferente de la que ofrecen las células o fibras en vías de multiplicación, y que así lo traduzcan los electrocardiogramas. Verá además, como lo dice Augier en su libro sobre la *Ritmicidad de las corrientes de acción celular*, que:

"A pesar de la diversidad de los ritmos y la variedad de origen de las células en que se observan los sistemas pulsantes, estos muestran una gran unidad en su comportamiento".

Se preguntará qué motivos permiten que queden las reliquias embrionarias, sea en el corazón, sea en el cerebro, sea en la médula. También se interrogará sobre qué función como "organizadores" o "inductores" seguirán desempeñando, y como además sabe que solamente se ha iniciado este capítulo de la biología convendrá en que nada sabemos. (Recordemos que es en los párrafos correspondientes, donde nosotros hicimos la mención).

Por otra parte recordará que según una ley formulada por Rubner, ningún corazón de mamífero puede latir más de mil millones de veces, salvo el corazón humano; tendrá presente que la longevidad en los mamíferos es inversamente proporcional a la frecuencia del ritmo cardíaco. Este es muy rápido en los ratones que no viven sino dos años, y muy lento en el elefante que vive más de medio siglo.

Si como e.g.c. quiere, nos damos por satisfechos atribuyendo el ritmo cardíaco a los restos embrionarios, cosa imposible de concebir en el caso de los invertebrados, nos veríamos conducidos a localizar en el fascículo de His o en el nódulo de Tawara el centro de la longevidad, y esto al biólogo de nuestros días parecería un hecho tan pueril como si continuásemos creyendo con Descartes que es en la epífisis donde el alma reside.

Ahora, ya expuesto el asunto con algo menos de trabas que las que tiene un libro elemental para estudiantes, los que me han honrado con su lectura juzgarán si tengo o no el derecho de asegurar, con respecto a las reliquias embrionarias que nada sabemos. Pero si alguien se empeña, singularizo y digo *nada sé...* y que los demás sigan en paz.

Citamos al plomo por el hecho de que las alteraciones de los glóbulos rojos son fácilmente apreciadas al microscopio, y además, por el hecho de que el saturnismo, que algunas veces se presenta en pintores, u otros obreros, será probablemente lo más corriente, o lo único, que en sus profesiones tengan que observar médicos, farmacéuticos o trabajadores de laboratorios.

Si fuese verdad que al bacilo de la tifoidea se asocia un ultravirus, el ejemplo sería doblemente valioso, pues mostraría no solamente el enterotropismo de las bacterias, sino también, y a la vez, el de un ultravirus vehiculado por ellas.

Citar a los microbios de salida, que no son parásitos, en nuestro capítulo de los parásitos sanguíneos, como quiere e.g.c., sería como pretender que un zoólogo citase como ejemplo de carnívoros, a las ratas, en vez de los felinos, por el hecho de que siempre que pueden comen carne. Los microbios de salida atacan a los muertos, o los caquéticos, mas no a los sanos, como hacen los verdaderos parásitos.

Desde hace muchos años se publican varios intentos de obtener anticuerpos *in vitro*, pero, a nuestro juicio "No hay nin-

guna experiencia convincente". Plasma inmune artificialmente puedo prepararlo, sin que ello quiera decir que soy capaz de obtener anticuerpos *in vitro*".

La constatación de que la hiperleucocitosis provocada por reflejos condicionados a la presencia de comida es mayor en los dementes que en los sanos, no es nuestra. Ya en otra ocasión disponiendo de un campo menos restringido habíamos citado el ejemplo. En esta Revista (Nº 58 – p. 444 – 1939) decíamos:

"En 1931 Metalnikov estudia la influencia de los reflejos condicionales en la leucocitosis y la fórmula leucocitaria y encuentra cambios tan netos como si se tratara de inyección de antígenos.

