

**UNIVERSIDAD CENTRAL (MADRID)
FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS DOCTORAL

**Valor diagnóstico absoluto en las tuberculosis de la leuco-
reacción por la tuberculina y comparativo con la
intradermo-reacción**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Ramón Álvarez de Toledo y Valero

Madrid, 2015

VALOR DIAGNOSTICO ABSOLUTO DE LAS TUBERCULOSIS
DE LA LEUCO - REACCION POR LA TUBERCULINA Y COMPARATIVO
CON LA INTRADERMO - REACCION .

-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-

Tesis para el Doctorado en Medicina.

Año de 1910

por

RAMON ALVAREZ DE TOLEDO Y VALERO

-+++++

VALOR DIAGNOSTICO ABSOLUTO EN LAS TUBERCULOSIS DE LA
LEUCO - REACCION POR LA TUBERCULINA Y COMPARATIVO CON LAS IN-
TRADERMO - REACCION .

-+++++*****o#o#*****+---

I.

INDICE.

	<u>Página.</u>
Introducción	1
Capítulo 12. De los medios modernos de diagnóstico de la tuberculosis	7
Artículo 12. Reacciones con la tuberculina	14
A. Cuti-reacción de Pirquet	25
B. Intradermo-reacción de Ch. Mantoux	34
C. Oftalmo-reacción de Calmette	46
<u>Artículo 22. Métodos de Laboratorio.</u>	
A. Aglutinación	62
B. Examen de los líquidos serofibrinosos	70
C. Bacteroscopia indirecta	76
Id. directa	84

II.

	<u>Página.</u>
D. Procedimientos de cultivo	84
E. Id. de inoculación. Método de la mama ...	85
F. Precipito-reacción	88
G. Investigación del índice opsónico	91
H. Anafilaxia	96
I. Reacción del veneno de la cobra	100
J. Id. de fijación	103
K. Uro-reacción de Malmejac	106
La leuco-reacción con la tuberculina	113
Fundamento científico	116
Técnica	127
Observaciones	144
Resumen	175
Conclusiones	185
Bibliografía	I al XII

- 1 -

Ilmo Sr.

Sres:

- La tuberculosis, ha dicho Graucher, es la más curable de todas las infecciones crónicas -. - La curabilidad de la tisis pulmonar no se presta ya hoy á discusión -, ha agregado por su parte Robin, y desde el momento en que autoridades científicas de la altura de las dos nombradas, han formulado semejantes afirmaciones, la opinión médica se ha dado cuenta de que la cu-

ración de la grave enfermedad citada, no es un concepto utópico, una aspiración en vano suspirada de la Humanidad.

Pero, si aquellos hombres de ciencia han hecho tales aseveraciones, fué sub- conditione desde luego: es indispensable de todo punto diagnosticar á tiempo y diagnosticar bien. Ante esto se explica que los esfuerzos de gran número de médicos se hayan dirigido; de un lado, al descubrimiento de un medio diagnóstico precoz de la tuberculosis; de otro, al del tan deseado remedio de la temible enfermedad.

Y la Clínica y la Anatomía patológica nos han demostrado, que las afirmaciones que encabezan este trabajo son verdad; siempre que á un diagnóstico precoz de la enfermedad, se asocíe un tratamiento sabiamente instituido.

Más, no se crea que es cosa muy sencilla establecer un

diagnóstico precoz de la infección por el bacilo de Koch; dos grandes dificultades en este asunto nos hacen tropezar en la práctica. De un lado la no existencia de un método que en todo caso llene su cometido; de otro, el optimismo de los tuberculosos, optimismo que según frase de Rénon es como la lengua de Esopo; lo mejor y lo peor que existe; lo primero, por que es un poderoso auxiliar del tratamiento; lo segundo, por que de ordinario acuden tarde á que este se instituya.

Llevado de mis aficiones á los asuntos médicos é interesado vivamente en el pleito del diagnóstico precoz de la tuberculosis, al mismo tiempo que aleccionado por mi corta experiencia de antiguo interno de la Facultad de Medicina de Granada, que me permitió observar resultados negativos en determinados casos con

los modernos procedimientos diagnósticos de la tantas veces citada infección; he emprendido algunas investigaciones acerca del valor diagnóstico de La leuco reaccion con la tuberculina, modernísimo método ideado por el distinguido profesor de la Facultad de París Mr. Ch. Achard.

Y con el objeto de puntualizar algo más acerca de este asunto; con los mismos enfermos en quienes realicé la leuco reaccion, he practicado también la intradermo-reaccion, el más moderno de los procedimientos clínicos de diagnóstico de la tuberculosis con tuberculinas.

Al pretender adquirir la suprema investidura del doctorado en Medicina, el autor de este modestísimo trabajo suplica a la elevada ilustración del docto tribunal encargado de su cen-

sura, que teniendo en cuenta sus humildes méritos guie en su juicio la más marcada benevolencia.

Un deber de gratitud me obliga antes de pasar adelante á expresar aquí mi profundo agradecimiento al catedrático de Patología General de París Mr. Ch. Achard por los sabios y amables consejos que me ha dado acerca de la técnica del método de que he de ocuparme; á mis maestros los D^{tes}. Garcia Solá, Pasc y Cloriz Ortega por el auxilio incondicional prestado á mis trabajos así como también á los demás catedráticos y profesores de esta Facultad y Sr^{es}. médicos del Hospital de San Juan de Dios de esta ciudad, por haberme permitido sin limitaciones de ningún género realizar mis observaciones en los enfermos de sus respectivas clínicas.

= 6 =

Elegido pues el tema = Valor absoluto en las tuberculosis de la leuco reaccion con la tuberculina y comparativo con la intradermo reaccion=, dividiré este trabajo en las secciones siguientes:

- 1º. Medios diagnosticós modernos de la tuberculosis.
- 2º. ^M La leuco reaccion con la tuberculina.
- 3º. Observaciones.
- 4º. Conclusiones.

CAPITULO I.

De los medios diagnósticos modernos
de la tuberculosis.

-+++++:::~::~:~::+---

Establecida en los párrafos anteriores la importancia y necesidad de un diagnóstico precoz de la enfermedad producida por el bacilo de Koch conviene, ante la imposibilidad de ocuparse de todos los métodos propuestos para conseguir aquel, que me obliga á reducirme á la descripción de los modernos tan sólo, indicarlos á guisa de cuadro sinóptico, haciendo previamente ciertas aclaraciones.

Como quiera que la división de los métodos en cuestión en clínicos y de laboratorio es muy general, por que entre aque-

= 8 =

llos se encuentran muchos experimentales tal sucede por ejemplo con las reacciones por la tuberculina, que para producirlas necesitase provocar una modificación en el organismo y siendo por otra parte verdaderamente clínicos por que dentro de este concepto se comprenden no sólo los datos que la observación puede recoger en la cabecera del enfermo ya por si sólo, ya por medio de instrumentos que hacen el oficio de auxiliares, si no tambien los que la experimentacion en el sujeto puede proporcionar, he dividido los medicos clínicos en fundados en la observación y en la experimentacion.

Por lo tanto la clasificación de los medios diagnósticos de la tuberculosis es la que sigue:

ini-

Fundados en la observación

Aplicable á la tuberculosis pulmonár.

Síntomas del periodo de germinación de Graucher (murmullo vesicular rudo y bajo &).

Fiebre ligera de 4 á 5 décimas de grado observada por Daremberg despues de un paseo largo.

Los pequeños síntomas de la tuberculosis de Rénon, á saber: Disminución de la expansion inspiratoria del vértice (Ruault). Vibración del pulmon tuberculizado por la voz del enfermo (Murat). Amotrofia escapulo-torácica (Boix).

íni-
s

Fundados en
la observⁿ

Aplicables á la
tuberculosis
pulmonár.

La taquicardia. Las modifica-
ciones en la resonancia y en la
transmisión provocadas por un diapa-
són (Mignot). La disminucion de
tensión arterial (Potain y Mar-
fau). La albuminuria pretubercu-
losa (Teissier).

El olor de los esputos á esper-
ma (Ferran).

El trazado neumográfico. El es-
tudio del quimismo respiratorio
muy aumentado al principio (A.
Robin). El dolor de costado de

líni-
os

Fundados en
la observa-
ción

Aplicable á la
tuberculosis
pulmonár.

los vértices (Peter). El clavo
tísico (Fillaux). El infarto de
los ganglios supraclaviculares y
bronquiales (Signo de Neisser).

La conformacion especial del
pecho. Estrechez de la zona supe-
rior (Hirtz). cortedad excesi-
va de las tres primeras costillas
(Freund). Horizontalidad y si-
tuación profunda de las clavícu-
las (Aufrecht, Hänisch y Jaccoud).

Aumento del diámetro bi-hume-
ral (Charpy). Disminucion del es-
pacio intermamario (Guitrac).

Fundados en la observación

Aplicables á la tuberculosis pulmonar

Aumento del angulo de Louis.
Reduccion general de la caja torácica (Snigerer).
Disminucion de la circunferencia torácica (Snigerer).
Id. de la mitad correspondiente (Maurel) &. Estudio de la organografía pleximétrica.
La exploracion por los rayos X.
La administracion de IK.
La inyeccion de suero artificial que provoca un aumento de temperatura.
Las tuberculino - reacciones.

Fundados en la experimentación.

Aplicable á la tuberc. pulm.

Aplicable á todas las tuberculosis

ínicos

Aplicables á las
tuberculosis en
general

De laboratorio

La diazo - reaccion de Ehrlich.
La aglutinación de Courmont-Arloing
La bacteroscopia.
Procedimientos de cultivo.
Id. de inoculacion Proc
de la mama.
La precipito - reaccion.
Determinacion del índice opsónico
Reacciones de anafilaxia.
Reaccion del veneno de la cobra.
Reaccion de fijación.
Uro - reaccion de Malmejac.
Examen de los líquidos sero-fibri-
nosos.

Aplicables á la
tuberculosis de
las serosas.

- 14 -

Artículo 12.

Métodos Clínicos.

Reacciones con la tuberculina.

----- : : : -----

En 4 de Agosto de 1890 el ilustre descubridor del bacilo de la tuberculosis, R. Koch, comunicaba al Congreso internacional de Medicina de Berlín, un procedimiento capaz de hacer refractario al cobaya á la inoculación del citado bacilo. Entusiasmado por los resultados, emprendió trabajos de investigación en el hombre comenzando por él mismo y prematuramente, impulsado quizás por las impacencias de sus amigos y admiradores, dió cuenta de aque-

llos en uno que vió la luz en la Deutsche med. Wochenschrift del 14 de Noviembre de 1890, y en el que decia que habia encontrado el remedio específico de la tuberculosis; pero reservándose su naturaleza que bien pronto fué conocida con el nombre de linfa de Koch, primero, y de tuberculina despues.

Más tarde y en una tercera comunicacion públicada en el número del 15 de Enero de 1891 de la revista profesional que he indicado, afirmó que su remedio era un extracto glicerinado de cultivos puros de bacilos tuberculosos, que contiene una sustancia activa insoluble en el alcohol absoluto, más, todos los productos de vegetación bacilar solubles en la glicerina al 50 %.

Somejantes investigaciones garantizadas por la justa y reconocida autoridad de eminente hombre de ciencia de su autor,

= 16 =

produjeron una emoción inmensa en el mundo científico y en la sociedad toda; pero, bien pronto como afirma Manquat = se ha pasado desde un entusiasmo poco científico, á un desdén menos científico todavía =, por que si bien es cierto que el método de Koch, no ha enriquecido la Terapéutica como medio curativo de la tuberculosis, no lo es menos, como ha dicho Landouzy, que el descubrimiento del gran bacteriólogo alemán desde el punto de vista científico debe ser considerado = como una de las invenciones más poderosas de la Medicina moderna =.

Las desastrosas estadísticas publicadas por Koch y sus discípulos contribuyeron á que el descubrimiento se sepultase casi definitivamente por espacio de más de diez años. Investigaciones modernas parece que van colocando de nuevo el asunto en buen camino

mereciendo ser consultados los trabajos publicados por Dénys, Béraneck, Sahlí y Cevey, sobre todo las dos excelentes memorias de estos últimos autores aparecidas en 1907 y 1909 respectivamente. (1)

Rechazado pues el naciente método, quedó tan sólo como aplicación práctica la importancia diagnóstica de las inyecciones de tuberculina fundándose en su acción fisiológica, que en los sujetos afectos de tuberculosis se traduce en un extremo movimiento reaccional, porque mientras en el hombre sano son necesarios 0' 25 gr^s-, para producir su efecto, en el tuberculoso bastan de 0' 005 gr^s. á 0' 01 gr^s.

