

# *Inoculación de Cobayos con Material Necrótico de Tubérculos Pulmonares Resecados*

Por el Dr. J. Adán Cueva (\*)

Desde que iniciamos los estudios anatomo-patológicos de las piezas ressecadas en nuestro Sanatorio Nacional, pronto nos dimos cuenta de la frecuente negatividad en los cultivos sembrados con diluciones de sustancias necróticas, contenidos en nódulos tuberculosos pulmonares o raspados de pared de caverna, a pesar de que los frotis de estas mismas sustancias resultaban positivos a los métodos usuales baciloscópicos. Siendo el cobayo animal sensible y usado preferentemente en las investigaciones vitales del bacilo de Koch nos propusimos hacer una serie de inoculaciones en estos animales con sustancia necrótica de los focos pulmonares tuberculosos o sustancia obtenida al raspar la membrana piógena de una caverna.

La iniciación del trabajo consistió en inoculaciones intra peritoneales en las cuales se tuvo escaso éxito, luego nos dispusimos a ensayar otras vías, tales como intra-torácica, sub-cutánea de la región inguinal, ya que nunca nos fue posible poder practicarlos por la vía endovenosa.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los cobayos los seleccionábamos entre los más desarrollados y sanos de la madriguera, se les practicaba de inmediato prueba de tuberculina intradérmicas en el muslo izquierdo de la extremidad posterior, usando la dosis media de tuberculina, en una cantidad de 5 miligramos de la dilución usual. Todos los resultados fueron negativos a las 24-48-72 horas. Desde este momento el cobayo quedaba aislado en su jaula esterilizada previamente, para ser usado con una variación de tiempo al tener el espécimen adecuado.

Preferentemente buscábamos siempre las lesiones con sustancias caseificadas blanda o semiblanda que resultara fácil su dilución en agua destilada estéril para evitar la dificultad por obstrucciones de la aguja usada, asimismo en los casos de tuberculosis cavitada nos concretábamos a raspar con la hoja de un bisturí corriente las paredes de las cavernas de donde se obtenía sustancia muco-necrótica. Los especímenes al principio eran de 24 horas conservados en la refrigeradora, después optamos por usarlos en el mismo momento en que el cirujano los separaba. También antes de proceder a la inoculación, la sustancia se pesaba para conocer la can-

{\*} Depto. de Patología. Sanatorio Nacional de Tuberculosos. Tegucigalpa, D. C, Honduras, C. A.

tividad obtenida, la cual osciló entre 5 y hasta 20 miligramos. De estas sustancias rutinariamente hacíamos un frotis para coloración con Ziehl-Neelsen, el cual en casi la totalidad de los casos resultó positiva. También se hacían siembras en dos tubos de control de medio de Lowestein modificado que siempre era leído de las dos semanas en adelante con resultados regularmente negativos.

La sustancia necrótica obtenida se colocaba en un pequeño frasquito de vidrio, se le agregaban 2 cc. de agua destilada estéril de los cuales se inoculaba 1 cc. por cualesquiera de las vías antes mencionadas.

Inoculado así el cobayo desde ese momento se le preparaba su cuadro clínico donde se llevaba anotado la temperatura y el número de respiraciones por minuto, datos que se tomaban a la misma hora entre 10 y 11 a. m. la temperatura era tomada en el pliegue axilar, manteniendo el termómetro por un minuto. Siempre se aprovechaba esta oportunidad para exámenes exteriores mediante la palpación. Rutinariamente se les practicaba recuento globular y fórmula leucocitaria el día de la tuberculina, el día de la inoculación, el día del primer control, es decir la primera semana después de inoculado y el último recuento se hacía el día del sacrificio. Asimismo se llevaba anotado el peso desde el primer momento de su selección. El tiempo de observación internacionalmente fue muy variable, pues los sacrificábamos desde cuatro semanas hasta quince semanas; todo esto con el objeto de poder observar si el tiempo prolongado daba en ellos la aparición de tuberculosis.

Llegado el momento en que se consideraba oportuno su autopsia, los cobayos sistemáticamente eran pesados y se hacía la toma de su recuento globular y fórmula leucocitaria, para introducirlos en un frasco grande con tapón esmerilado en el cual se le colocaban algodones embebidos en éter sulfúrico y generalmente diez minutos después estaban sacrificados y se procedía a la evisceración.

Colocado el cobayo en una bandeja especial se hacía una minuciosa palpación en pliegues cutáneos y abdomen a fin de obtener algún dato con su exploración externa, luego practicábamos una incisión media de las cavidades abdominales Y torácicas, en un solo tiempo con tijera, a continuación visualización y exploración de ambas cavidades para luego iniciar la obtención de muestras viscerales para posteriores estudios histológicos.

1°—Comprimiendo el escroto entre los dedos ambos testículos eran accesibles a seccionar, lo cual se verificaba incluyendo epididimo y conducto.

2°—Apartando las vísceras abdominales hacia la derecha se lograba la visualización del riñón y suprarrenal izquierdos, los cuales se obtenían con una sección en un solo tiempo, con tijera curva.

3°—Continuando hacia arriba se visualiza perfectamente el bazo, el cual en un solo tiempo se corta con el hilio y luego tirándolo suavemente se obtiene con la pieza el páncreas, que se extiende desde el hilio esplénico hasta el píloro, corriendo paralelo a la curvatura mayor del estómago, con el cual guarda íntima relación.