Lobatch los encuentra en el hombre en lo concerniente a las leucocitosis digestivas y –hecho capital para nuestras concepciones– constata que en algunos enfermos mentales la leucocitosis que sigue a las comidas, puede llegar a ser el doble de lo habitual, a la sola vista de ellas, sin tomar alimento alguno; es decir, por un reflejo condicional, que una necesidad no satisfecha lleva al doble de lo que hubiese sido después de saciar el apetito".

Años después el Dr. E. García Carrillo en esta Revista dice, al considerar las hiperleucocitosis que él cree habituales en un tercio de los dementes: "Atribuimos la leucocitosis a un factor emotivo mental".

Ahora nos cuenta el mismo autor que las constataciones de un discípulo de Pavlov llevan quizás el error de no haber tomado en cuenta la hiperleucocitosis habitual del enfermo. No tengo derecho de creer que el experimentador fuera tan torpe que olvidase establecer los cómputos leucocitarios preliminares y no juzgase la hiperleucocitosis por diferencia, tal y como siempre se ha hecho.

Yo más bien me siento inclinado a creer que muchas de las hiperleucocitosis que se consideran habituales no son otra cosa que reflejos condicionados que en este caso no obedecen a la presentación de alimentos, sino a la presencia de un operador que va a pincharlos para hacer los cómputos.

Un estudio experimental, como contribución en nuestro país, para esclarecer estos asuntos, habrá de llevarse a cabo por el Dr. R. Chacón Paut, director de nuestro único Hospital de enfermedades mentales en colaboración con D. Alfonso Trejos, coautor de "Biología Hematológica".

Antes de concluir el tamizado de la arena digamos que hay en la exposición del Dr. García Carrillo dos puntos que requieren un cuidadoso examen:

1. Su negación de la especificidad del bacilo de la tifoidea como causa de la enfermedad. Es tal la importancia de la concepción, que haría cambiar todos los métodos actuales de vacunación que se emplean en el mundo entero, particularmente en los ejércitos que ahora libran la guerra.
2. La obtención de anticuerpos "*in vitro*", ya que ella revolucionaría totalmente la producción de sueros y evitaría que miles de jóvenes soldados sucumbiesen a la gangrena gaseosa, por ejemplo.

No debemos dejarlos pasar por alto y en nombre de la redacción de esta Revista invito cordialmente al Dr. García Carrillo para que nos haga una exposición de ambos asuntos en estas páginas. Una vez conocida esta revisión, exposición, análisis, síntesis, o como quiera llamarse, veremos si la documentación es original o si se trata de análisis respaldados por firmas competentes, y no de simples noticias de tercera o cuarta mano. Veremos si adoptamos las concepciones a que se adjunta el doctor García Carrillo, o si seguimos en las nuestras; pero sea cual fuere nuestra manera personal de concebir las cosas, en un libro como el que acabamos de publicar, dedicado a alumnos que comienzan, no tenemos el derecho de introducirlas.

Veamos ahora lo referente al guijarro: termina su análisis crítico diciendo: "Numerosos dibujos contribuyen mucho a la clari-

dad del texto y es justo que en futura edición se mencione a la autora de ellos". Sabiéndolo, antes de que fuese publicado este concepto del doctor García Carrillo le expuse nuestra experiencia personal que se resume así:

- a) Cuando era estudiante en Francia me encargué de dibujar las ilustraciones que figuran en algunos libros de mis maestros en la Sorbona. Por cada dibujo se me pagaron cinco francos.
- b) Se me dijo que puesto que yo no dibujaba del natural sino copiando otros dibujos, el nombre que como autor quedaba, como de costumbre, acreditado, era el del dibujante que tomó lo natural por modelo. Así se hizo y al Dr. García Carrillo mostramos un ejemplar de uno de los libros que tengo en mi biblioteca y que fueron ilustrados por mí.
- c) Siempre en mis publicaciones he continuado el ejemplo de mis maestros, que es a su vez la conducta que siempre han seguido los profesores de la Escuela de Medicina de París que lo fueron del Dr. García Carrillo y cada vez he acreditado los dibujos al autor original, es decir a quien hizo el primer dibujo tomado del natural.