(1) Cevey = Les tuberculines et le traitement spécifique de la tubere.- Paris 1909.

Sahlí = Le trait. de la tubere. par la tuberculine-.Géneve 1907.

= 18 =

Veamos en que consiste ese movimiento reaccional y á este efecto nada mejor que describirlo con las mismas palabras de Koch

= La reacción general consiste en un acceso de fiebre (39' a 41°) que empieza en la mayoría de los casos por fuerte escalofrío, al mismo tiempo se observa: excitación á toser, dolores en los miembros, gran cansancio, más á menudo náuseas y vómitos. En algunos hemos comprobado una ligera ictericia y en otros un exantema en el cuello y en el pecho semejante al del sarampión. El acceso empieza 4 à 5 horas despues de la inyección y dura 12 ó 15 horas,

Los enfermos están ligeramente fatigados por el acceso y cuando este termina, manifiestan generalmente que se sienten mejor que antes del proceso =.

Pero tambien existe una reacción local en los enfermos de

lesiones tuberculosas cutáneas especialmente el lupus. Haciendo las inyecciones de tuberculina en un punto muy lejano á la region enferma empiezan á presentárse las modificaciones siguientes: las regiones luposas se hinchan y enrojecen aun antes del escalofrio. Durante la fiebre esta rubicundez y esta tumefacción aumentan de un modo considerable llegando á veces hasta tal punto la tumefaccion, que en algunos sitios provoca la necrosis del tejido. Alrededor del foco se forma una aureola blanca de un centímetro de ancho, rodeada á su vez de otra de color rojo vivo.

Poco á poco cuando la fiebre cesa van desapareciendo estas lesiones, volviendo la región al estado primitivo al cabo de 3 ó 4 dias, espacio de tiempo durante el cual los focos se cubren de costrillas de suero escurado y desecado en contacto del aire, que

aumentan luego de tamaño, cayendo al fin para dejar una cicatriz lisa y brillante.

Resulta pues de lo anteriormente indicado como por aquel entonces afirmó Koch = que la tuberculina inyectada á la dosis de 0'01 gr^S. en el adulto, constituye un medio diagnóstico muy penetrante en los casos de tisis incipiente, cuando ni el examen de los esputos, ni la exploración física suministran dato alguno cierto =.

Mas atemorizados los médicos por algunos funestos resultados producidos por la inyección de tuberculina á alta dosis, ya por una evidente agravación de los síntomas, ya por un intenso movimiento reaccional muy difícil de contener dentro de justos límites; abandonaron resueltamente también el insignificante pa-

pel á que habia quedado reducido el remedio de Koch que tantas esperanzas hiciera concebir cuando hizo su aparición solemne en el mundo científico. Pero, como el valor diagnóstico de la tuberculina era evidente, no por lo antes dicho se le dejó en absoluto olvido y continuaron en efecto los hombres de ciencia realizando sus investigaciones á fin de descubrir un método que sin perder en nada aquel caracter fuese en un todo inofensivo.

Koch y Escherich fueron los primeros que llamaron la atención sobre la reacción local producida en el punto de aplicación de una inyección subcutánea de tuberculina y á la que el último autor designó con el nombre de Stich - reaction (reacción á la picadura), insistiendo después sobre ella Spengler, Turban y Schick.

= 22 =

Mucho despues, Von Pirquet el dia 8 de Mayo de 1907, comunicaba á la Berlin Med. Gesells,chaft los resultados de un nuevo método de tuberculino diagnóstico.

Fundamentábalo en que haciendo estudios sobre la revacunación en niños recientemente vacunados, habia observado que se originaba una pápula que aparece á las 24 horas desapareciendo con rapidéz. Aplicando la tuberculina en **escarificaciones** hechas en la piel de niños tuberculosos se produce tambien una pápula y como en la revacunación constituye una reacción precóz pero abreviada. En esto consiste la Suti-reaccion con la tuberculina.

Pero, mas tarde, aconsejó la aplicacion de una pomada compuesta de tuberculina antigua de Koch y de lanolina anhidra previamente llevada á 30°. con 10 gr^s. de la que se fricciona el

epigastrio durante 30 á 60 segundos en una extensión de 5 cms.

Lautier mantiene con una tira de aglutinante aplicado 24 horas sobre la piel una bolita de algodón empapada en 3 gr^s. de solución al centésimo de tuberculina seca.

Lignières finalmente fricciona con dicha sustancia pura la piel previamente afeitada y asepticada.

Las reacciones que preceden por su modo de aplicación han sido llamadas percutáneas.

A mediados del año anterior, **Montoux** propuso con el nombre de intradermo reacción, la inyección en el espesor del dermis de una gota de solución al 1/5.000 de tuberculina seca.

Independientemente de todas estas reacciones cutáneas se han ideado otras realizadas en regiones diferentes de nuestra econo-

ia. Wolf. Eisner primero, muy poco despues de los trabajos de von Pirquet ideó su método de la oftalmo-reaccion que casi simultaneamente era estudiado en Francia por Calmette, Breton, Petit y Painblau.

Laffitte - Dupont y Molinier idearon aplicar la tuberculina en solucion al 1% sobre la mucosa nasal, ya por medio de un estilete, ya con una bolita de algodón, que se deja en el sitio diez minutos.

Por último Richter en la mucosa vaginal (vagino reaccion) y Calimette y Breton en la rectal con soluciones al 1% tambien, han hecho las últimas aplicaciones del ya prolífico método de las tuberculino - reacciones.

Por haber sido las más utilizadas hasta ahora me detendré

un poco en las cuti, oftalmo, rino é intradermo reacciones.

A. Cuti-reacción de **von Pirquet.**

Introducida en la práctica por ese autor es realizada por los diversos clínicos de un modo muy parecido.

Su inventor deposita una gota de tuberculina (antigua de Koch, pura ó diluida en la $\frac{1}{2}$ parte de agua salada normal) en la piel y despues en donde está aquella se practica una pequeña escarificación. Marcel Ferrand y Jules Lemaire hacen tres escarificaciones con un vacino-estilo - paralelas, de 5 milímetros de longitud, situadas en la región deltoidea y lo suficientemente separadas para que su reacción sea individual y bien evidente. Olmer y Terras por último hacen tambien tres escarificaciones ;

pero de ellas una superficial y dos mas profundas.

La cuti-reacción puede ser positiva ó negativa.

En el último caso sobre las escarificaciones se origina una costrilla negruzca que cae al cabo de 3 ó 4 dias. En el primero se observan tres grados segun la intensidad de la reacción.

18. Reaccion débil: El centro de la escarificación se ha hecho ligeramente papuloso y poco resistente al dedo, rodeado de un halo muy reducido y poco duradero constituyendo el todo una zona eritematosa de 4 á 6 milímetros de diametro.

20 Reaccion mediana = La pápula central es mas clara que en el caso anterior, no sólo á la vista si no al tacto: el halo que la rodea es más extenso y persiste de dos á cinco dias: los labios de la pequeña escarificación estan un poco engrosados y abiertos

La zona eritematosa que constituye el conjunto mide aproximadamente 12 milímetros.

39. Reaccion fuerte = De ordinario está constituida por la exageración de todos los caracteres precedentes. La zona eritematosa alcanza unos 3 centímetros de diámetro y dá al dedo una sensación de resistencia elástica.

Si el edema que levanta la pápula central es muy abundante, puede hacer que esta adquiera los caracteres de los habones de la urticaria, pues en efecto parece destacarse á modo de eminencia sobre la zona eritemato-papulosa, que forma entonces como la base del elemento.

Puede suceder; más, esto es raro, que los labios de la escarificación estén levantados en reborde de color blanquizco,

cremoso y que por puntura dá algunas gotas de líquido claro que mancha el lienzo.

Con bastante frecuencia, en los casos de reacciones medianas y fuertes, el halo periférico presenta en toda ó en parte de su extensión, muy finas papulitas, ligeramente amarillentas, bien visibles sobre el tinte rosa del fondo.

Precisamente, como han demostrado K. Ferrand y J. Lemaire en el hombre y Vallée en los bóvidos, los individuos en quienes la reacción es mayor son aquellos en los que las inyecciones subcutáneas de tuberculina provocan movimientos febriles mas intensos.

La reacción alcanza su máximo, cuando es empleada por primera vez, á las 24 horas aproximadamente. En cuanto á su duracion

es extremadamente variable; de ordinario es de 5 á 6 días: no obstante se han dado casos de 15, 20 y 25 días de duración.

Jules Lemaire ha observado que: 1º. Cuando la cutirreacción es practicada en niños que días antes han recibido una inyección subcutánea de tuberculina, aquella se muestra avanzada en su aparición y exagerada en su intensidad: 2º. Si en un niño á quien días antes hemos hecho una cutirreacción positiva, practicamos una inyección subcutánea de tuberculina, puede suceder que al día siguiente se produzca una exageración de la cutirreacción precedente (6 casos en 31 enfermos). 3º. Sucede á veces que al mismo tiempo que se produzca una reviviscencia de la cuti ó de la oftalmo-reacción precedente, se origina una recrudescencia de lesiones tuberculosas incompletamente curadas y 4º. La cu-

tirreacción suele provocar la aparición de diarrea y vómitos, juntamente con una elevación á veces intensa de la temperatura en los tuberculosos febricitantes.

Histología patológica. - Epidermis - En la línea de las escarificaciones la epidermis ha sido destruida en una profundidad variable y reemplazada por una costrita en forma de cono, que es de naturaleza fibrinosa y encierra en su espesor gran número de leucocitos.

Dermis. En su espesor hay una buena cantidad de líquido de edema bajo la escarificación y según la importancia de esta, el tejido dérmico es atacado más ó menos profundamente. El líquido del edema hace que las fibras del tejido conjuntivo se distiendan y adquiera este el aspecto del tejido reticulado, entre cu-

yas mallas existe un cierto número de leucocitos **polinucleares** degenerados.

Alrededor de esta zona edematosa existe una reacción inflamatoria importante, con sus caracteres histológicos **corrientes**.

Aun cuando banales en sí mismas las diferentes lesiones que acabamos de estudiar, tienen el valor sin embargo, de una reacción específica porque con todos sus caracteres no ha podido ser producida nada más que con la tuberculina.

A este efecto y con el objeto de que no se pudiese atribuir la reacción á la glicerina que acompaña al reactivo. Calmett lo **em**pleó precipitándolo por el alcohol. De otro lado, J. Lemaire y MM. Ferrand ya citados, la han practicado con reactivos diversos, por ejemplo: escarificaciones simples: glicerina, glicerina fe-

nicada del $1/20$ al $1/10$, trementina pura y glicerina sublimada al $1/10$ y al $1/5$ siendo todas negativas excepto la última; pero esta ha sido diferente á las producidas con la tuberculina, por que aparte poseen caracteres macroscópicos menos evidentes que los de aquella; los microscópicos son esencialmente distintos y consisten en una destrucción en masa de la epidermis en el punto en donde se aplicó el sublimado, no existiendo ninguna reaccion á distancia.

Valor diagnóstico de la cutireaccion. = Las numerosísimas investigaciones hechas por médicos de todos los países vienen á confirmar las primeras conclusiones de v. Pirquet: podemos resumirlas del modo siguiente:

12 En donde más valor tiene la cutirreaccion es en el niño menor de cinco años.

2^o Es positiva en los niños tuberculosos: lo mismo en los tuberculosos generalizados que en los localizados.

3^o Es negativa en los niños no tuberculosos y en los afectos de tuberculosis aguda (granulia, meningitis tuberculosa) lo cual no deja de ser un inconveniente,

4^o Es negativa tambien en los tuberculosos caquéticos.

5^o Es positiva en sujetos afectos de otras afecciones no tuberculosas, por ej. esclerosis en placas, hemiplegias, &. atribuyendolo Sicard y Descamps á la existencia de focos tuberculosos que permanezcan en el enfermo sin manifestación clínica.

6^o Es positiva tambien en algunas afecciones febriles agudas por ej. en la fiebre tifoidea, neumonia &.

7^o En los adultos no tiene ningún valor, porque gran número de

sujetos no tuberculosos, han reaccionado y por el contrario otros enfermos por el b. de Koch, nó lo han hecho y

82 Finalmente segun R. Eutz despues de minuciosas investigaciones la cutirreaccion no tiene ningun valor práctico, por que el ha podido obtenerla positiva con diversas toxinas. Se trata de un fenómeno reaccional de la piel.