4°—Luego procedíamos a la liberación del hígado, principian- do por desprender los ligamentos hepato diafragmáticos; después

se incide el ligamento gastro hepático y por último el hepato-renal derecho, obteniéndose la viscera con facilidad, inclusive vesícula biliar.

5°—Liberado el hígado, queda visible y accesible el riñón derecho, el cual con tijera curva, es fácil liberarlo con la glándula suprarrenal respectiva.

6°—Se procedía a la exploración de intestino y mesenterio, tomando muestras de los mismos cuando existía algo anormal.

7°—La cavidad torácica era vaciada en un solo tiempo, extrayéndose pulmones, corazón y demás órganos del mediastino en conjunto y cuando se encontraban adherencias pleuro parietales, como resultó frecuente en los de inoculación intratorácica, éstas eran rotas con facilidad con el dedo índice.

El total de vísceras para estudio ascendía a catorce, las cuales después de lavadas en agua corriente se fijaban en formol al 10%. Para el estudio histológico se siguieron las normas habituales, incindiendo las piezas en sus diámetros mayores, tomando una muestra de cada viscera para luego, después de inclusión y corte, colorearlas por la técnica universal de Hematoxilina y Eosina, fueron examinadas una a una en el microscopio.

### RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los especímenes usados consistieron en número de 44, divididos así: 19 Segmentectomías, 17 Lobectomías, 7 Nódulos aprovechables y 1 Sub-segmentectomía. Los pacientes a quienes pertenecían los especímenes habían sido tratados médicamente en el Sanatorio Nacional, en un mínimo de 7 meses, hasta un máximo de 68 meses. La quimioterapia usada el 62%, fue tratado con Dihidro-estreptomina y Hidrazina del ácido Isonicotínico. El 20%, tratados con Dihidro-estreptomina, Sal sódica del ácido paramino salicílico **Pas** e Hidrazida del ácido Isonicotínico **HAIN** y 17.2% Tratados con Dihidroestreptomina y Sal mólica del ácido paranimosalicílico PAS.

El promedio de sustancia caseificada obtenida en estas muestras fue variable desde 5 hasta 20 miligramos con un promedio de .11 miligramos que se disolvían en 2 cc. de agua destilada estéril. Los frotis de esta sustancia fueron positivos en un 66%, y cultivables en un 6%. De los cobayos inoculados tuvimos el 11% de tuberculizaciones, de los cuales 2 inoculados por la vía intraperitoneal, 2 por la vía inguinal y 1 por la vía intra-torácica. El tratamiento recibido por los pacientes a quienes pertenecían los especímenes, 1 tratado con Dihidro y Pas, 1 tratado con Dihidro Pas y Hain y 3 tratados con Dihidro y Hain. Se verificó muerte espontánea de los cobayos en 5%, 4 de los cobayos bajaron de peso, sólo 2 presentaron Leucocitosis, 2 Eosinofilia, 1 Basofilia, 2 Neutrofilia. El resto de cobayos en los cuales no encontramos lesiones tuberculosas positivas pudimos observar que el 62%, tuvo aumento de peso contra 37%, con baja de peso, presentaron leucocitosis 22%. Lig. Leucocitosis 16%; Eosinofilia 16%; Lig. Eosinofilia 8%. Los demás porcentajes tienen poco valor en este campo de experimentación y están dados por separado en cuadros respectivos que acompañan a este tra-

CUADRO No. 1a INTRA-ABDOMINAL

No. Cobayo	Tuber. Pre-Inoc.	Fecha Inoculación	Fecha Sacrificio	Total Semana	Cantidad Sustancia	Resultado Frotis	Resultado Cultivo
1	Neg.	5-I-55	8-II-55	4	8 mlgr.	G-II	Neg.
2	Neg.	20-I-55	22-II-55	4	6 mlgr.	Neg.	Neg.
3	Neg.	2-IX-55	2-III-55	4	5 mlgr.	G-I	Neg.
4	Neg.	9-II-55	14-III-55	4	12 mlgr.	Neg.	Neg.
5	Neg.	23-II-55	1-IV-55	4	12 mlgr.	G-II	Neg.
6	Neg.	9-III-55	10-IV-55	4	12 mlgr.	G-II	Neg.
7 (a)	Neg.	20-IV-55	29-IV-55	1	12 mlgr.	Neg.	Neg.
7 (a)	Neg.	20-IV-55	8-VI-55	6	12 mlgr.	Neg.	Neg.
7 (a)	Neg.	20-IV-55	27-VII-55	13	12 mlgr.	Neg.	Neg.
8	Neg.	27-VI-55	27-VII-55	12	12 mlgr.	G-II	Neg.
10	Neg.	16-VI-55	27-VII-55	10	10 mlgr.	Neg.	Neg.
11	Neg.	1-VI-55	1-IX-55	12	10 mlgr.	Neg.	Neg.
12	Neg.	8-VI-55	1-IX-55	11	20 mlgr.	G-IV	Neg.
51	Neg.	28-IX-56	6-XI-56	5	15 mlgr.	G-III	Neg.
60	Neg.	31-X-56	31-I-57	12	20 mlgr.	G-VI	Positivo