Mi penúltimo libro sobre Senectud lleva dibujos copiados de otros por mis parientes. D. Manuel Picado, D. Hernán Páez y otros dibujantes. A estos señores pagué de mis escasos recursos diez colones por cada lámina. Para el libro último editado por la Universidad, pagué lo mismo, pues debía considerar lo ajeno como si fuese propio, y cada dibujo se retribuyó, también esta vez, con diez colones. No es mucho, pero no podía dar más.

Como ningún dibujo es original sino copia de otros, el autor a quien deben quedar acreditados, es como bien se comprende, al primitivo, y así lo hice.

Todo esto lo sabía el Dr. García Carrillo pues expresamente fue a explicárselo mi colaborador el Sr. Trejos. Todo fue inútil para hacerlo desistir de su empeño: él quería darnos una lección pública sobre falta de ética. Por más que medito no alcanzo a

comprender qué móviles lo han impulsado. Su parecer, externalizado públicamente, acerca del comportamiento que en el futuro debemos seguir es, por tratarse de una cosa de índole privada, una "salida de tiesto" por parte suya.

Si quito tiempo a los lectores y espacio a la Revista, pido mil perdones y si lo hago es principalmente para que mi amigo y colaborador D. Alfonso Trejos, que lógicamente habrá de vivir mucho más que yo, no cargue desde un principio con el calificativo de mezquino. Lo demás, en lo personal, no me preocupa.

Sepan sí los jóvenes estudiantes a quienes este libro está dedicado, que seguir el consejo que nos da el Dr. García Carrillo de acreditar como autor de un dibujo a quien lo copia, por limpia, buena y admirable que esta copia sea, es un delito penado por nuestros códigos.

PROAGLUTININAS DEL GRUPO HEMATOLOGICO ABo

(Heterogeneidad del grupo I de Moss)

Puesto que esta nota no tendrá sino escasos lectores que se ocupen especialmente de los grupos hematológicos, me veré obligado a insistir sobre algunos extremos que son familiares a los hematólogos, pero que no forman parte de los conocimientos que pueden pedírsele a lectores cultos corrientes. En todo caso, con el fin de evitar la lectura de estas líneas, a aquellas personas que estén familiarizadas con estos asuntos, hemos resuelto fragmentar con subtítulos la presente exposición, y así cada cual podrá leer solo aquello que sí representa conceptos nuevos para la hematología.

Los principios básicos en que descansa la ciencia de los grupos hematológicos no deben sin embargo estar tan difundidos como fuera de esperarse; es así por ejemplo que hemos tenido ocasión de ver varias publicaciones en que se exaltan las ventajas del plasma desecado, asegurando que una de ellas es-triba en el hecho de que en los plasmas mezclados de personas de diferentes grupos, las aglutininas se neutralizan mutuamente, siendo así que el mecanismo de su posible atenuación es del todo diferente, como luego lo veremos.

Repartición de los Aglutinógenos

Cuando los aglutinógenos existen, es decir, en los grupos I, II y III, estos pueden dividirse en dos grandes categorías: los **fijos** y los **disueltos**. A los aglutinógenos fijos pertenecen los que se encuentran en los glóbulos rojos y que permiten a estos glóbulos ya que son células libres, ser aglutinados por las sustancias activas, denominadas **aglutininas**, de otros

sueros animales o humanos con tal de que estos últimos sean de distinto grupo.

Si a un suero aglutinante le añadimos cantidades apropiadas de los glóbulos que él aglutina, lo podemos despojar de las aglutininas, pero eso mismo podemos hacerlo con fragmentos de la mayoría de los tejidos del cuerpo; en otras palabras, el grupo a que pertenecen los glóbulos, es el mismo grupo a que pertenece la totalidad del individuo.