Indúcese de todo lo apuntado que la reacción de Pirquet no ha venido á constituir el método diagnóstico infalible de la tuberculosis.

B). Intradermo-reacción de Ch. Mantoux.

=====

En el año anterior Ch. Mantoux propuso substituir la ya clásica cuti-reacción por la inyección en el espesor del dermis de

la solución de tuberculinas.

El material y la técnica de esta nueva reacción diagnóstica de la tuberculosis son bien sencillos.

Instrumentos y soluciones: Basta con una jeringa de Pravaz ú otro modelo cualquiera, siempre que esté dividido el centímetro cúbico de volumen que debe representar, en 20 partes iguales, y cuyo émbolo tenga el tallo provisto de una tuerca. Es preciso que aquel ajuste bien, á cuyo efecto antes de practicar la inyección, nos cercioraremos de ello. La aguja puede ser una ordinaria de inyecciones hipodérmicas, siendo preferibles las de platino iridiado.

El líquido inyectable es una solución de tuberculina al 1/5,000 que se obtiene diluyendo un volumen de la solución madre al 1/100

= 36 =

que prepara el Instituto Pasteur de París, en 49 de líquido salino normal, á cuyo efecto puede verse el contenido de la ampolla que es de 1 c.c. en un frasquito de vidrio bien limpio y esterilizado que se cierra con tapón de caucho y en el que previamente se han colocado 49 c.c. de suero artificial, ó bien puede calcularse la solución por gotas mezclando una de la de tuberculina con 49 de suero.

Como las inyecciones en el dermis son algo dolorosas para evitarlo puede agregarse 1/200 de estovaina ó sean 0' 25 gr^s. por 50. c.c. de solución.

Preparada esta si se sospecha de su asepsia, se procede á esterilizarla en el auto-clave; pero no por filtración por que el filtro retiene la mayor parte de la toxina y por ende no produci-

rá efecto alguno.

La solución de tuberculina al 1/5.000 se altera con mucha facilidad, por lo que es preciso utilizarla muy fresca y si han pasado algunos días ha debido estar en la obscuridad.

Elegido el sitio, que de ordinario es la región deltoidea y tomadas las precauciones asépticas de rigor se procede como para las inyecciones intradérmicas de cocaína.

Así pues, entre el pulgar y el índice de la mano izquierda se tomará un pliegue de la piel, en el que paralelamente á su superficie se hundirá la aguja que llevará el bisel mirando á aquella. Se empujará el émbolo y se inyectará tan sólo el contenido de una de las veinte divisiones en que estará dividida la jeringa con lo cual habremos introducido en el espesor del der-

mis 0'00001 gr^s. de tuberculina: la formación de una pequeña bota de edema nos indicará que hemos procedido bien.

Si al introducir la aguja notamos que penetra con facilidad es que ha entrado en el tejido conjuntivo subcutáneo: una pequeña maniobra nos permitirá hacer que la aguja vuelva á penetrar en el dermis. Consiste en dirigir la aguja en la dirección emprendida como si fuese á perforar la piel en el punto opuesto á aquel en que penetró y antes de que aquello se verifique al notar de nuevo cierta resistencia realizamos la inyección.

La intradermo-reacción puede ser positiva, negativa ó frustrada. En el primer caso suele aparecer algunas horas despues de practicada con la forma de una infiltración de color blanco paulativamente llega á alcanzar su máximun ó rosado. Aumentando paulatinamente

de intensidad á los dos días: la infiltración se ha hecho entonces rojo viva, algunas veces blanca; pero, siempre edematosa y con la superficie ligeramente granujienta; á veces, pero esto es excepcional, se observan también algunos puntos de púrpura.

El todo está rodeado de un halo rosado de eritema, sucediendo á veces que entre este y la elevación edematosa central exista otra zona intermedia, siendo entonces el conjunto muy parecido al de una escarapela. Las dimensiones de la placa eritemato edematosa oscilan entre las de una moneda de 2 pts. que es lo más frecuente y las de la palma de la mano que es si no excepcional por lo menos bastante raro.

La reacción comienza á regresar después del 29.º ó 30.º día. Lo primero que desaparece es el halo periférico y después

= 40 =

la bola de edema que adquiere un tinte violáceo y se reabsorbe poco á poco. Después de algunos meses de practicada la inyección, aun queda una pequeña mancha que nos indica que allí fué esta practicada. Una descamación ligera suele producirse á este nivel en muchos individuos.

Entre los casos positivos y negativos hay otros intermedios en que la reacción apenas es visible: es rosa el color de la infiltración y sus dimensiones no suelen ser mayores que las de un guisante ó un garbanzo.

En cuanto á las reacciones frustradas consisten en la producción tan sólo de una placa eritematosa sin nódulo central edematoso. Los sujetos en quienes se presenta de ordinario son caquéticos y evoluciona entre el 22. y 32. día después de prac-

ticada la inyección. - Conviene, dice Mautoux, no desconocerlas y distinguir las cuidadosamente de las pseudo-reacciones causadas por el ligero traumatismo dérmico que constituye la inyección.

Las reacciones negativas provocan con frecuencia una vaso dilatación limitada, un pequeño punto de induración alargado como es el trayecto de la aguja fenómenos sin importancia que desaparecen casi siempre al cabo de dos días.

Como quiera que las observaciones de M^{tes} Thibierge. Gastinel y Crozet han demostrado que aun las inyecciones de agua salada fisiológica provocan reacciones intradérmicas positivas, en los sujetos enfermos de dermatosis, es preciso tenerlo muy en cuenta para no practicarla con tuberculina en los sujetos que padezcan aquellas afecciones cutáneas.

De ordinario no suele producir el método de Mantoux elevación térmica nada más que en casos excepcionales.

Valor diagnóstico de la intradermo-reacción. - Hemos de estudiarlo en los niños y en los adultos, y en uno y otro caso según se trate de reacción positiva ó negativa.

19. Casos en que la intradermo es positiva -

a) En el niño de la primera edad revela siempre la existencia de una tuberculosis en evolución, por que es excepcional que un niño tenga ya tuberculosis latentes.

Como se comprende dadas las grandes dificultades con que en la práctica se tropieza para diagnosticar una tuberculosis en un niño, la intradermo tiene una gran importancia clínica.

b) En el niño mayor y en el adulto, una intradermo reacción

positiva, revela la existencia de un foco tuberculoso, ya latente, ya en evolución, ó ya finado; sucede aquí, según afirma Mantoux oportunamente, lo que con aquellos tíficos que aglutinan los cultivos del bacilo Eberth aún después de pasados muchos años.

Es preciso pues que el clínico en estos casos no cometa el error muy fácil de incurrir en él, desde luego, de afirmar que los síntomas que indujeronle á practicar la intradermo-reacción sean siempre tuberculosos.

Y esto, que demuestra que en tales casos queda el problema clínico por resolver quita una gran importancia práctica á la intradermo-reacción, máxime teniendo en cuenta que más del 80 % de los adultos que no tienen signos de certeza de tuberculosis reaccionan positivamente á la inyección intradérmica de tuberculina.

22. = Casos en que la intradermo es negativa.

El que esto suceda tiene una gran importancia práctica por que en la mayoría de los casos resuelve problemas de verdadero interés doctrinal ó clínico..

Broca por una intradermo negativa ha eliminado la sospecha de una tuberculosis en un enfermo afecto de un pié plano valgo doloroso, no obstante la teoría de Poncet.

Nobécourt y Aptekman por el mismo procedimiento, han eliminado del grupo de las adenopatias traqueobronquiales, las no tuberculosas, producidas por infecciones banales.

Hutinel tuvo en su clínica un enfermito que presentaba hematurias repetidas é intensas: una intradermo negativa, permitió diagnosticarlas ligadas á una nefritis hemorrágica; más; no

á una tuberculosis del riñon.

No obstante lo que precede hemos de tener en cuenta puede darse el caso de una intradermo negativa y tratarse de una tuberculosis. Según Mantoux sucede esto: 12. en los caquéticos: 29. en los de tuberculosis muy generalizadas. (granulia) y 32. en los niños que al mismo tiempo que aquella enfermedad padecen otra sarampionosa (32 casos de Harvier).

Resulta por lo tanto que lo que tiene verdadera importancia es la reacción negativa; podriamos pues á guisa de fórmula, afirmar con Mantoux que la intradermo - se aplica casi únicamente no al diagnóstico de la tuberculosis, sino de la no tuberculosis -.

Como indica el tema que titula esta tesis he practicado al mismo tiempo que la leuco reaccion de Achará la intradermo . Las

consideraciones y conclusiones que del estudio en cuestión he inducido serán dadas á conocer en lugar oportuno de este trabajo.

C) Oftalmo - reaccion de Wolf-Eisner
y Calmette.

=====

Pocos asuntos de clínica ó Laboratorio han dado lugar á un número tan grande de trabajos como el de la oftalmo -reacción con la tuberculina pues sin duda pasarán de 500 los hasta ahora publicados

No mucho despues que von Pirquet emprendió sus investigaciones acerca de lo que Vallée llamó cuti-reaccion, Wolf proponia que en los mataderos se intentase diagnóaticar la tuberculosis por medio de una gota de una debil solucion de tuberculina colocada en la

= 47 =

conjuntiva ocular, considerandolo desde luego como mucho mas util que el procedimiento de Pirquet. Calmette de Lille el 17 de Junio de 1907 con el nombre de oftalmo - reaccion, aplicó la idea de Wolf á la especie humana y en ella desde los primeros momentos se creyó encontrar el infalible medio diagnóstico precoz de la tuberculosis.

Utilízase para practicarla una solución al 1% de tuberculina y de la que se instila una gota en el ángulo interno del ojo ó sean 0'0005 gr^E. de principio activo. Como quiera que la tuberculina líquida tiene glicerina, á fin de evitar el efecto irritante que en la conjuntiva pudiese producir esta última: Calmette propuso precipitarla por medio del alcohol de 95,⁰ siendo expandida por el Instituto Pasteur de que él es director en

= 48 =

en tubitos conteniendo 0'005 grs. de substancia y por la casa Merck de 0'01 grs. Wolf. Eisner emplea la antigua tuberculina de Koch diluida al 1% y Citrendel 2al 4%.

Si utilizamos la tuberculina test de Calmette, en el tubito colocaremos 10 gotas de suero fisiológico ó de agua, uno y otra desde luego esterilizados, disolviéndose bien pronto aquella, produciendo una disolución de color amarillento y de consistencia algo menor que siruposa, Como quiera que la tuberculina se altera con facilidad conviene tenerla en sitio obscuro y bien tapada y á ser posible ha de ser utilizada lo más tarde dentro de las 24 horas siguientes á su disolución.

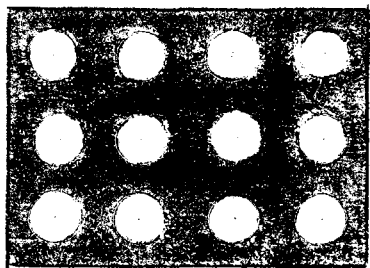
Lareacción puede ser positiva ó negativa.

En el segundo caso no se observan modificaciones en el ojo,

ó cuando más una ligera rubicundez fugaz que desaparece en dos ó tres horas, sin lagrimeo ni exudado fibrinoso.

En el primero comienzan á manifestarse los primeros signos entre las 2 ó 3 horas como mínimum, y las 18 como máximun, á partir del momento en que se ha instilado la gota. Por ende y teniendo en cuenta el instante de su aparición, se han dividido las oftalmo- reacciones en: precoces cuando se presentan de las 2 á 6; medianas, las que de 6 á 12, y tardías, de 12 á 20, debiendo desde luego considerar como no producida por la tuberculina toda modificación que se presente despues de este tiempo máximo.

El comienzo de la reacción lo indica un ligero enrojecimiento de la carúncula lagrimal, solo apreciable por comparacion con el otro ojo y que poco á poco vá ácentuandose. Segun el grado de



A



NA 1^a.- Técnica de la leuco-reacción. Gradilla especial para colo en la estufa las ampollas. A. El tablero de aquella visto de fre para enseñar la colocación de los agujeros. B. La gradilla vista de fil con las ampollas en su sitio.

intensidad á que llegue, se han dividido en:

1ª. Reaccion ligera, que podria pasar desapercibida si no se mirase atentamente el angulo del ojo, rogando al enfermo que se gire fuertemente hacia fuera y se compara el colorido é inflamación desu mucosa con el del otro ojo. Su duracion es de ordinario de 24 horas.