CUADRO No. 1b INTRATORACICOS

No. Cobayo	Tuberculina Pre-inocul.	Fecha Inoculación	Fecha Sacrificio	Total Semana	Cantidad Sustancia	Resultado Frotis	Resultado Cultivo
16	Neg.	28-X-55	16-I-56	10 Mto.	- mlgr.	G-VIII	Positivo
20	Neg.	30-I-56	14-V-56	14 Sac.	8 mlgr.	Neg.	Neg.
23	Neg.	23-II-56	15-V-56	11	6 mlgr.	G-III	Neg.
25	Neg.	9-IV-56	12-VI-56	8	5 mlgr.	G-III	Neg.
28	Neg.	27-IV-56	10-VIII-56	14	25 mlgr.	Neg.	Neg.
30	Neg.	16-V-56	10-VIII-56	11	10 mlgr.	G-V	Nº
40	Neg.	7-VIII-56	9-X-56	8	7 mlgr.	G-II	Neg.
42	Neg.	8-VIII-56	9-X-56	8	14 mlgr.	G-IX	Nº
44	Neg.	14-VIII-56	23-X-56	9	10 mlgr.	G-III	Nº
47	Neg.	21-VIII-56	21-X-56	8	10 mlgr.	G-IV	Nº
49	Neg.	29-VIII-56	6-XI-56	9	10 mlgr.	G-II	Nº
50	Neg.	26-IX-56	6-XI-56	5	15 mlgr.	G-III	Contam.
56	Neg.	9-X-56	8-XII-56	7	20 mlgr.	Neg.	Neg.
57	Neg.	23-X-56	29-I-57	13	5 mlgr.	Neg.	Neg.
58	Neg.	23-X-56	29-I-57	13	7 mlgr.	Neg.	Neg.

CUADRO No. 1 C INGUINALES

No. Cobayo	Tuberc. Pre-Inoc.	Fecha Inoculación	Fecha Sacrificio	Total Semana	Cantidad Sustancia	Resultado Frotis	Resultado Cultivo	Vía Inoculación
18	Neg.	24-XI-55	20-II-56	12 mto.	G-II	G-II	Neg.	Inguinal
19	Neg.	22-XII-55	10-IV-56	14 sucr.	G-III	G-III	Neg.	Inguinal
21	Neg.	30-I-56	14-V-56	14	Neg.	Neg.	Neg.	Inguinal
22	Neg.	22-II-56	16-V-56	11	G-III	G-III	Neg.	Inguinal
24	Neg.	9-IV-56	12-VI-56	8	G-III	G-III	Neg.	Inguinal
27	Neg.	27-IV-56	10-VIII-56	14	Neg.	Neg.	Neg.	Inguinal
29	Neg.	15-V-56	10-VIII-56	11	G-IV	G-IV	Neg.	Inguinal
39	Neg.	7-VIII-56	9-X-56	8	G-II	G-II	Neg.	Inguinal
41	Neg.	8-VIII-56	9-X-56	8	G-IX	G-IX	Neg.	Inguinal
43	Neg.	14-VIII-56	23-X-56	9	G-III	G-III	Neg.	Inguinal
45	Neg.	21-VIII-56	23-X-56	7	G-IV	G-IV	Neg.	Inguinal
48	Neg.	29-VIII-56	16-XI-56	10	G-II	G-II	Neg.	Inguinal
52	Neg.	26-IX-56	3-XII-56	9	G-III	G-III	Neg.	Inguinal
53	Neg.	2-X-56	3-XII-56	8	Neg.	Neg.	Neg.	Inguinal
59	Neg.	31-X-56	31-I-57	12	G-IV	G-IV	P. 50 Col.	Inguinal

## COBAYOS TESTIGOS

13	Neg.	30-VI-55	10-VIII-55	5	Espuito Hom. Cultivo	G-V. Res	P. 50 Col.	Intraperitoneal
14	Neg.	30-VI-55	10-VIII-55	5		Bac. AcR	P. 50 Col.	Intraperitoneal
54	Neg.	2-X-56	3-XII-56	8	Espuito Hom	G-VIII	P. 50 Col.	Intraperitoneal

CUADRO No. 2

No. Cobayo	Promed. Temp.	Promed. Respir.	Peso día Inoculación	Peso día Sacrificio	Recuento	Fórmulas	Diag. Macros.
1	39°	115	1000 gr.	920 gr.	Normal	Eosinofilia	Sin particul.
2	39°	125	972 gr.	885 gr.	Leucocitosis	Eosinofilia	Sin particul.
3	39°	120	830 gr.	780 gr.	Lig. Leuc.	Eosinofilia	Sin particul.
4	39°	120	890 gr.	782 gr.	Leucocitosis	Eosinofilia	Gangl. Mes.
5	39.4	120	755 gr.	902 gr.	Leucocitosis	Eosinofilia	Sin particul.
6	39°	115	728 gr.	760 gr.	Leucocitosis	Eosinofilia	Sin particul.
7 (a)	39°	100	860 gr.	802 gr.	Normal	Eosinofilia	Sin particul.
7 (b)	38.5	100	901 gr.	901 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
7 (c)	38.5	100	883 gr.	872 gr.	Normal	Eosinofilia	Sin particul.
9	38.5	8.06	900 gr.	900 gr.	Leucocitosis	Lig. Eosino.	Sin particul.
10	38.5	95	780 gr.	800 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
11	38.5	105	831 gr.	880 gr.	Normal	Eosinofilia	Sin particul.
12	38.5	100	830 gr.	875 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
13	39.5	100	587 gr.	530 gr.	Leucopenia	Lig. Neutrof.	Lesiones Nod.
14	39.5	100	670 gr.	620 gr.	Normal	Lig. Neutrof.	Lesiones Nod.
16	39.3	105	652 gr.	570 gr.	Leucocitosis	Lig. Neutrof.	Lesiones Nod.
18	39°	100	573 gr.	430 gr.	Normal	Basofilia	Canglio
19	39.7	100	600 gr.	785 gr.	Normal	Neutrofilia	Nod. Inoc.
20	39°	100	640 gr.	720 gr.	Leucocitosis	Neutrofilia	Sin particul.
21	39°	100	680 gr.	670 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
22	39°	100	690 gr.	740 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
23	39°	100	705 gr.	780 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
24	38.7	95	785 gr.	755 gr.	Lig. anemia	Normal	Sin particul.
25	38.7	102	800 gr.	760 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
27	39°	100	830 gr.	665 gr.	Lig. Leucoc.	Neutrofilia	Sin particul.
28	39°	100	765 gr.	637 gr.	Lig. Leucoc.	Normal	Sin particul.
29	39°	100	686 gr.	700 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
30	39°	100	682 gr.	692 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
39	39°	95	577 gr.	630 gr.	Normal	Normal	Sin particul.
40	39°	100	725 gr.	585 gr.	Normal	Basofilia	Sin particul.