Fuera de estos aglutinógenos fijos hay también otros que van disueltos, y estos pueden encontrarse en el plasma sanguíneo desprovisto de glóbulos, y pueden también ser, en ciertas ocasiones, excretados por la orina, por la saliva etc. Todo esto, tiempos ha era conocido.

Poder Protector de los Sueros

Bien conocido es el hecho de que cuando va a determinarse el grupo sanguíneo a que una persona pertenece es necesario lavar sus glóbulos para desembarazarlos del suero que los baña; este hecho obedece a que los sueros tienen un poder más o menos marcado para disminuir y aún neutralizar en ciertas ocasiones las aglutininas de los sueros pertenecientes a otros grupos.

Por eso cuando la comisión respectiva de la Liga de las Naciones se ocupó de la determinación de los grupos hematológicos, se pronunció en el sentido de que cada laboratorio se proveyese periódicamente de sueros típicos aglutinantes de título bien elevado, provenientes de laboratorios de hematólogos de reputación mundial reconocida, y tal se aconsejó, por el hecho de que frecuentemente las determinaciones de grupos se hacen con una gota tomada directamente del dedo, y sin lavar los glóbulos; en tales condiciones, si los sueros aglutinantes de que dispone el operador, son débiles, y el poder protector del suero de la persona examinada es alto, los glóbulos no se aglutinan.

En otras palabras, si mezclamos en debidas proporciones, y diluciones adecuadas sueros del grupo II, con sueros del grupo III, podemos llegar a la desaparición de las dos aglutininas, y ello se debe a que los aglutinógenos disueltos de cada suero, absorben las aglutininas del otro, y viceversa, y de ninguna manera a

que las aglutininas de distinto nombre se neutralizan entre sí. Lo cual quiere decir que una mezcla de sueros de grupo II, con sueros de grupo III, no es equivalente a un suero del grupo IV. En la mezcla encontramos: aglutininas libres del grupo II, aglutinógenos del grupo II unidos a aglutininas del grupo III, aglutininas libres del grupo III, y aglutinógenos del grupo III unidos a aglutininas del grupo II; mientras que en los sueros del grupo IV, sólo hay aglutininas y no aglutinógenos.

Propiedades Protectoras del Suero del Grupo I

En más de 4 000 determinaciones de grupos hematológicos hechas por nosotros en los habitantes de este país, encontramos que el grupo I se presenta con una frecuencia de 3%, es decir, que entre nosotros, aunque menos que en otras partes, tal grupo es en extremo raro, y como además, para el estudio de las propiedades protectoras de los sueros necesitaba suficiente cantidad de sangre, no me fue posible estudiar las propiedades de los sueros del grupo I sino en 27 casos.

Ya que los individuos pertenecientes al grupo I son siempre heterocigotas, y que solamente uno de los dos aglutinógenos que llevan proviene de cada uno de sus padres, y puesto que en investigaciones anteriores habíamos constatado que la distribución de los aglutinógenos entre el suero y los glóbulos de las sangres de grupo II y de grupo III no obedece a reglas fijas, sino que a veces se encuentran individuos con glóbulos muy sensibles, es decir muy cargados de aglutinógenos, dentro de un plasma de contenido escaso, o aún desprovisto de ellos, mientras que en otras ocasiones, glóbulos muy resistentes responden a un plasma muy rico en aglutinógenos disueltos, o sea en propiedades protectoras, era de suponerse que los diversos individuos del grupo I tuviesen diferentes proporciones de aglutinógenos disueltos de cada uno de los grupos II y III, y que por tanto, el poder protector de dichos sueros fuese diferente para las aglutininas del grupo II y para las del grupo III. La experiencia nos reveló que efectivamente esto así se sucede, pero lo inesperado es el hecho de haber constatado que algunos sueros del grupo I tienen la propiedad de auxiliar sea las aglutininas del grupo II, sea las del