2ª. Reaccion mediana, que se distingue á simple vista por que el enrojecimiento de la conjuntiva puede invadir el globo entero : parece que el enfermo padece una conjuntivitis aguda, y que dura 2 ó 3 dias.

y 3ª. Reaccion violenta: el ojo está vivamente inyectado; los párpados edematosos, hay epífora y secreción purulenta, el enfermo no puede abrir el ojo y presenta el aspecto de una oftalmia

purulenta. En estos casos suele durar la reacción de 5 á 6 días, quedando en algunos sujetos hemorragias subconjuntivales durante 12 ó 15 días.

Ademas de todo esto es preciso advertir: a) Que el tiempo de aparición no guarda ninguna relación con la intensidad, esto es, que puede darse el caso de ser una reacción precóz, ligera y una tardía, violenta. b) Que tampoco hay relación entre la intensidad y la precocidad de la reacción de un lado, y la extensión, agudeza ó cronicidad del otro. c) Que si la hay por el contrario, entre la intensidad y el grado de vitalidad del sujeto, por que se han dado casos de reacciones negativas ó muy ligeras en tuberculosos cavitarios, algunos de los que fallecieron pocos días después de practicada la reacción.

Accidentes== Sucede algunas veces, que la oftalmo-reaccion pasa los límites de lo normal y adquiere proporciones graves, revistiendo los caracteres, ya de conjuntivitis graves prolongadas (Dufour y Terrien), irido-coroiditis, retinitis (Kalt.) y sobre todo queratitis (Kalt, Rénon, Barbier).

El profesor Lapersonne con su indiscutible autoridad publicó un interesante artículo en La Presse Medicale del 7 Dbre. de 1907, cuyas conclusiones textuales son las siguientes.

----- Estamos en el derecho de concluir que la oftalmo-reaccion no presenta ningún peligro para el ojo. Sin embargo los accidentes señalados más arriba (aun cuando muy raros y no ofreciendo con la oftalmo-reacción una relacion muy directa de causa á efecto) deben dictarnos algunos consejos de prudencia.

= 53 =

1ª = No se deberá jamás ensayar la oftalmo-reacción sin haber hecho previamente el examen completo de los ojos del enfermo.

2ª = En Oculistica su empleo me parece debe ser limitado. Yo no me serviría de ella para el diagnóstico de las lesiones del globo del ojo superficiales ó profundas y la reservaría para el diagnóstico de las enfermedades de los anejos. (párpados, vias lagrimales, órbita &).

3ª = De buena gana añadiría que vale más no emplear este medio diagnóstico en los individuos de edad. Multitud de elementos se reúnen para enmascarar los resultados, la reacción es menos franca y si se producen accidentes curan más difícilmente =.

Valor diagnóstico de la oftalmo-reacción = Si bien es cierto que en general la opinión del mundo médico se ha declarado de-

cididamente en favor del método, no locés menos que se le han hecho objeciones algunas de importancia. Son estas :

a) La tuberculina provoca en sujetos no tuberculosos reacciones positivas algunas muy intensas. Esos enfermos han sido leprosos (Max Josephs, Babés, Beck, Kaposi), sífilíticos (Straus, Tessier cancerosos, actinomicetos (Eiselberg), diabéticos y afectos de fiebre tifoidea, de Malta, reumatismo articular agudo, esporobriosis, perispleno hepatitis &.

A esta objecion se ha contestado por los defensores del método que nada se opone á que un canceroso, un sífilítico, un leproso &, secundariamente puedan ser infectados por el bacilo de Koch y que precisamente á esta infeccion secundaria se deba esa

reaccion positiva.

b). La tuberculina provoca reaccion positiva en gran número de individuos sanos, 45 % según Franz, 61 % de reclutas de la Bosnia y Herzegovina según Ludwig : quiere pues esto decir que dicha substancia no es específica

Pero á esto se ha contestado por Labbé que como quiera que los autores en cuestión han instalado dosis de 2 á 5 décimas de milígramo de tuberculina obra, por ser fuerte la dosis, como agente químico y como despues se rebajó aquella y el resultado fué el mismo se contestó que eran sujetos tuberculosos latentes y á ese efecto diversos autores afirman que en los sujetos de 18 á 30 años sucede esto en el 62 % según Noegelé: el 66 % según Sebleuker: el 84 según Lubarcha, el 91 según Burckard y el 94 se-

gún Schanz.

c) La tuberculina no es la única substancia capaz de producir oftalmo reacciones en los animales tuberculosos por ej: cultivos esterilizados del vibrión avicida (Metchnikoff), cultivo de bacilo pisciánico esterilizado (Charriu), proteínas del bacilo piccianico, del prodigiosus ó del neumo bacilo (Buchner y Roemer), extracto glicerinado de cultivo de actinomicas bovis (Besançon y Griffon). A esto se ha contestado que solo la tuberculina es la que provoca reacción característica.

d) . Arloing fundándose en experimentaciones hechas por él en conejos no tuberculosos á los que habia previamente intoxicado por medio de las toxinas, tuberculosas, esta-filocócica, diftérica ó eberthiana, vasodilatadoras todas y que reaccionaron por la

= 57 =

tuberculina aplicada en la conjuntiva ocular, afirma que la oftalmo reacción nó es específica y que se presenta en todos aquellos individuos, cuyo organismo está impregnado y por ende sensibilizado por una toxina cualquiera vasodilatadora.

Aparte estas objeciones los clínicos afirman que la oftalmo reacción es muy importante por que descubre nó solo focos tuberculosos latentes sino los incipientes desde los primeros momentos.

D). Rino-reacción de Lafitte - Dupont y Melinier.

-x-x-x-x-x-x-x-x-

Fundandose en los peligros, algunas veces nó muchos, de consideración que la oculo-reacción presenta para el órgano de la vista los autores que preceden han propuesto sustituirla por la aplicación en la mucosa nasal de una solución de tuberculina

á igual titulación que para el método precedente.

Técnica = Los instrumentos que se necesitan para practicar la rino-reacción son: ún espejo frontal, ún especulum-nasi, una pinza acodada y larga y ún estilete.

La solución de tuberculina que se emplea es la solución matriz del Instituto Pasteur al 1 %, que se puede aún diluir más al 1^o/100. La tuberculina se aplica por medio de ún taponcito de algodón del tamaño de una lenteja, en medio centímetro cúbico de la solución al 1 %. se pueden introducir ocho taponcitos como el indicado. Suponiendo que la solución de tuberculina sea bien homogénea, cada taponcito se puede decir que respresenta 0'000625 de principio activo.

Una vez bien empapado el tapon se aplica á la mucosa nasal,

ya en contacto del cornete inferior yá de la región correspondiente del tabique, sitio preferible éste, pues su menór riqueza glandular háce que las secreciones naturales sean allí menos abundantes.

Debe permanecér in situ, diez minutos durante los cuales se ordenará al enfermo nó tosa, ni se suene, ni respire con violencia. Pasados que sean los diez minutos dichos se retira el algodón y puede yá el enfermo respirar libremente por la nariz.

La reacción se manifiesta de ordinario de las 18 á las 48 horas, despues de la aplicación del reactivo, tardando en evolucionár completamente de 7 á 8 dias por término medio aún cuando hay casos en que tarda 10 y aún 11 dias.

Se caracteriza la rino-reacción: 1º, por la aparición de una

congestión mas ó ménos intensa en el punto en donde se aplicó la tuberculina, congestión que aún cuando persiste durante todo el ciclo evolutivo del fenómeno; es enmascarada por ún exudado que al principio húmedo, se deseca bien pronto por la influencia de la corriente de aire respiratorio acabando por convertirse en una costrita delgada y ligeramente amarillenta que si se arranca por medio del estilete, produce una ligera hemorragia y si se deja así misma cae espontaneamente al cabo de 4 á 6 dias, permaneciend aún varios la mucosa congestionada.

Según Lafitte y Malinier en 100 casos, 10 recibieron la tuberculina sobre el conoto inferior y 90 sobre el tabique. De estos últimos; 17 eran tuberculosos típicos ó pleuríticos: 21 afecciones de tuberculosis asociadas á otro padecimiento anterior: 11 de

= 61 =

tuberculosis quirúrgicas: 20 de afecciones médicas ó quirúrgicas
no tuberculosas y 10 de diagnóstico incompleto.

Todos los tuberculosos pulmonares aún los cavitarios tu-
vieron reacción positiva: los pleuríticos 11 de 14: los 3 que
no reaccionaron eran, uno caquético, otro sífilítico y el 3º se-
rofibrinoso puro.

Según sus autores, para terminár, " la rino-reacción es ún
procedimiento que parece tan fiel como la oftalmo y la cutirreac-
ción, pero, presenta sobre estos dos la ventaja de poder ser he-
cho sin que el enfermo se entere y sobre el 1º la de sér de una
inocuidad absoluta "

= 62 =

Artículo 29.

Métodos de Laboratorio.

A.) Aglutinación.

El fenómeno de Chantemesse - Widal indujo á Courmont y Arloing á investigár el mismo hecho en la tuberculosis y comenzaron por obtener una raza de bacilos de Koch que daba cultivos homogéneos en medio líquido, raza que en armonia con lo por ellos supuesto era aglutinada por el suero sanguíneo de los tuberculosos.

El descubrimiento de Arloing y de Courmout motivó gran número de investigaciones de las cuales, unas confirmaron las conclusiones de esos dos autores y otras las invalidaron. Entre las primeras se encuentran las de Mosny, Widal y Rabaut, Carriere,

Romberg, &c. y entre las segundas Beck, Rabinovitch, Arnut y Horton Smith.

Veamos como se obtienen los cultivos homogéneos de bacilo de Koch, cual es la técnica del serodiagnóstico de la tuberculosis y cuál es finalmente su importancia práctica.

Obtención de los cultivos homogéneos del bacilo de Koch: Los primeros fueron obtenidos mediante cultivo sobre patata eligiendo aquellos que se desarrollaban en el líquido que ocupa el fondo del tubo y con los que se sembraba un medio líquido que se tenía la precaución de agitar con mucha frecuencia á fin de evitar que se formasen conglomerados bacilares. Con ésto se hacía perder al microbio de Koch la propiedad de constituir grumos y de crecer en la superficie del líquido formando velos.

= 64 =

Si el bacilo así obtenido se siembra en caldo glicerinado, á los 10 dias produce una turbidez que hace perder al medio su transparencia y que nó desaparece hasta que el cultivo nó se hace viejo, por que entonces se forman conglomerados en el fondo. En medio sólido que nó sea gelesa el cultivo adquiere el aspecto de ún velo blanquisco, húmedo, liso ó plegado.

Los bacilos jóvenes de Arloing y Courmont nó son acidófiles, pero si los viejos y en cuanto á su facultád de aglutinación con esos autores podemos repararlos en tres grupos: 1º. bacilos aglutinables por el suero de animales tuberculosos: 2º. nó aglutinables y 3º sí aglutinables, pero por muy poco tiempo.

Técnica = Obtenido el cultivo por el procedimiento dicho en caldo glicerinado, se elije uno de ocho á diez dias de fecha,

= 65 =

debiendo tener presente que cuanto mas deprisa vejetó la siembra y mas rica es la emulsión, con mas facilidad se aglutina.

Es preciso despues estudiár su poder de aglutinación por medio de ún suero contraste, que a una titulación conocida aglutina ún cultivo normal pudiendo aquel ser conservado asepticamente muchos meses bien en ún sitio fresco según las indicaciones primeras de los autores de éste método ó bien en la estufa durante ún mes, diluyendolo al 8 % en solución salina normal en el momento de usarlo.

Por medio de una pipeta estrangulada en su parte média, se mide un volumen dado del cultivo al que despues se añaden de 15 á 20 veces su volumen de suero de modo que se obtenga una diluátón ligeramente opalescente . Si el práctico tiene ya mucha costumbre

= 66 =

de hacer la dilucion á simple vista puede obtener una **favorable** para la aglutinacion y si no es preciso que haga un suero contraste. A la dilucion de bacilos de Koch se agrega despues 1' 5 cm^S. de sangre.

La aglutinacion aconsejan Arloing y Courmont en contra del parecer de Buard observarla no con el microscopio si no á simple vista colocando la mezcla anterior en tubitos de vidrio esterilizados de 0'007 mg por 0'04 m^S redondeados, de los que se colocan 5 en un pequeño portatubosy en los tres primeros 10 gotas del cultivo joven ó del diluido en el 4º. 15 y en el 5º 20.