41	39°	95	519 gr.	540 gr.	Lig. Leucoc.	Lig. Neutrof.	Sin particul.	Neg. T.B.C.
42	39°	95	500 gr.	510 gr.	Lig. Leucoc.	Linfocitosis	Sin particul.	Neg. T.B.C.
43	39°	95	587 gr.	590 gr.	Normal	Lig. Eosinof.	Sin particul.	Neg. T.B.C.
44	38.5	95	510 gr.	520 gr.	Lig. Leucoc.	Eosinofilia	Sin particul.	Neg. T.B.C.
45	38.5	95	630 gr.	700 gr.	Lig. Leucoc.	Lig. Neutrof	Sin particul.	Neg. T.B.C.
47	38.5	100	600 gr.	625 gr.	Normal	Eosinofilia	Sin particul.	Neg. T.B.C.
48	39.	100	515 gr.	600 gr.	Leucocitosis	Linfocitosis	Sin particul.	Neg. T.B.C.
49	39°	100	625 gr.	520 gr.	Leucocitosis	Eosinofilia	Sin particul.	Neg. T.B.C.
50	38.5	95	600 gr.	520 gr.	Normal	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.
51	39.	90	570 gr.	585 gr.	Normal	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.
52	38.5	95	520 gr.	560 gr.	Leucocitosis	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.
54	39°	105	420 gr.	400 gr.	Leucocitosis	Linfocitosis	Les. Nodulares	Neg. T.B.C.
53	39°	100	525 gr.	520 gr.	Normal	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.
56	39°	95	525 gr.	517 gr.	Lig. Anemia	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.
57	38.5	90	490 gr.	530 gr.	Normal	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.
58	38.5	100	570 gr.	590 gr.	Normal	Lig. Eosino.	Sin particul.	Neg. T.B.C.
59	38.5	100	425 gr.	550 gr.	Lig. Leucoc.	Lig. Eosino.	Sin particul.	Neg. T.B.C.
60	38.5	90	405 gr.	560 gr.	Normal	Normal	Sin particul.	Neg. T.B.C.