grupo III, y que por tanto, si tomamos en cuenta las propiedades protectoras contra las aglutininas, o auxiliares para las mismas, llegamos a la conclusión de que el grupo I no es homogéneo, y que pese a la poco feliz denominación de **receptores universales** con que a los individuos pertenecientes a este grupo se les ha designado, no es indiferente el escoger un donador de otro grupo cualquiera, sino que para obtener un donador apropiado, habría que tomar una persona del grupo II, o del grupo III, y cuya aglutinina sea parcialmente neutralizada por el suero del receptor, y en ningún otro caso un individuo cuya aglutinina sea reforzada por el suero del receptor del grupo I.

Si clasificamos los 27 sueros del grupo I que hemos estudiado podemos establecer los subgrupos que se muestran en el Cuadro N° 1.

CUADRO N° 1.—Clasificación del suero de 27 individuos del grupo I respecto a los grupos II y III.

Indiferentes	7%
Protege contra II	14%
Protege contra III	0%
Protege contra II y contra III	29%
Auxilia al II y al III	0%
Auxilia al II	14%
Auxilia al III	36%

Selección de donadores para el grupo I

Tomando en cuenta:

1. Que el grupo I tiene glóbulos capaces de ser aglutinados a la vez por las aglutininas del grupo II y por las del grupo III.
2. Que los mal llamados *donadores universales*, pertenecientes al grupo IV poseen ambas aglutininas.
3. Que muchos de los accidentes consecutivos a transfusiones han sido ocasionados por el empleo de *donadores universales* con alto título de aglutininas.
4. Que frecuentemente las víctimas pertenecían al grupo I.

5. Que nunca encontramos sueros del grupo I que protegiesen igualmente contra las aglutininas del grupo II y las del grupo III,

Se desprende que el grupo IV es el menos indicado como donador.

Debe por tanto seleccionarse el donador, a falta de grupo I, entre personas del grupo II o del grupo III, y para esto escogerse el grupo para el cual tenga el receptor propiedades protectoras y en ningún caso recurrir a personas de un grupo para cuyas aglutininas el suero del receptor tenga propiedades auxiliares, o **proaglutininas**. Como puede verse por el Cuadro Nº 1, el mayor número de probabilidades corresponde al grupo II, el cual sería además indicado por estar sus aglutininas casi siempre a un título más bajo que las del grupo III.

El previo examen de las propiedades protectoras o auxiliares de los sueros de receptores del grupo I, debería practicarse siempre que no haya suma urgencia para la transfusión, y así se evitarían no pocos accidentes cuya gravedad puede llegar hasta la muerte.

Técnica

El estudio de los sueros del grupo I puede efectuarse como sigue:

En una primera fila de tubos de hemólisis, se distribuye suero del receptor en las proporciones de 3, 5, 7, 9 gotas, y en una segunda fila, mismas cantidades de agua fisiológica; a cada tubo se le añade una gota de suero fresco del presunto donador.

Por otra parte, se prepara una emulsión al 5% de glóbulos lavados del receptor. A una gota de esta emulsión globular, se le añade una gota igual de suero diluido del presunto donador, sea en suero del receptor sea en agua de sal, es decir que el examen se hará llevando por pares las diluciones de mismo título del suero del presunto donador, hechas en agua fisiológica y en suero del receptor. Con las diluciones indicadas, pronto se constata si el suero del receptor contiene o no propiedades protectoras o auxiliares con respecto a las aglutininas del presunto donador.

Los donadores cuyo suero necesitase más altas diluciones deberán descartarse por la intensidad de sus aglutininas.

Nueva Noción de Proaglutininas

Cuando hace algún tiempo y por otros motivos estudiaba las sangres fetales tomadas del cordón umbilical, tuve ocasión de constatar que ciertas veces, antes de aparecer las aglutininas, los sueros tenían la propiedad de auxiliar sea a las aglutininas de sueros del grupo II, sea a las del grupo III.