Con la misma pipeta que hemos echado el cultivo, se coloca en los tubitos el suero para lo que es preciso labarla muy bien con líquido fisiológico esterilizado y secarla á la llama.

= 67 =

En el 1º tubo (testigo) no echamos ninguna gota de suero: 2 gotas en el 2º y 3º y 1 en el 4º y 5º. El serodiagnostico se ensaya pues así al 1/5, al 1/10 al 1/15 y al 1/20, estando acabado de las 2 á las 6 horas.

La reacción puede ser, positiva, negativa ó incompleta. Las 1ª se caracterizan por un esclarecimiento del caldo y precipitación de los bacilos en pequeños copos blanquizcos. Las 2ª porque dejan el líquido turbio como en el tubo testigo. Las últimas finalmente son intermedias entre unas y otras.

Para interpretar los resultados basta observar en el tubo se produce la aglutinación. Si fué en el 4º se dice que el suero es aglutinante al 20, pero no al 15, ni al 10, ni al 5, debiendo advertir de paso que solo á partir de 10 tiene importancia diagnós-

= 68 =

tica el procedimiento porque el suero normal aglutina al uno por cinco en el adulto y al uno por tres en el niño de ocho años y nada en el recién nacido; de donde es preciso inducir que tanto en el niño como en el adulto toda reacción incompleta debe admitirse con reservas.

Resultados = Acerca de este asunto se han publicado gran número de trabajos la mayor parte de ellos estadísticos.

De su detenido estudio y á fin de no hacer interminable esta memoria podemos inducir resumiendo:

1º. Que la no existencia de reacción aglutinante, si bien de ordinario demuestra la no existencia de tuberculosis no tiene sin embargo un valor absoluto por que en los lúpicos y en algunos tuberculosos pulmonares incipientes ha faltado. 2º. Que si bien

= 69 =

las reacciones positivas son específicas de infección por el bacilo de Koch no revelan sin embargo si el proceso se encuentra en estado latente ó en plena evolución. 32. Que no sirve la aglutinación para demostrar la naturaleza de una enfermedad aguda febril, de una parte porque las tuberculosis agudas suelen no reaccionar y de otra por que las infecciones neumocócica, estreptocócica, y eberthiana suelen reaccionar y muy intensamente por cierto. Segun Courmont y Arloing el 75% y segun Marini el 54 % de los tifoideos aglutinan el bacilo de Koch, y 42. Que hay medicamentos como la creosota, el guayacol, eucaliptol y cloruro mercúrico que confieren al suero la propiedad de aglutinar el bacilo de la tuberculosis de los animales y si bien es cierto que Hawthorn afirma que á dosis terapéuticas no sucede tal cosa no lo es menos que

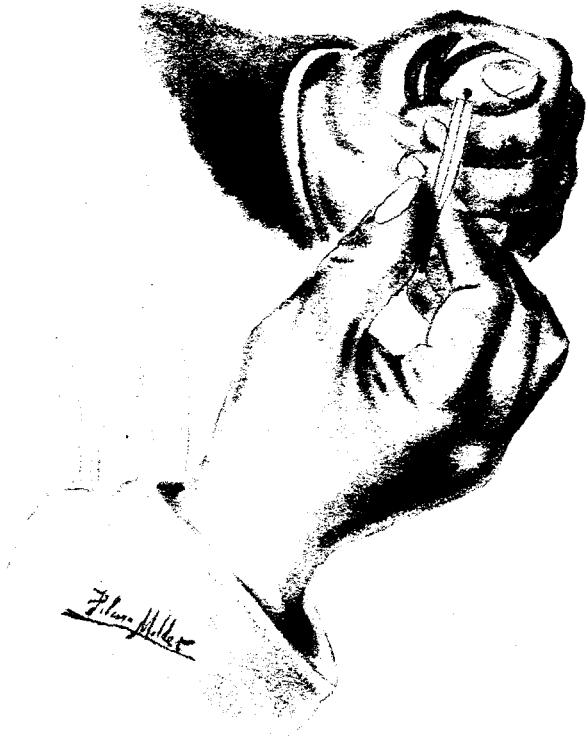


Lámina 2ª - Técnica de la leuco-reacción. - Momento de echar en la ampolla la gota de sangre obtenida por punción del dedo del enfermo (Esta figura es parecida á la que publica René Gaultier en su trabajo Les Opsonines.)

= 70 =

esta aseracion no ha podido ser demostrada con respecto á las sales de mercurio.

E). Examen de los líquidos

serofibrinosos.

En los líquidos serofibrinosos cuya naturaleza tuberculosa tratamos de averiguar se puede practicar ya el serodiagnostico que busca sus propiedades aglutinantes ya los caracteres microscópicos de las células que posee esto es el citodiagnóstico.

Serodiagnóstico = Courmont que conforme hemos afirmado antes con Arloinz estudió la aglutinacion, ha dicho respecto á este caso particular » Los derrames no tuberculosos de las serosas no son aglutinantes para los cultivos líquidos del bacilo de Koch á partir de un cierto grado de dilución » y que » los derrames tuberculosos

= 71 =

son casi siempre aglutinantes para los mismos cultivos en las proporciones del 10 % con frecuencia mas que el suero sanguíneo de los mismos enfermos ».

Estas conclusiones que estaban fundadas en el examen de 14 pleuresias, 8 ascitis, 1 quiste de la rodilla y un líquido céfalo-raquídeo fueron obtenidas siguiendo una tecnica igual á la que se emplea con el suero sanguíneo .

Cito diagnóstico = Este interesante y moderno estudio citológico se debe á Ravaut y Widal quienes sin duda alguna emprendieron sus investigaciones fundándose en las análogas que Laucereaux, Quincke y Fraenckel llevaron á cabo con los derrames cancerosos y en las que en los tuberculosos pero sin llegar á determinar sus caracteres citológicos realizaron Korezynski y Wernicki, Winiars-

= 72 =

ki, Ehrlich y Grawitz.

Técnica » Dos tiempos comprende esta: 1ª Desfibrinación. 2ª Centrifugación .

Desfibrinación = Se recogen unos 20 c. c del líquido por medio de una punción aspiradora asepticamente realizada, que se echan en una vasija esterilizada que contiene algunas perlas de vidrio también esterilizadas. Se agita después hasta que produce la coagulación del líquido, se decanta el que permanece en este estado y se recoge el coágulo en otra vasija aséptica que contiene dos perlas con las que se agita aquel hasta conseguir romper las mallas de la fibrina con lo que los elementos celulares quedan en libertad.

2ª = Centrifugación =. Es preciso practicarla con aparatos muy

= 73 =

rápidos, á cuyo efecto los mejores son los de agua ó electricidad. Hay que centrifugar unos diez minutos aproximadamente, se decanta despues con cuidado dejando sólo 1 ó 2 gotas de líquido: se agita con una varilla de hierro el coágulo que se aspira y se lleva á un porta procediendo en seguida á fijar y colorear la preparación,

Resultados = La fórmula citológica de diversas enfermedades tuberculosas es la siguiente:

Eleuresias serofibrinosas = Segun **Rabaut** al principio predominan los linfocitos con algún que otro polinuclear y gran mononuclear y abundantes hemáticos, aumentando los linfocitos en el curso de la afección y desapareciendo los polinucleares.

La fórmula anterior tiene gran importancia, porque 15 líqui-

dos pleurales con linfocitosis produjeron tuberculosis inoculados en conejillos de Indias y 20 que no tenían esa fórmula procedentes de cardíacos y brighticos, no la produjeron.

Pleurisia tuberculosa secundaria = Sus leucocitos son polinucleares y algunos linfocitos y gruesos mononucleares pero predominando siempre los primeros. Si la afección tiende á curar, aumentan prodigiosamente los linfocitos; pero, si no sucede así continúan predominando los polinucleares.

Segun Widal y Ravaut la linfocitosis indica una afección atenuada, por que estando la pleura lubricada por linfa cuyos elementos celulares son linfocitos; si es atacada de un modo ligero se basta ella con la escasa defensa que los linfocitos representan; pero si lo es de un modo muy enérgico, entonces es preciso que en

= 75 =

auxilio de aquellos vengan más poderosos defensores: los polinucleares .

Pleuresia hemorrágica. Hay linfocitosis, eosinofilia y hematies.

Pericarditis con derrame. Linfocitosis .

Ascitis = Las investigaciones hasta ahora realizadas no son concluyentes; pero según Widál y Rabaut los polinucleares predominan en el mayor número de los casos.

Hidroceles. Parece ser según afirman Tuffier y Milianque hay linfocitosis sola.

Hidrartrosis. Sucede en estos casos lo mismo que con las pleuresias que existe linfocitosis ó polinucleosis según la intensidad de la infección.

= 76 =

Líquido céfalo-raquídeo. = Las investigaciones de gran número de autores han dado la fórmula de linfocitosis para los meningitis tuberculosos. Mas hemos de tener muy en cuenta sin embargo, que esto no quiere decir que sea patognomónico de la infección tuberculosa de las meninges por que linfocitosis, también acompaña á la tabes, sífilis, herpes-zona, paperas, tífus, neumonía, parálisis general y último periodo de la meningococia. Sin embargo una meningitis que desde los primeros momentos vá acompañada de linfocitosis puede afirmarse seguramente que es tuberculosa.

3) Bacterioscopia.

Puede hacerse ya indirecta ya directamente.

Bacterioscopia indirecta. = Puede llevarse á cabo con diver-

= 77 =

se medio infectados por el bacilo de Koch.

Sangre:

12. Método de Jousset = Llamado por su autor inosconia, está fundado en la digestión de la fibrina por un jugo gástrico de la fórmula siguiente:

Pepsina	_____	1 á 2 g
Glicerina neutra	-----	
HCL á 22 ^o . Baumé	-----	aa 10, c..c.
Fluoruro sódico	_____	3 g
P. ₂ ^o .	_____	c.s. para 1.000 c.c.

Del tubo se recogen por puncion ó por ventosas escarificadas 30 ó 40 c.c. de sangre que se echan en 200 de agua destilada aséptica: aquella acaba por coagularse, y **ocurrió esto** despues

de algunas horas, se filtra la mezcla á través de una compresa de gaza esterilizada en un líquido alcalinos con lo cual quedan retenidos los coágulos en la compresa, en donde se lavan repetidas veces con la espátula de platino tambien aséptica son por último colocados en una capsulita que contenga de 10 á 30 c.c. de la solución de pepsina, y que se trasporta á la estufa á 38° de donde agitándola cada media hora se retira á las 2 ó 3, tiempo que tarda en digerirse la fibrina precediendo inmediatamente á su centrifugación y aclarando el depósito por medio del método de Gabet.

21. Método de Bazançon, Griffon y Philibert. Fundado en el de Biedert para la homogeneización de los esputos consiste en colocar en un mortero 5. c.c. de sangre, 5.c.c. de H₂O destilada y 5 gotas de lejía de sosa. Se tritura bien el coágulo en el mortero

= 79 =

hasta disolverle se agregan 20. c.c. de agua destilada y se hace hervir el todo 10' en una cápsula de porcelana centrifugando despues y coloreando por el Ziehl.

38. Método de Lesieur = Se colocan tres sanguijuelas vírgenes y se espera que ellas salgan se desprendan. Se las coge con una compresa esterilizada, se las corta la cabeza esprimiendo de atrás adelante; se recoge la sangre en un tubo del centrifugador y despues de funcionar este se colorea por el Ziehl-Hauser.

Resultados = Los tres métodos anteriores han sido objeto de grandes discusiones. De los numerosos documentos presentados á la Sociedad Médica de los hospitales por Mosny, Bezançon y Vincent se puede inducir.

18. Que la sangre puede adquirir en el curso de las manipulaciones

= 30 =

dichas apesar de proceder con gran rigor aséptico bacilo ácidos resistentes.

22. Que es imposible afirmar que un bacilo ácido resistente aislado en la fibrina no sea un bacilo tuberculoso: Deben sospecharse como tales los bacilos largos ramificados ondulosos dispuestos en conglomerados ó coeciformes.

23. No se puede afirmar la especificidad de los bacilos ácidos resistentes mientras que inculados al cobaya no provoquen una granulita por que segun Mesny aquellos solo originan una úlcera ó una adenopatía cancerosa pero nunca una tuberculosis generalizada.

En principio los tres métodos de bacterioscopia indirecta son pues los tres buenos: su sensibilidad ha sido demostrada por

las experiencias que fueron hechas en animales. Pero su aplicación clínica es muy delicada, exigen largas manipulaciones en las que ninguna falta de asepsia es permitida y exigen el examen de numerosas preparaciones que pueden ser de interpretación difícil.