CUADRO No. 3

No. Ficha	Trat. Med.	Señal. Nat.	Trat. Quirúrgica	Sitio	Lesión escogida	Diag. Microscópico
52415	Dih-Pas	34 meses	Lobectomía y Seg.	Sup. Med. e Inf. Der	Diag. Microscópico	T.B.C. Caseificanda
52395	Dih-Pas-Hain.	25 meses	Sub-Segmentect.	Sup. Izq.	Nod. Caseific.	T.B.C. Fibrocáscosa
51309	Dih-Pas-Hain	25 meses	Segmentect. Apical	Post. Sup. Izq.	Nod. Caseific.	T.B.C. Caseificanda
53461	Dih-Pas	19 meses	Segmentect. Apical	Post. Sup. Izq.	Nod. Caseific.	T.B.C. Caseificanda
50184	Dih-Pas	68 meses	Segmentect. Apical	Post. Izq.	Nod. Fibrocáscosa.	T.B.C. Caseificanda
54915	Dih-Pas	12 meses	Lobectomía y Nod.	Sup. Izq. Inf. Izq.	Nod. Reband.	T.B.C. Caseificanda
51289	Dih-Pas-Hain	45 meses	Excisión de Nod.	Sup. Izq. Post. BndDer	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
53489	Dih-Pas	19 meses	Segmentect. Apical	Inf. Der. Post. BndDer	Nódulo Caseific.	T.B.C. Reband Cav.
34826	Dih-Hain	16 meses	Lobectomía y Seg.	Post. Izq.	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
53440	Dih-Pas-Hain	36 meses	Lobectomía y Seg.	Sup. Der.	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Fibrocáscosa
53794	Dih-Hain	36 meses	Lobectomía y Seg.	Sup. Der.	Nódulo Caseific.	T.B.C. Caseificanda
53419	Dih-Hain	16 meses	Lobectomía	Inf. Der.	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Fibrocáscosa
551739	Dih-Hain	9 meses	Segmentect. Apical	Sup. Izq.	Caverna	T.B.C. Cavitada
1916	Dih-Hain	8 meses	Lobectomía y Seg.	Sup. Der. Inf. Izq.	Pequena caverna	T.B.C. Caseificanda
591867	Dih-Pas-Hain	10 meses	Segmentect. Apical	Sup. Der. Inf. Der.	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
1464	Dih-Hain	8 meses	Segmentect. Apical	Post. Sup.	Varios Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
551907	Dih-Pas-Hain	6 meses	Segmentect. Basal	Post. Post. Izq.	Varios Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
551374	Dih-Hain	7 meses	Lobectomía	Inf. Izq.	Dos Nod. Caseific.	T.B.C. Caseificanda
551952	Dih-Hain	8 meses	Lobectomía	Sup. Der.	Pared de caverna.	T.B.C. Caseificanda
562127	Dih-Hain	8 meses	Lobectomía	Sup. Der.	Nod. Caseificados	T.B.C. Caseificanda
562194	Dih-Hain	19 meses	Lobectomía	Sup. Izq.	Nod. Caseificados	T.B.C. Caseificanda
552000	Dih-Hain	25 meses	Lobectomía	Sup. Der.	Dos. Nod. Caseific.	T.B.C. Fibrocáscosa
551737	Dih-Hain	16 meses	Segmentectomía	Sup. Izq. Inf. Izq.	Nod. Caseificados	T.B.C. Fibrocáscosa
562114	Dih-Hain	15 meses	Lobectomía y Seg.	Post. Sup. Der.	Nod. Caseificados	T.B.C. Caseificanda
551888	Sn. Trat.	19 meses	Segmentect. Apical	Sup. Izq.	Pared de caverna	T.B.C. Rebl. Cavít
562168	Dih-Hain	13 meses	Lobectomía	Sup. Izq.	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
562140	Dih-Hain	19 meses	Segmentectomía	Sup. Izq. Inf. Izq.	Dos Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
562111	Dih-Hain	9 meses	Lobectomía	Sup. Izq.	Varios Nod. Caseif.	T.B.C. Caseificanda
562191	Dih-Hain	0 meses	Segmentectomía	Explantáneo	Varios Nod. Caseif.	G-VIII.
50223	Dih-Hain	60 meses	Esputo V.	Explantáneo	Mucopurulento	G-V.
551708	Dih-Hain	16 meses	Cultivo	Lowestein	Más 50 col.	Bac. Acido Resist.

bajo. En cuanto se refiere a los hallazgos macro y microscópicos podemos anotar que en algunos de los casos fue posible distinguir macroscópicamente algunas lesiones puntilladas o nodulares que histológicamente mostraron el cuadro de la tuberculosis proliferativa no observando formas caseificadas y los órganos que más datos nos aportaron fueron el hígado que en muchos cobayos presentó degeneración grasa peri-lobulillar a veces masiva, a veces discreta este fenómeno lo encontramos aun sin lesiones tuberculosas en otros sitios. En el pulmón fue frecuente observar, edema del endotelio y conglomerados histiolinfocitarios alrededor de las paredes vasculares; muchos bronquios tenían manifiesta hiperplasia e hipertrofia en el epitelio de la mucosa, así como infiltrados histiolinfocitarios peribronquiales y zonas congestivas y a veces atelectásicas. Estos hallazgos fueron comparados con estudios hechos en cobayos normales, es decir, sin ninguna inoculación previa. Analizados los resultados clínicos y patológicos de los animales sometidos a la experimentación, no queda duda de que los bacilos tuberculosos tratados con los actuales métodos bacteriostáticos sufren una atenuación marcada ya que como se puede ver sólo 5 cobayos presentaron tuberculosis; de éstos, 1 sólo desarrolló nódulos ligeramente necróticos en el sitio de la inoculación. Por otro lado, las lesiones encontradas en todos los cobayos tuberculizados fue mínima comparada con la tuberculosis que desarrollaron los cobayos testigos, en los cuales se hizo la prueba con bacilos vírgenes a tratamiento, con bacilos resistentes a la quimioterapia y con bacilos cultivados.

Llama la atención dentro de los resultados del experimento, que muchos cobayos no presentaron lesiones tuberculosas, pero en cambio sí desarrollaron cuadros de leucocitosis y eosinofilia, predominantemente después de la primera semana de inoculados, así como lesiones histológicas en hígado y pulmón consistentes en ligera infiltración grasa y concurrencia celular perivascular respectivamente. Nosotros interpretamos estos fenómenos así: los primeros leucocitosis y eosinofilia como signos de defensa durante el cual los bacilos eran nulificados y los segundos hepato pulmonares como fenómenos desarrollados por toxinas de la sustancia necrótica inoculada y bacilos atenuados.

Medler (7) encontró que los gérmenes de la sustancia de lesiones cerradas usualmente no crecen y no producen la enfermedad en los cobayos y creyó que se puede pensar tentativamente en que estos organismos están muertos, pero que sin embargo hay pruebas de pacientes que han recuperado clínicamente y con baciloscopia negativa, observándose la recurrencia de la enfermedad años después. El hallazgo de bacilos en alto porcentaje en cavidades llenas y lesiones que el bacilo pueda tener recurrencia. Aparentemente, el bacilo puede permanecer vivo dentro las lesiones necróticas por años y su inhabilidad para crecer no indica necesariamente que están muertos. La dificultad de demostrar a veces la presencia de bacilos en algunas lesiones, sugiere que pueda ocurrir la destrucción por lisis. Otras veces, algunos bacilos puedan quedar como residuos no atacados por la lisis y proliferar después nuevamente pero que a veces los cambios que se operan en los procesos necróticos dejan

a] bacilo su capacidad para crecer rápidamente, de allí que cultivos logrados con raspado de caverna y necrosis nodulares no resultan patógenos a veces para el cobayo, pero lo son para el hombre en algunas ocasiones.