Como en algunos casos, en las sangres del cordón los glóbulos comenzaban a ser aglutinados por una u otra aglutinina, y en el plasma se encontraban propiedades auxiliares, a la vez para la aglutinina II y para la aglutinina III, y como tales propiedades las hemos también constatado en sangres de cordón cuyos glóbulos estaban carentes de aglutinógenos, hemos de considerar que tales sangres no corresponden al grupo I, sino a uno de los otros grupos, en individuos cuya constitución hematológica estaba apenas en vías de formación, y que con los años habrían de corresponder a los grupos II, III y IV.

Como estas propiedades aparecen antes que las aglutininas, y como auxilian a las verdaderas, tenemos dos motivos para denominarlas **proaglutininas**. Para ponerlas en evidencia se necesita que las aglutininas no existan, pues entonces se unen a ellas reforzándolas, y por tanto no es sino en las sangres fetales, cuando las aglutininas aún no han aparecido, o en los sueros del grupo I, carentes de ellas durante toda la vida, donde pueden estudiarse. Las proaglutininas se diferencian totalmente de las aglutininas por el hecho de que pueden coexistir con los diversos aglutinógenos sin ser absorbidas por ellos como en el caso de las aglutininas.

Investigaciones en curso son conducidas en nuestro laboratorio con el fin de saber si según sospechamos, en los casos de inmunidad artificial o la normalmente adquirida contra elementos exógenos, hay también antes de la formación de verdaderos anticuerpos, la de cuerpos o propiedades semejantes a las proaglutininas de la sangre humana que hemos descrito, y que de una manera general podríamos llamar **proanticuerpos**.

(Trabajo del Laboratorio del Hospital San Juan de Dios).

TEMOR REAL A UN PELIGRO HIPOTETICO

San José, mayo 6 de 1944

Señor

Doctor don Joaquín Zeledón

Director de la "Revista Médica de Costa Rica",
Pte.

Estimado amigo:

A propósito de lo publicado en su Revista en la sección de "Actualidades", con respecto a los riesgos de transfusión, particularmente en lo que se refiere el grupo Rh, y ya que tal motivo suspecto fue considerado en una reunión médica en el Hospital, me permito rogarle que inserte en nuestra estimada Revista, el criterio de su viejo colaborador, que en resumen queda así:

- A. La gran mayoría de los accidentes consecutivos a transfusiones en que se han hecho las determinaciones de los grupos (es decir los aglutinógenos de los glóbulos) de manera impecable, se deben al hecho de haber desconsiderado el plasma, o suero, de los partenarios. Ya expusimos en esta Revista (Nº 110, p. 481, 1943) la heterogeneidad del grupo ABo, o sea el I de Moss, que bien puede servirnos como ejemplo.
- B. El grupo Rh, que se está artificialmente haciendo intervenir, no es testigo, y menos aún reo de los homicidios, no voluntarios pero sí evitables, que se están consumando por

creer que el arte de la transfusión es asunto de pura fontanería y que no hay que tomar en cuenta las interacciones plasmáticas.

- C. Los aglutinógenos, sin que nos importe cual sea su número ni su nombre, no desempeñan ningún papel nocivo si en la especie *Homo sapiens* (u *Homo stultus*, según Richet) no existen las *aglutininas* correspondientes.
- D. Para el grupo Rh no las hay naturalmente, son *aglutininas experimentales* desarrolladas en conejos inmunizados y semejantes a las ya tan viejas conocidas por nosotros y que son la M y N. (Picado y Trejos. **Biología hematológica**. Universidad de Costa Rica, 1942. p. 283).
- E. El mismo Landsteiner, al describir el grupo Rh, hace resaltar que con el mismo procedimiento podrán ponerse en evidencia multitud de aglutinógenos *criptogénicos* que hay en el hombre.
- F. Incriminar al *subgrupo Rh* antes que a los subgrupos ya clásicos M y N no es otra cosa que buscarle tres pies al gato.