Fundándose en esto Nattan-Larrier prefiere los procedimientos que tienen por base la hemolisis.

18. Procedimiento de Looney y Louste = Mezclan una parte de sangre á dos de alcohol al 1/3 para lo que aspiran directamente de una vena la sangre por medio de una jeringa esterilizada de 20 c.c. llena de una mezcla de parte de alcohol de 90° y 2° de agua destilada, se centrifuga y con el depósito se hacen las preparaciones.

19. Procedimiento de Nattan-Larrier y Bergeron: Se recoge la sangre por punción venosa en el hombro y por punción cardíaca en el

animal, por medio de una jeringa de 10, g de cabida y se echa en un vaso esterilizado de vidrio que contiene una cantidad de agua esterilizada de 200, g para que el líquido resulte como el jarabe de grosella, se centrifuga y hacen las preparaciones. Son estos procedimientos como se vé más fáciles que los anteriores .

Espútos = Puede recurrirse á la homogeneisacion, á las inoculaciones y á los cultivos. Indicaré ahora la primera: se han indicado muchos procedimientos, pero los mejores són

1º. El de Biedert = Muy parecido al de Begançon Philibert. & yá indicado al hablar de la sangre, difirenciándose en que aquí se utilizan de 15 á 20 c.c. de espútos, unidos á 40 de agua y de 6 á 15 gotas de le iajda seca, que se hierven en una capsulita hasta que se haga bien homogenea la mezcla y se deja despues reposar 24 ho-

= 83 =

ras en un vidrio cónico decantándose finalmente ó bien se centri-
fuga.

39. El de Sprengler = Se mezclan 10 c.c. de esputos, 10 de agua
templada y una gota de solución normal de sosa, 0' 25. ó 0' 50g
de pancreatina y colocase el todo en la estufa á 37^o—por espacio
de 2 ó 3 horas: se centrifuga, se coloca despues en un vidrio có-
nico con un cristal de timol y se deja posar durante 12 á 14 horas.

y 40. Elle Ilkewistch = Se mezclan $\frac{1}{2}$ c.c. de esputos 20 de agua
destilada y 10 gotas de solución de K O H al 1 X 30: se calienta
en una cápsula sin llegar á la ebullicion hasta que se haga homo-
géneo: se agrega 1. c. de caseina y una gota $\frac{1}{2}$ dos de solución
de H X O al 1 / 30 calentándose hasta que el líquido tenga aparien-
cia lechosa y se continua añadiéndose entonces unas gotas de áci-

de acético hasta coagulación parcial. Se centrifuga &.

Líquido serofibrinoso. = Se ha reunido á la inoscopia y á la homogeneización.

Bacteroscopia directa = Como su nombre indica es la que busca en los diversos líquidos ó productos patológicos el bacilo de Koch sin recurrir á otro procedimiento que el análisis de aquél sin modificación ó alteración secundaria.

D). Procedimiento de cultivo.

Los mas utilizados son por órden de importancia 1º. el método de Botanson y Griffen y 2º. la yema de huevo gelosada. 1º. De verdadera importancia ha permitido dar ún gran páso en el diagnóstico de la tuberculosis. En suero gelosado al 2 %. mezclado con ún 6 % de glicerina preparado asépticamente se recibe

directamente de la oreja del animal la sangre que se mezcla lo mejor posible con aquel en la proporción de una parte de sangre por tres de medio.

22. Se añade dos partes del suero gelosado glicerinado preparado como el anterior y mantenido á 50°. en el baño maria, una parte de yema de huevo cocida del centro del huevo, por medio de una gruesa pipeta de bola.

E). Procedimiento de inoculación.

Método de la masa.

El hecho de que los procedimientos ordinarios de inoculación, aún cuando muy seguros como todos los de ésta clase, obligaban á tener en suspenso el diagnóstico de la tuberculosis cuando menos por espacio de unos 8 días, hizo deseár la existencia de u

de uno que á una brevedad grande añadiese una seguridad absoluta, y en efecto nó se hizo esperar.

Hacard en el Congreso de paris de 1900 dió á conocer sus trabajos acerca de la tuberculosis de la mama de la vaca. Provocada aquella por una inyección de cultivos puros, se observó la aparición de una galactoforitis ascendente, seguida de infiltración total de la glándula. Al poco tiempo Mattan - Larrier lo provocó tambien por la inyección de ún pús al parecer tuberculoso y de ésta y de la anterior observación nació éste interesante método. He aquí su técnica.

Se utilizan las cobayashembras en periodo de lactancia esto es, antes de terminár el mes posterior el parto por que entonces la mama es muy voluminosa de 0'03 á 0'04 metros de largo por 0'02

de ancho y 0'03 de espesor, situada en una línea oblicua desde el mamelón á la vulva. Inmovilizado el animal, el operador coje la mama con los dedos de la mano izquierda y la levanta sobre los músculos abdominales: después hace penetrar una aguja á través del eje del órgano y á través de ella inyecta el líquido sospechoso. La secreción láctea se hace sanguinolenta y nó se suspende aún cuando disminuye y se hace blanca al segundo día.

A partir del cuarto, por expresión de la glándula se obtienen algunas gotas de leche amarillenta y transparente y al veinte adquiere los caracteres de materia caseosa, debiendo buscarse los bacilos por expresión de la glándula á partir del 5º ó 6º, coloreandolos por los métodos ordinarios que los revelan al principio envueltos por macrófagos y después ya del todo libres.

En cuanto á las sustancias inyectables ó los líquidos purulentos el céfalo-raquídeo y la orina pueden ser inculados directamente, y los esputos y los líquidos serofibrinosos por modificaciones especiales. Consisten en lo siguiente.

El esputo disociado en dos ó tres c. c. de suero esterilizado se coloca en una cajita de Petri **aséptica** y llevado á la estufa una hora á 54°. y al día siguiente 20' con lo que el bacilo de Koch conserva su virulencia y los otros nó.

Los líquidos serofibrinosos es preciso someterlos primero á hidro-hemolisis.

F.) Precipito-reacción.

El frances Bonome ha sido quien por primera vez ha aplicado la reacción precipitante al diagnóstico de la tuberculosis, uti-

lizando para ello como sustancia precipitante extractos de bacilos de Koch ó extractos de órganos tuberculosis.

Según Bonome su método es excelente, nó sólo para el diagnóstico de la tuberculosis sino también para diferenciar las infecciones provocadas por el bacilo humano de los originados por el bacilo bovino.

Sin embargo, es preciso confesar que si bien es cierto que la reacción es bien distinta en los tuberculosos de los que nó lo són apenas si és posible establecer diferencias entre los enfermos por el bacilo de Koch y los enfermos por el bacilo bovino .

Por otra parte Stoerk afirma que la reacción falta en los lúpicos y Damman y Stedeferer dicen que nó se produce jamás si como precipitante se emplea ún extracto que espontaneamente nun-



Lámina 3^a.- Técnica de la leuco-reacción. Indica esta figura la manera de sacar de la ampolla el líquido que sobrenada encima de la sangre depositada por centrifugación en la parte afilada de aquella.= Al margen y en la parte superior izquierda. A. Ampolla con sangre mezclada con suero y B. La misma después de centrifugada.= En la parte inferior derecha una ampolla con sangre centrifugada y sin líquido que se extrajo por aspiración.

ca precipita.

Detenidas investigaciones realizadas por F. Bezancou y H. de Sorbonnes han quitado todo valor al método por que casi todos los enfermos tuberculosos ó nó á excepción de los nefríticos y asistólicos han dado precipitaciones tanto mas intensas cuanto más lo és la infección que padecen.

En cuanto á detalles de técnica, afirman los últimos autores citados que se debe empleár el suero nó calentado por que el que lo está tiene muy disminuido el poder precipitante; por otra parte, hay que hacér la reacción lejos de las comidas por que éstas ejercen una influencia negativa sobre la precipitación.

Vincent y Combes utilizan el líquido céfalo raquideo como precipitina para lo cual mezclan una gota de tuberculina y ciento

de líquido céfalo raquídeo y se coloca en la estufa á 37°. apareciendo el precipitado entre 10 y 12 horas despues.

Fousset por su parte utiliza ún procedimiento semejante para descubrir la presencia de tuberculina en la sangre y en los humores por medio de ún suero precipitante obtenido del conejo, asno ó cabra, mediante la inoculación de bacilos humanos. Es el procedimiento muy sensible y de fundamento parecido al de la fijación.

G.) Investigación del índice opsónico .

Las opsoninas (del griego opsono, yo preparo) han servido á Wright para establecér ún método diagnóstico de la tuberculosis por medio de la determinación del llamado índice opsónico, entendiendo por éste la relación que existe entre el poder opsonizan-

te del suero normal y el del suero del enfermo sospechoso.

Técnica - En las llamadas experiencias de opsonización intervienen tres factores: el leucocito, el microbio que ha de ser fagocitado y el suero opsonizante.

12. Preparación de los leucocitos - Por punción del dedo se recogen de 30 á 40 gotas de sangre en un tubo de centrifugación que contenga 10 c.c. de agua salada filtrada (agua 1000 gramos: cloruro sódico 9 gramos: citrato sódico 15 gramos) á fin de evitar la coagulación. Se mezcla intimamente la sangre con el agua y se centrifuga con gran cuidado y por medio de una pipeta se retira el líquido que nada encima del depósito sanguíneo. Se agregan otros 10 c.c. de agua salada citrada se centrifuga &2. y así sucesivamente otros 3 ó 4 veces hasta que por último se retira

el líquido é inclinando ligeramente el tubo, con una pipeta de Pasteur se aspira la capa superior del depósito de sangre que contiene los glóbulos blancos.

Preparación de la emulsión microbiana = Paratuberculosis

La paratuberculosis espontánea se utilizan cultivos de bacilo de Koch de 24 horas ; Una cosecha se diluye en 2.c.c. de agua salada isotónica, agitando repetidas veces á fin de conseguir que el líquido adquiriera un aspecto turbio, lo que indica que la emulsión es homogénea y esterilizándola finalmente á 60° - durante media hora.

Preparación del suero .- Por punción del dedo del enfermo se saca un poco de sangre . En un tubo de vidrio aséptico se deja coagular y se centrifuga después: sobre nada el el suero que se recoge con una pipeta .

Práctica de la cõsonizacion = En un extremo de un tubitode vidrõo de unos 0'005 ms. de diametro se coloca una perita de caoutchouc, y en el otro á los 2 centímetros de la punta se hace una señal. Se aspira una primera columna de lenecitos que tenga esa longitud de 0'02 metros; luego una burbuja de aire; despues una columna de suero de otros 0'02 mts, otra burbuja de aire, y por último una columna de emulsion microbiana de 0'02 ms.

Despues de esto, lastres columnas se colocan en un porta y se aspiran de ~~mano~~; pero ahora formando una sola columna. Se cierra el tubo á la lámpara, y se coloca en la estufa á 38 ° durante 15 minutos.

Así se preparan dos tubos: uno que contiene suero normal, y otro suero patológico, con el objeto de tener un término de compa-

racion por que es imposible poseer emulsiones siempre iguales.

Para determinar el índice se calcula 1º el poder opsonizante del suero sospechoso y despues el del suero normal, ambos con la misma emulsion microbiana; se divide el 1º por el 2º y el cociente nos indica el valor de aquel. Para averiguar el poder opsonico de un suero se cuentan un número determinado de polinucleares, y los microbios que contienen. El cociente indica ese valor Así si 50 leucocitos han englobado 140 microbios el poder opsonico del suero en donde la experiencia se hizo, es de $140:50=2^{\circ}80$.

Resultados. Segun Wright el índice opsonico normal que es de $0^{\circ}80$ á $1^{\circ}20$ (de $0^{\circ}96$ segun Bulloch) baja en las tuberculosis locales, activas ó latentes. En las tuberculosis pulmonares por el contrario los resultados no son tan constantes. En los curados el

índice es muy elevado y en los latentes muy bajos, Es preciso sin embargo tener en cuenta conforme ha demostrado Milhit que si el sujeto en quien se hace la experiencia tiene un proceso agudo, el resultado nada indica por que el sarampion varicela y escarlatina disminuyen el valor del índice y el tífus le aumenta.

H.) Anafilaxia.