Creo que todos los patólogos que a diario observamos nódulos pulmonares, más de alguna vez hemos encontrado nódulos con su cápsula rota y al par procesos más recientes, no hay duda, que cuanto más largo resulta la permanencia de los bacilos en nódulos cerrados baja indiscutiblemente la virulencia de los mismos. Así se ha comprobado en embriones artificiales. Los trasplantes numerosos a través de muchos años conduce a la atenuación del germen, y una prueba de ellos es el B.C.G. Desde luego, queda mucho por conocer mejor la capacidad patogénica de los bacilos encapsulados, ya que Romer dio por sentado que la T.B.C. se producía en animales aun cuando la dosis sea pequeña y el germen poco virulento; sin embargo, experiencias semejantes a las que presento, nos prueban que a pesar de tener baciloscopías positivas, las inoculaciones no siempre prenden. Algunas experiencias han dado ya a conocer que las viejas cavidades crónicas no constituyen fuentes importantes de infección. La verdad es, como asegura Boyd, que la tuberculosis tiene infinitas variedades y que no son sino el resultado de la interacción de factores de destrucción y reparación. En el ser humano la tendencia reparativa suele superar al proceso destructivo. En la actualidad, desde luego, hay que destacar que a estos factores debe agregarse la valiosa quimioantibioterapia con que se cuenta; sin embargo, Kaida (6) cree, después de sus experiencias con cultivos, que la proliferación del bacilo está en relación con la naturaleza del foco y no con la quimioterapia empleada. F. Trendelenburg (4) en 43 inoculaciones encuentra atenuación de la virulencia en pacientes tratados con Hain, concluyendo que la estadística de varios años sobre la recaída de varios casos, podrá dar una información sobre la posibilidad de la virulencia en los hombres. Lucchesi (5), en inoculaciones con cepa Isoniasida resistente, hace notar que el grado de virulencia en la cepa empleada es factor determinante en la evolución de las lesiones. Que la reinfección homologa no produce ningún empeoramiento, aunque da lugar a reacciones perifocales. Volt-mann (2), en un grupo de 51 cobayos, en los que introdujo fragmentos de tejido tuberculoso de cobayos previamente tuberculizados Y con quimioterapia, pudo observar, tomando como base la duración que se produce la muerte, una diferencia de veintidós días, que la atribuye a la atenuación condicionada por el tratamiento de Hain, y por último, Oriol Anguera (3) probó que enfermos con baciloscopía positiva resultaban negativas las siembras e inoculación con pacientes tratados con la quimioterapia.

' , Las reacciones de la tuberculina en cobayos ha sido también motivo de múltiples observaciones y nosotros dejamos nuestra opinión para otro capítulo que pueda surgir de la investigación.

Nosotros hemos encontrado que el 11% de los 45 cobayos inoculados fueron víctimas de la tuberculosis; sin embargo, las lesiones no alcanzaron gran desarrollo como sucedió en los cobayos testigos inoculados con bacilos de esputo de pacientes vírgenes a to-

do tratamiento o con bacilos resistentes a toda terapia moderna. Algunos de los positivos de nuestra experiencia apenas presentaban primordialmente lesiones ganglionares muy escasas, que hacen aceptar la atenuación del bacilo. En uno de ellos la lesión quedó localizada en el sitio de la inoculación sin la virulencia suficiente para generalizarse, y en otro, apenas dos folículos tuberculosos en un ganglio nos sirvió para considerarlo positivo. En general, las lesiones de este 11% fueron de carácter proliferativo, sin las formas exudativas necrotisantes que se observan en las inoculaciones hechas con bacilos virulentos testigos, por lo que creemos, además de los factores defensivos del organismo humano que tiende a neutralizar su virulencia, juega papel importante en la actualidad el conjunto de sustancias bacteriostáticas con que contamos.

También debemos hacer alusión a algunas características morfológicas del bacilo de Koch, que nos han parecido muy llamativas, ante los bacilos encapsulados y tratados con antibióticos y quimioterapia, los cultivados y los gérmenes vírgenes de toda terapéutica. Así también, creemos hay diferencias en cuanto al grado de acidofilia, factores que deben investigarse.

Es probable, pues, que los antibióticos y quimioterapia actual, contribuyen poderosamente en la atenuación de los gérmenes y prueba de ello, además, es la posibilidad quirúrgica desarrollada con buen éxito después del advenimiento de la nueva terapéutica.