Su affmo. S y amigo,

C. Picado T.

INDICE ALFABETICO DE TITULOS*

A

- El agua de coco como medio de cultivo, 783*
Análisis sanitario de las aguas que se consumen en San José, 86
Anticuerpos experimentales en los vegetales, 216
Antipresura sanguínea y edad, 764
Aplicación del método de Herelle en Costa Rica, 70
Arboles acostados, 568
El arsénico, abono catalítico, 252
Atrofia de las flores consecutiva a la inyección de polen homólogo, 248
Auto-raquiterapia, ensayo sobre antígenos cefalorraquídeos, 766

B

- Las bacterias de los látex, 215*
Botánica: las bromeliáceas epífitas como medio biológico, 54
Botánica: sobre la nutrición en las bromeliáceas epífitas, 57

C

- El cariblanco, 18*
***Colletotrichum** de los cafetos y lesiones radiculares, 476*
Consideraciones preliminares sobre las precipitinas anti-glándulas endocrinas de suero humano en su conjunto, 613
Cuti-inmunidad antivaccinal endógena y exógena, 359

E

- Efectos de las inyecciones de suero homólogo en el crecimiento de animales jóvenes, 323*
Efectos de las inyecciones de suero homólogo en el tamaño y crecimiento de los animales, 340

* En el ordenamiento de los títulos no se ha tomado en cuenta el artículo inicial.

Una enfermedad de los frijoles (asociación bacteriana parasitaria de especies antagonistas en vida libre), 268

Una enfermedad del banano, 479

Ensayo de tratamiento de la tuberculosis pulmonar por "homopeptonas", 415

*Estudio experimental del veneno del **Lethocerus del pontel** (de Carlo) (hemíptero belastomídeo), 669*

Estudio sobre los anticuerpos leprosos, 154

Evolución de las precipitinas normales "anti-glándulas endocrinas" en relación con la edad y la especie animal, 577

F

Fermentación del café usando levaduras puras, 287

Fusariosis del café en Costa Rica, 456

G

Germinación brusca del polen en el extracto de óvulo homólogo, 250

Glucorregulación sanguínea y edad, 759

Grupos sanguíneos, 658

La guatusa, 23

H

La historia de los tórsalos bovinos, 61

Historia del gusano de la guayaba, 164

I

Influencia de los rayos X sobre la germinación de las semillas, 264

Influencia del tratamiento sérico homólogo sobre el determinismo sexual de la prole, 225

Informe presentado con respecto al análisis comparado de las aguas de Tres Ríos y Tiribí, 101

Inmunidad heteróloga de los animales inmunizados contra el veneno botrópico, 562

Inmunidad pasiva heteróloga. Antitoxinas bacterianas del suero antibotrópico, 453
Inmunoterapia no específica (tifoidea - neumonía), 435
Intentos de justificación ante una crítica, 793
Interpretación de nuestros dosajes de urea en la sangre, 158
Investigaciones sobre la especificidad de la relación tóxico-antitóxico (utilización en terapéutica vegetal), 274
Investigaciones sobre sustancias antitireotrópicas del suero sanguíneo en especial en pacientes con bocio, 749
Iso-sensibilizatrices "anti-timo" y "anti-testículo" del suero de conejo y de cobayo, 580

L

El león, 15

M

Mejoramiento del café en grano por medios biológicos, 535
Método nuevo y fácil para colorar bacilos de Koch, Hansen, etc., 132
Los murciélagos, 20

N

Nuestra microbiología doméstica, 186
Nuestro mineral de manganeso como abono catalítico, 225
Nueva reacción serológica contra el paludismo, 317
Nuevas técnicas de laboratorio, 125
Nuevo bacilo tífico, 608
Nuevo tratamiento de la viruela, 382