Fundados en los estudios de Richet sobre lo que él ha llamado anafilaxia (que quiere decir lo contrario de filaxia, esto es lo opuesto á la proteccion) se han ideado algunos procedimientos diagnósticos de la tuberculosis. Son unos anteriores á los trabajos de Richet y por lo tanto no fundados en ellos; son otros posteriores y por ende basados en los mismos.

Entre los primeros estan los siguientes:

= 97 =

Procedimiento de Merieux = Este autor aconseja inyectar el líquido sospechoso (sangre 2 c.c. serosidad de vejigatorios 3./5) á un cobayo tuberculoso fundándose en que en la sangre ó en el suero debe haber tuberculina que provoca en aquel una reacción térmica si es tuberculoso.

Cada dos horas y por espacio de 36 se toma al cobayo la temperatura. Si la reacción es positiva se provocan dos accesos térmicos de 12 á 22; uno de 2 á 6 horas y el 22 entre las 24 y 30 horas después de la inyección.

El fenómeno de Marmoreck y la tuberculina-reacción indirecta

= El fenómeno de Marmoreck que en realidad es muy usado, tiene por fundamento lo que sigue. si á un cobayo se inyecta una emulsión de bacilo de Koch el animal no presenta reacción ninguna, pero si

= 98 =

un cuarto de hora despues inyectamos un tercio de milímetro cúbico de tuberculina la temperatura se eleva bastante.

Puede suceder que la cantidad de bacilo sea muy pequeña en cuyo caso podemos obtener la tuberculino-reaccion precoz si inyectamos la toxina en la masa cerebral del animal de peso medio y a temperatura que no exeda de 38./5; á los 30' se le inyecta por trepanacion en el cerebro la $\frac{1}{80}$ de una gota de tuberculina produciéndose la reaccion á las dos ó tres horas .

En cuanto á la explicacion del hecho dice Marmoreck que es debido á que la tuberculina al ponerse en contacto del bacilo de Koch le hace segregar una nueva toxina termógena. Hay que confesar que no todos los autores estan conformes con esta opinion y que el método por delicado y poco práctico ha tenido exito nada

lisenjero.

Pero estos procedimientos tienen sus inconvenientes á saber.
1^o Que la temperatura del cobayo es muy elevada (de 38 á 40 °) y sobre todo sometida á grandes oscilaciones lo que constituye un posible motivo de error y 2^o Que en el procedimiento de Marmoreck el hecho de inyectar á través del cráneo la tuberculina supone ya un traumatismo capaz de elevar por sí solo la temperatura. El mismo Marmoreck ha producido una elevación térmica de 1/4° con un producto no tuberculoso.

Entre los métodos fundados en la anafilaxia merece citarse solo el de Yamamouchi quien inyecta en el peritoneo de un conejo 500 á 600 gr.^s 5 c.c. de sangre, de serosidad de vejigatorio ó de líquido pleural ó ascítico con lo que segun él se confiere al ani-

= 100 =

mal el estado anafiláctico. Transcurridos dos días se inyecta al animal en las venas 5.c.c. de residuos de tuberculina antigua que provoca la muerte del conejo al cabo de muy poco tiempo desde algunos minutos á una ó dos hora, con disnea convulsiones & esto es, con el cuadro clásico de la anafilaxia,

De todos los procesos tuberculosos solo dejan de presentarse las meningitis y tiene el método la gran ventaja sobre las otras reacciones con tuberculina de que la tuberculosis curadas no la presentan.

1) Reacción del veneno de la cobra.

En las investigaciones de de Breton, Massol y Colinette acerca de las propiedades activadoras de los sueros sobre el veneno de la cobra, está fundado el método de que ahora voy á ocuparme.

- 101 -

Desde que Kyes, Sachs y Colinette se sabe averiguaron que el veneno de la cobra no es hemolítico de los hemoties del buey cabra & excepto en el caso de que contenga lecitina como sucede con el de ciertos animales perro, caballo &) ó con el del buey, el suero sanguíneo no calentado. El del hombre sano no contiene lecitina y ~~perende~~ el suero calentado del recién nacido no activa el veneno de la najá hajeus.

Pero si se trata de un hombre ó un buey tuberculosos la reacción hemolizante del veneno de la cobra con respecto á los hematies de la cabra se presenta, Hay que suponer que aquellos contienen lecitina quizá procedente de la destrucción de los bacilos de Koch. Resulta por tanto que si se mezcla sangre de cabra, veneno de cobra y suero sospechoso y se produce la hemólisis de aquella se tra-

tará de un individuo tuberculoso.

Fundándose en la reacción de Bordet - Gengou, Colinette Massol y Breton proponen substituir la reacción anterior por esta otra. Como tanto el bacilo de Koch como la tuberculina tienen una gran afinidad para la lecitina, si al bacilo de Koch le agregamos tuberculina, veneno de cobra y hematies de buey no se produce la hemólisis y la lecitina le desvió la tuberculina; pero si substituímos la lecitina por el suero calentado sospechoso, si el sujeto es tuberculoso no ocurrirá nada; más sí, si aquel es sano.

Como el veneno de la cobra no es muy fácil proporcionárselo este procedimiento que parece muy seguro no ha sido objeto de bastante número de observaciones.

7) REACCION DE FIJACION

Widal y Le Souédque aplicaron por vez primera la reaccion de Bordet y Gengou al diagnóstico de la fiebre tifoidea lo hicieron tambien, á la tuberculosis sucediendo á los suyos trabajos realizados por diversos experimentadores .I del análisis detenido de algunos de ellos puedo indicar que la reacción de Bordet Geugou no da ningun dato que pueda dar luz acerca del diagnóstico ó del pronóstico de la tuberculosis, porque aún suponiendo el resultado muy favorable todo lo más que demuestra es que el sujeto tiene un foco tuberculoso, pero sin revelar si se encuentra en actividad ó en estado latente . Esto desde el punto de vista clínico, que si al asunto lo consideramos desde el té-

nico los defectos son mucho mayores teniendo en cuenta las dificultades inherentes á aquel.

Teniendo presente todo esto Marmoreck ha modificado algun tanto la técnica primitiva del procedimiento sustituyéndola por la que á continuación indicaré, y el fundamento de la cual es el general de la reacción de Bordet. Un antígeno que se pone en presencia de su anticuerpo específico se combina con él por intermedio del llamado complemento sustancia termolábil que pre-existe en todos los sueros . si á la mezcla anterior se añade una nueva antígena y su específico anticuerpo, aquel no podía sufrir la acción de éste porque carece de complemento que fué fijado durante la primera parte de la reacción.

(105)

Para realizar la reacción de fijación se utilizarán:

- 1.º El complemento constituido por suero fresco de cobaya.
- 2.º El antisuero, que es el suero antituberculoso simple de Marmoreck, así llamado porque proceda de caballos inmunizados solo con respecto al bacilo de Koch; 3.º El inúscolorante lo constituye una disolución al décimo de hematies de carnero; 4.º La hemolisina formada por suero de conejo que haya recibido inyecciones repetidas de glóbulos rojos de carnero, suero que ha de estar previamente calculado á 56° y que ha de ser de titulación conocida y comprobada antes de cada reacción; debiéndose utilizar el volumen suficiente para disolver al cabo de 45 de permanencia en la estufa de 37° la cantidad normal de hematies y en presencia des-

(106)

de luego, del complemento. 5.º Orinas frescas de tuberculosos, que según el autor, contiene la toxina tuberculosa.

En un tubito esterilizada se mezclan 0.2 c.c. (0.4 gotas de la pipeta que se considera como normal) de orinas frescas; 0.3 c.c. (0.6 gotas) de suero antituberculoso simple, y 0.05 c.c. (0.1 gota) de suero de cabayán, cuya mezcla permanecerá una hora en la estufa á 37º. agregando á aquella pasado este tiempo 0.3 c.c. (6 gotas) de la disolución al $\frac{1}{10}$ de los glóbulos rojos del carnero y la cantidad de suero hemolítico que se ha comprobado, es suficiente para destruir en 45 esas 6 gotas y después de esto se vuelve á colocar la mezcla en la estufa durante una hora, observándose finalmente el resultado de la reacción.

Como la toxina y la antitoxina tienen mucha afinidad entre sí, al ponerse en contacto se fijarán por intermedio del complemento, y por ende éste no disolverá los glóbulos rojos del carnero permaneciendo el líquido turbio hasta que por su propio peso se depositen aquellos. Pero si el sujeto no es tuberculoso la toxina, producida por el bacilo de Koch el complemento no se fijará y en el 2^o tiempo de la reacción éste disolverá los glóbulos rojos y entonces el líquido se volverá límpido de color de vino añejo de Burdeos, pudiendo ser estas hemólisis parciales, totales, y nulas.

En cuanto al resultado del método podemos decir con Marmoreck que no ha estado conforme con la clínica de 4'95 % de los ca-

(108)

sos (28 veces en 600 enfermos) y con A. Bergeron el 1'58 % en la serie de tuberculosos y el 4'22 % del número total de enfermos examinados, ó sean 213.

K) URO-REACCION DE MALMEJAC

El farmacéutico mayor del ejército francés Mr. Malmejac ha propuesto muy recientemente un nuevo método de diagnóstico precoz de la tuberculosis.

Fúndase éste en el hecho por él observado de la persistencia en la orina de los tuberculosos de la acidez urinaria durante un tiempo mucho mayor que en los sujetos sanos ó en los enfermos no tuberculosos.

Esta duración que en estos suele ser cuando más de 3 á 7 días, se prolonga en los tuberculosos de 12 á 60 , variando según el grado para el 1.^o 17.- 2.^o 26.- 3.^o 40.

El procedimiento empleado para averiguar la acidez urinaria, consiste en lo siguiente. Se miden 10 c.c. de orina y se agregan 3 gotas de disolución de fenoltaleína al 10 % y una cierta cantidad de agua destilada para disminuir la intensidad de la coloración de aquella, neutralizando la acidez con la solución decinormal de sosa y expresando la acidez en relación con el ácido sulfúrico

La reciente del método (22-9-9-) es la causa de que aún no se conozcan estadísticas acerca de su importancia clínica.



NA 4^a.- Técnica de la leuco-reacción. Esta figura indica el modo de cortar la parte afilada de la ampolla por medio de una pequeña sierra de mano. Al margen una ampolla indicando el sitio por donde ha de cortar aquella.

Ya apunté al comenzar este trabajo la necesidad de un método diagnóstico precoz de la tuberculosis que cumpliera á satisfacción su cometido y por lo tanto lo que antecede se ha tenido ocasión de poder apreciar el gran número de aquellos que en la actualidad existen, así como también de lo relativa que es la su importancia, puesto que descrito que fué cada procedimiento, he indicado los resultados obtenidos.

Demostré allí efectivamente que ninguno de los procedimientos apuntados es de absoluta certeza. Unos que como los particulares no pueden generalizarse, tal sucede por ejemplo con el estudio de los líquidos serofibrinosos y otros los generales que adolecen del defecto, y á no servir nada más que en los niños, co-

no pasa con la cuti é intradermo-reacción, ya de ser importantes no por lo que demuestran sino por lo que no demuestran (intradermoreacción) aparte las consiguientes molestias que ocasionan al enfermo, y aparte también la opinión de Eutz con respecto á la anti-reacción y de Klonig á lo oftálmico-reacción que niegan como dije su especificidad.

Si de los métodos clínicos pasamos á los de laboratorios, nos encontraremos de ordinario con grandes dificultades técnicas que frecuentemente no compensan con la bondad de los resultados obtenidos porque aparte los métodos de certeza como son los de la bacterioscopia, cultivo é inoculaciones que no dejan lugar á dudas desde el momento en que demuestran la existencia del bacilo de Koch los otros ni son fáciles ni son exactos siempre.

(112)

No debemos pues extrañar que permaneciendo en pie aún el doble problema del diagnóstico precoz de la tuberculosis y de la curación de esta terrible enfermedad prosigan con ahínco los hombres de ciencia en el estudio de aquel.

Por eso al leer hace poco tiempo en los Comptes rendus de la Société de Biologie de Paris una comunicación del profesor CH. ACHARD á aquella culta entidad científica he emprendido investigaciones personales acerca de la leuco-reacción por la tuberculina.

- 113 -

C A P I T U L O 22

La leuco-reaccion por la tuberculina.

Me he ocupado anteriormente de todos los medios diagnósticos de la tuberculosis y se ha podido ver que los procedimientos de laboratorio utilizan los humores de los enfermos para originar las reacciones que los caracterizan. Sirvan de ejemplo la aglutinacion, la desviacion del complemento, la determinacion del índice opsonico &c. Es esta manifestación de la tendencia actual de la Ciencia á volver al concepto primitivo de enfermedad.