## 2 EXPERIMENTOS ILUSTRATIVOS

*Nombre: Cobayo. N? 4. Paciente: A. R. C. de C, N? 77 L. B.—Dr. J. A. Cueva.*

*Inoculado el 9 de febrero de 1955 y sacrificado si 14 de marzo de 1955 (4 semanas). La inoculación se verifica intraperitoneal, con emulsión de sustancia caseosa de un nódulo duro y fibroso con centro reblandecino de 0.5 cms. y de otros dos nódulos más o menos del mismo tamaño (semilla de limón), los cuales contienen una sustancia filante blanca amarillenta, completándose en total 12 mlg., se disuelven en 2 ce. de agua destilada estéril y se inocula 1 ce. de la dilución. Los frotis hechos de estas sustancias resultaron negativos. Los cortes histológicos: con resultado con T.B.C. caseificada en vértice. Tuberculina: verificada 6 días antes de la inoculación, fue negativo a las 24-48-72 horas; cantidad, 1 décima de la dosis media 8 mlgr., intracutánea pierna izquierda. Evolución, Temperatura: Osciló entre 39 y 39.5", observándose una alza de 40" al final de la primera semana, para quedar constante en 39°. Respiración: osciló entre 115 y 125 por minuto durante las cuatro semanas, con un promedio de 120. Peso: 7-II-55, 900 grms. (día de tuberculina); 9-11-55, 890 grms. (día de inoculación); 19-11-55, 790 grms. (control: 12-111-55-730 grms); 14-111-55-782 grms. (día sacrificado); promedio de peso, 818 grms.*

*CURSO: Durante las cuatro semanas no se observaron manifestaciones clínicas apreciables.*

Exámenes de Laboratorio:

9-II-55 (día de inoculación)

Glóbulos Rojos ..... 4.650.000

Glóbulos Blancos ..... 8.000

Hemoglobina .....	90%	14 grms.
Índice .....		0.9
P. Neutrófilos.....	72%	■
P. Basófilos.....		0%
P. Eosinófilos.....		4%
Monocitos .....	0%	'
Linfocitos.....	24%	■
19-11-55 (días de control)		'
Glóbulos Rojos.....	4.600.000	.
Glóbulos Blancos .....		8.950
Hemoglobina .....	90%	15 grms.
índice .....		0.9
P. Neutrófilos .....		66%
P. Basófilos .....		0%
P. Eosinófilos .....	8%	74%
Monocitos .....		2%
Linfocitos .....		24%
2-11-55 (día de sacrificio)		..
Glóbulos Rojos.....	3.610.000	■, ;
Glóbulos Blancos .....		10.000
Hemoglobina .....	72%	12 grms.
índice .....		^ /
P. Neutrófilos.....		42%
P. Basófilos.....		0%
P. Eosinófilos .....	8%	8%
Monocitos .....		0%
Linfocitos .....	50%	' ■

PATOLOGÍA: " " " ■ " ' . " " .. ' "

Macroscopía: Después de constatar su peso, 782 grms. y tomar su recuento globular respectivo, es sacrificado en una atmósfera intensa de éter, examinando a continuación las regiones inguinales axilares y cuello en busca de nodulaciones, observándose todo su exterior normal. Se inciden por su parte media las cavidades peritoneal y torácica, no encontrándose nada de particular.

Se toman las vísceras completas de testículos, riñones, páncreas, bazo, hígado, pulmones, corazón y un ganglio peritoneal, fijándose los especímenes en formol al 10%.

Microscopía:

Testículos: Sin particularidades.

Riñones: Sin particularidades.

Suprarrenales: Sin particularidades.

Bazo: Sin particularidades.

Páncreas: Sin particularidades.

Hígado: Sin particularidades.

Pulmones: Pequeñas zonas de atelectasia e infiltrados histiolinfocitarios perivasculares y peri bronquiales.

Corazón: Sin particularidades.

Ganglio Peritoneal: Tuberculosis clasificada en zona central.

RESUMEN: Positivo por T.B.C.

Nombre: Cobayo. W 9. Paciente: I. A. T., N 85.—L.B.—Dr. J. A. Cueva.

Inoculado el 27 de abril de 1955 y sacrificado el 27 de julio de 1955 (12 semanas). La inoculación se verifica intraperitoneal, con emulsión de sustancia caseosa bastante blanda, unos 12 mlgrs., obtenidos de dos nódulos tamaño grande de maíz; la sustancia es disuelta en 2 cc. y la inoculación es de Ice. Los Frotis: Hechos de la sustancia caseosa- y de la dilución a inocular, resultaron G. II. El cultivo: N° 2088, sembrado con las mismas sustancias, resultó negativo. Los Cortes Histológicos: Con diagnóstico T.B.C. fibrocaseosa. Tuberculina verificada unos días antes (12 días), resultó negativa a las 24-48-72 horas; cantidad usada, 1 décima de la dosis media intracutánea, pierna izquierda. Evolución: Temperatura, tomada en región axilar entre 10 y 11 a. m., osciló entre 38° y 39°; 38.5" temperatura promedio. La respiración entre 90 y 110; promedio, 100. Peso: 15-55-800 grms. (día tuberculina), 27-IV-55-88 grms. (día de inoculación), 27-55-835 grms., (control) 23-VI-55-851 grms. (control) 27-VII-55-900 grms. (sacrificio). CURSO: Durante las doce semanas, el cobayo no tuvo ninguna manifestación clínica apreciable. Exámenes de Laboratorio 27-IV-55 (día de inoculación)