O

Observaciones sobre mimetismo recogidas en Costa Rica, 31

P

El pantano aéreo, 161
Particularidades sobre biología médica central americana, 291

Precipitinas anti-glándulas endocrinas en varios trastornos de las secreciones internas del hombre, 716

Precipitinas anti-glándulas endocrinas y longevidad en algunas especies de vertebrados, 616

Precipitinas anti-testiculares en el ganso, 666

Precipitinas anti-testiculares en el palomo, 663

Precipitinas naturales anti-tímicas y anti-gonádicas del suero de cobayo en relación con la evolución de las glándulas respectivas, 636

Precipitinas séricas antitiróideas en las personas con bocio, 620

Preservación específica de las glándulas endocrinas a las estimulinas hipofisarias por sus respectivas peptonas, 757

Primera contribución al conocimiento de las micosis en Costa Rica, 108

Proagglutininas del grupo hematológico ABo, 801

Un problema de crecimiento, 770

Propiedades antigénicas diferentes de los sueros de animales jóvenes y de los sueros de animales viejos, 320

El puma eyra, 28

R

Reacción de fijación practicada con el suero antibuey y la alexina de cerdo, 67

La repulsión, suprema ley, 684

Resumen sobre 20 años de investigación en el Laboratorio del Hospital de San Juan de Dios, 564

S

Sensibilizatrices "anti-glándulas endocrinas" de suero humano a diversas edades, 577

Serpientes venenosas existentes en Costa Rica, 482

Sinergia de los anticuerpos por "desviación jerárquica", 583

Sobre algunas actualidades endocrinológicas, 596

Sobre la acción a distancia de los hongos fitopatógenos, 254

*Sobre un nuevo habitat de los *Peripatus**, 53

T

Técnicas e interpretación de la reacción de Wassermann, 134

Temor real a un peligro hipotético, 807

El tepescuintle, 25

Títulos y trabajos científicos (1910-1933), 491

Tratamiento de la malaria con la cedrina, 361

Tratamiento del hipertiroidismo basado en un nuevo principio biológico, 780

Tratamiento diastásico del envenenamiento cobraico experimental, 305

U

Uso del látex en la pesca y como vermífugo, 307

V

Vacuna curativa no específica, 288

Vacuna sensibilizada contra viruela, 412

*Variaciones de moscas del género **Sarcophaga**, 708*

Y

El yodo cofermento del metabolismo de los azúcares en las plantas y animales, 336

La publicación de las Obras Completas fue aprobada por el Consejo Editorial de la Editorial Tecnológica de Costa Rica en su sesión N° 136.

La selección y recopilación del material incluido fue realizada por la Comisión Nacional para la Celebración del Centenario del Nacimiento del Dr. Clodomiro Picado Twilight, establecida por Decreto Ejecutivo N° 17180 P del 16 de setiembre de 1986.

Dirigió la edición: Mario Castillo M.

Edición técnica: Paulina Retana A.

Diseño de cubierta: Mario Cascante S.

Se terminó de imprimir en los talleres gráficos de LIL, S.A. en 1988.

La edición consta de dos mil ejemplares por volumen.

OBRAS COMPLETAS

VOLUMEN I.

Las bromeliáceas epífitas como medio biológico.

Pasteur y Merchánikoff.

El Museo Pasteur de Estrasburgo.

VOLUMEN II.

Vacunación contra la senectud precoz.

VOLUMEN III.

Serpientes venenosas de Costa Rica.

VOLUMEN IV.

Biología hematológica elemental comparada.

Investigaciones sobre histopatología tiroidea.

VOLUMEN V.

Trabajos experimentales publicados en revistas.

VOLUMEN VI.

Intervenciones del Dr. C. Picado T. en la prensa.

VOLUMEN VII.

Información biográfica, homenajes y publicaciones sobre el Dr. C. Picado T.



EDITORIAL TECNOLÓGICA DE COSTA RICA