Glóbulos Rojos ... ..	4.610.000		
Glóbulos Blancos .....	8,400		
Hemoglobina .....	13 grms.	90%	
índice .....	1.0		
P. Neutrófilos .....	62%		
P. Basófilos .....	0%		
P. Eosinófilos .....	6%	78%	
Monocitos .....	2%		
Linfocitos .....	20%	22%	
13-VI-55 (día control)			
Glóbulos Rojos .....	4.410.000		
Glóbulos Blancos .....	8.400		
Hemoglobina .....	12 grms.	72%	
índice .....	1		
P. Neutrófilos .....	56%		
P. Basófilos .....	0%		
P. Eosinófilos .....	6%	52%	
Monocitos .....	0%		
Linfocitos .....	48%	48%	
27-VII-55 (día sacrificio)			
Glóbulos Rojos .....	4.010.000		
Glóbulos Blancos ... -	12.250		
Hemoglobina .....	13 grms.	78%	

Índice .....	0.9	
P. Neutrófilos .....	40%	
P. Basófilos .....	0%	
P. Eosinófilos .....	18%	58%
Monocitos .....	0%	
Linfocitos .....	42%	42%

### **PATOLOGÍA:**

**Macroscopía:** Después de constatar su peso de 900 grms., tomar el recuento globular respectivo y sacrificado en una atmósfera intensa de éter, se examina los pliegues axilares e inguinales y cuello, no encontrando nada de particular, siendo todo su exterior de aspecto normal. Se incide por su parte media cavidad peritoneal y torácica, no encontrando nada que llame la atención. Se toman las vísceras siguientes: testículos, riñones, bazo, páncreas, hígado, pulmones, corazón y se fijan el **formal** al 10%.

Microscopía:

Testículos: Sin particularidades.

Riñones: Sin particularidades.

Suprarrenales: Sin particularidades.

Bazo: Sin particularidades.

Páncreas: Sin particularidades.

Hígado: Sin particularidades.

Pulmones: Escasos infiltrados perisvaculares y peribrónquicos y pequeñas zonas congestivas.

Corazón: Sin particularidades.

RESUMEN: Negativo por T.B.C.

### **RESUMEN Y CONCLUSIONES**

Se presenta una experiencia con 45 cobayos, inoculados por tres diferentes vías con sustancias necróticas de focos tuberculosos de pacientes tratados en el Sanatorio Nacional, durante un promedio de 19 meses, con Dihidroestreptomina, PAS y HAIN, en combinaciones variables.

Las sustancias usadas en el 66% fueron baciloscópicamente positivas, siguiendo el método de Ziehl-Neelsen.

La tuberculización se logró en el 11%, pero sin la injuria habitual del bacilo virulento.

Aun siendo el cobayo animal de receptividad habitual, hay que medir la relatividad con el organismo humano.

En estos animales se puede considerar la virulencia atenuada de los gérmenes usados,

Se demuestra una vez más la vitalidad de los bacilos que se albergan dentro del organismo, aun en lesiones bien encapsuladas.

Estas, como otras muchas experiencias, dan un margen de seguridad, para atribuir a los factores bacteriostáticos, antibióticos y quimioterapia, su contribución en la evidente atenuación del bacilo tuberculoso.

Debe ser motivo de estudio la actual patogenidad de estos organismos ante los nuevos métodos de tratamiento.

La microbiología del bacilo tuberculoso también debe investigarse más.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1—Kolmer A. John.—Spaulding H. Earle.—Robinson W. Howard "Métodos de Laboratorio" pág. 19-34, 382, 409-5\* Edición 1955 Editorial Interamericana-México-D. F.
- 2—Velman G-Bom-Alemania "Investigaciones experimentales en animales sobre atenuación de la virulencia de las bacterias tuberculosas con la quimioterapia". IV Internationaler Kongress, Fur Etkrankanger der toraxorgane. Pag. 93, August. 1956. Gerontherstellung. H. G. Rathgens Lubeck. Alemania.
- 3—Anguera J. O. Barcelona, España. "Las formas de tuberculosis bronco pulmonar residual con baciloscopia positiva e inoculación negativa". IV Internationaler Kongress, Fur Erkrankung der Toraxorgane. Pág. 95, August. 1956. Gerontherstellung. H. G. Rahtgens. Lubeck. Alemania.
- 4—Trendelenburg F. Davos. Schweiz. "Cursos clínicos de la tuberculosis y problemas terapéuticos en ausencia de bacterias tuberculosas isoniacida resistentes y de virulencia experi mentalmente atenuada". IV Internationaler Kongress, Fur Erkrankung der Toraxorgane, Pág. 108. August. 1956. Gerontherstellung. H. G. Rahtgens. Lubeck. Alemania.
- 5—Parra C. Lucchesi M. Roma. Italia. "Valor patógeno de los bacilos de Koch. resistentes a la isoniacida, y de resistencia atenuada". IV Internationaler. Kongress Fur Erkrankung der Toraxorgane. Pág. 110. August. 1956, Gerontherstellung. H. G. Rahtgens. Lubeck. Alemania.
- 6—Ketsumi Kaida. Fukuoka. Japón. "El estado de los bacilos tuberculosos en los focos de pulmón resecaado". IV Internationaler Kongress, Fur Erkrankung der toraxorgane. Pág. 155. August 1956. Gerontherstellung. H. G. Rahtgens. Lubeck. Alemania.
- 7—Medlar, E. M. New York. "The behavior of Pulmonary Tuberculous Lesions". The Am. Rev. of Tuberculosis and Pulmonary disease. March. 1955.
- 8—Gray. D. F. and Jennings P. A." Allergy in experimental mouse Tuberculosis". The Am. Rev. of Tuberculosis and Pulmonary Diseases, Pág. 121. August. 1955