Apesar de la gran importancia que en los primeros momentos se concedió al papel defensivo de las células de nuestra economia, sino á olvidarias por que no es posible, pues el concepto de la fa-

gocitosis es premisa bien establecida en el campo científico, se ha llegado á hacerlas representar un papel no en armonía con el que ahora se concede á nuestros humores, en virtud de una enconada campaña llevada á cabo por patólogos y bacteriólogos ilustres en contra de la teoría de Metchuikoff.

Comprendiendolo así el profesor Ch. Achard y varios de sus discípulos han emprendido desde hace algunos años interesantes investigaciones acerca de determinadas propiedades de nuestras células defensoras especialmente acerca de su vitalidad, resistencia y actividad que son factores de importancia en la lucha contra la infección.

Consecuencia de semejantes investigaciones al mismo tiempo que un perfecto conocimiento de las ventajas é inconvenientes de

las reacciones con la tuberculina así como de las objeciones que se han hecho á la especificidad de aquellos, pues de ordinario no se tiene en cuenta que el sitio en donde la tuberculina se aplica es vivo y por ende susceptible de reaccionar á su manera ante un reactivo enérgico como es aquella, ha sido la comunicacion dirigida por el sabio profesor citado y por Mr. Henri Bénard á la Société de biologie de París el 13 de Noviembre último, acerca del Leucodignóstico de la tuberculosis.

Resulta por lo tanto que el nuevo método difiere esencialmente de los de laboratorio en que él utiliza los leucocitos no los humores y de los clínicos en que si bien emplea la tuberculina y la misma reaccion que en las tuberculino-reacciones, esto es aflujos de leucocitos y por ende aumento de su actividad, lo hace in vitro

ó sea fuera del enfermo.

Indicado estos antecedentes que he considerado necesarios pasemos ahora á estudiar el

Fundamento científico de la leuco - reaccion.

No es este otro que la actividad leucocitoria.

Sedemostró por vez primera que los leucocitos estan dotados de movimientos amiboides merced á las investigaciones de Warton Jones en el año de 1846. Se continuó estudiando las propiedades vitales de tan interesantes células y en 1858 y en 1862 Haeckel y von Recklinghausen descubrieron las del Thetys, bello molusco gasterópodo y en 1865 MaxSchultze que las del hombre, estan dotadas de la facultad de englobar partículas inertes.

Mas tarde, despues del genial descubrimiento de Mr. Pasteur el estudio de la sangre en el curso de las enfermedades infecciosas demostró que los leucocitos de aquella tenian con gran frecuencia en su interior los microbiosproductores de tales enfermedades (observaciones de Hayem, Birch-Hirschfeld, Klebs. Rindfleisch. Recklinghausen y Waldeyer).

Pero al tratar de interpretar el hecho, todos estuvieron contestes en afirmar que el papel que los leucocitos desempeñaban era pasivo, el de simples vagonetas conductoras de microbios, favoreciendo así la generalización del proceso infeccioso.

Panum en 1874 expresó la idea de que los leucocitos podrian servir para la defensa de nuestra economia mediante la destruccion de las bacterias. Tres años mas tarde P. Grawitz demostró que las

de muguet introducidas en la sangre de los mamíferos son englobadas por los leucocitos y por ende sustraídas del contacto con el líquido sanguíneo. Gaule en 1881 empeñado en demostrar que los Drepanidium que existen en la sangre de la gerbilla de Argelia no son otra cosa que restos de núcleos celulares que han adquirido la forma vermicular, descubrió su destrucción por los fagocitos del bazo de ese animal.

En el mismo año de 1881, el cirujano de Marburgo, Roser, publicó un pequeño tratado sobre los animales inferiores en el que se decía que la inmunidad se debe: 1ª á la cantidad de sal que contienen los humores: 2ª á la propiedad de las células contráctiles de englobar al enemigo que se introduce.

Desde ese mismo año comenzaron los trabajos de Metchnikoff en

Massina y á partir de sus primeras comunicaciones empezó una encarnizada lucha entre él y los partidarios de la teoría humoral de la inmunidad llegando Lister en una ocasión á decir; « si ha existido alguna vez en Medicina un asunto romancesco es el del fagocitismo». Sin embargo los hechos han venido posteriormente á demostrar que la doctrina de la fagocitosis es cierta y que como papel defensivo del organismo debe ocupar un puesto al lado de la teoría humoral de la inmunidad.

De los diversos elementos celulares de nuestra economía, de los fagocitos se dividen en movibles y fijas.

Los primeros son los leucocitos: pero de las varias clases que en la sangre existen sólo los polinucleares son los que poseen esta propiedad muy desarrollado (microfagos de Metchnikoff), poseyendo-

la algo los grandes mononucleares (macrófagos) y nada ó casi los linfocitos.

Los segundos son: algunos elementos celulares del tejido conjuntivo; los endotelios de los capilares; células especiales descritas por Ehrlich, Ranvier y Waldeyer; las células de Kupfer del parénquima hepático, y las células matrices de la médula ósea, del bazo y de los ganglios linfáticos, interviniendo en último término las células epitelivides y gigantes que son consideradas por Conheim y Metchnikoff como leucocitos hipertrofiados ó conglomerados.

Mas como es sabido, si bien es cierto que las células enumeradas estan dotadas de la propiedad de englobar partículas vivientes ó inertes, no lo es menos que necesitan un estímulo, y en la lucha contra la infección son, ya las toxinas microbianas, ya determinadas

sustancias medicamentosas segun establecieron primero Sthal y Pfeffer, y despues Leber, Massart y Bordet Steinhaus y Gabritschewsky. Si la fagocitosis es excitada la sustancia que lo produce, como es sabido, se llama quimiotaxica positiva, y negativa, si produce lo contrario.

La mayoria de los productos microbianos solubles y las sales de yodo, mercurio, antipirina y cloruro sódico pertenecen al primer grupo: las sales de quinina y las toxinas del bacilo del cólera de las gallinas al segundo.

Abundando en estas mismas ideas demostraron Achard, Bénard y Ch. Gagneux que la tuberculina á pequeñas dosis excita la actividad leucocitaria y la es más en los individuos tuberculosos que en los sanos.

Si nosotros averiguamos el número de partículas inertes que aprisionan un número determinado de leucocitos polinucleares de un sujeto sano, obtendremos dividiendo la primera cifra por la segunda un cociente que nos dá el valor de la actividad leucocitaria de aquel y si hacemos lo mismo con un enfermo y dividimos el segundo cociente por el primero el resultado nos dá el valor de lo que Ashford llama índice de actividad leucocitaria.

El valor del índice de actividad leucocitaria oscila en los sujetos sanos entre 0' 40y 1' 10 sin pasar nunca de ahí. y como se comprende expresa un valor absoluto, sea la riqueza de la emulsión la que fuere, porque siempre con la misma emulsión se determinan los dos términos del quebrado siguiente:

Partículas inertes incluidas ----- polinucleares del enfermo	=	Actividad leucocitaria del enfermo
partículas inertes incluidas ----- polinucleares del indivi. sano	=	Actividad leucocitaria normal

Pero es preciso tener en cuenta conforme se indicó más arriba que la fagocitosis es influenciada muy directamente por las propiedades de los medios naturales, por lo que Achard llama poder leuco-activante.

Para determinar este, se procede del mismo modo para averiguar la actividad leucocitaria y conforme se indicará en lugar oportuno: pero como aquí lo que varía es valor del suero se emplearan siempre los mismos leucocitos, y distintos medios, normal y patológico y obtendremos.

(123)

Activ. leuc. en líquido patológico

= Poder leuco-activante

Activ. leuc. en suero normal

Como es natural, para abreviár se puede determinar la actividad ó poder leuco-activante de ún líquido disponiendo al efecto, lo tres tubos siguientes

Tubo 1º	Agua salada citrada Suero normal Emulsión de levaduras Leucocitos normales
Tubo 2º.	Agua salada citrada Emulsión de levaduras Suero normal Leucocitos del enfermo

(125)

Tubo 3^o:-
Aqua salada citrada
Suero del enfermo
Emulsión de levaduras
Leucocitos normales .

La relación $\frac{\text{tubo } 2^{\circ}}{\text{tubo } 1^{\circ}}$ da la actividad leucocitaria del enfermo.

La relación $\frac{\text{tubo } 3}{\text{tubo } 1}$ da el poder leuco-activante del suero.

Ahora bien, si en lugar de utilizar suero del enfermo utilizamos siempre suero normal, solo ó adicionado de tuberculina que como es sabido ejerce una acción quimiotáxica positiva sobre los leucocitos; obtendremos un cociente que será mayor de 1'5 y que expresará el valor de la leuco-reacción por la tuberculina.

ACTIVIDAD LEUCOCITARIA DEL ENFERMO CON TUBERCULINA == Leu-reacción-X
ACTIVI. LUCOCITARIA DEL ENFERM. CON SUERO NORMAL.
que es precisamente el fundamento científico de la leucoreacción
á sea que los leucocitos de los tuberculosos estan más sensibi-
lizados á la acción quimiotáxica positiva de la tuberculina.

Como se comprenderá es esto muy parecido á las experiencias de opsonización de Wright; pero no idéntico porque en estas se determina el índice opsonico comparando la fagocitosis de un microbio patógeno específico por leucocitos normales en el suero del enfermo y en un suero normal.

Hechas estas indicaciones y la aclaración que precede paso á ocuparme de la técnica del método fundamento de esta memoria.

(127)

T É C N I C A
=====

La de la leuco-reacción es bastante delicada para dominarla , y para conseguirlo se necesita, ó bien estar muy ducho en asuntos de Laboratorio micrográfico ó bien dedicarse con ahínco á ella por espacio de algun tiempo. El que esto suscribe, como desgraciadamente no puede incluirse en el primer caso, ha tenido que hacer lo que en segundo se dice. Las indicaciones técnicas que siguen, fruto son de la experiencia sacada en las investigaciones emprendidas, fundadas desde luego en los trabajos del profesor Achard acerca de este asunto.

=====

Para realizar la leuco-reacción necesitase algun material especial que es el siguiente.

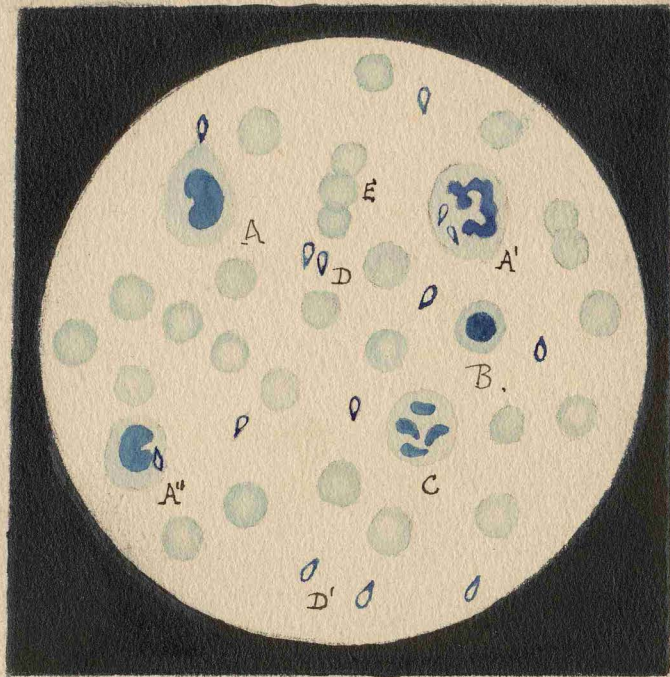
1^o.- Ampollas de vidrio como las de soluciones hipodérmicas, de 2 c. c. de cabida, cortadas circularmente por una de sus extremidades conforme se indica en la lámina 2^a. de parte afilada cerrada á la lámpara y que sea larga, porque así es como se consigue obtener bien la capa de leucocitos.

2^o.- Suero sanguíneo, que puede obtenerse por centrifugación de sangre coagulada, ó mejor utilizando líquido ascítico obtenido con la más rigurosa asepsia y conservando en idénticas condiciones porque excelente medio medio de cultivo se infecta con el desarrollo más insignificante. Tiene el líquido de ascitis la ven-

taja de que de una vez puede obtenerse para gran número de experiencias . Conviene sin embargo renovarlo con frecuencia porque es muy difícil, vuelvo á repetirlo, sino imposible, conseguir que no se infecte.

En sustitución del suero sanguíneo puede emplearse el líquido de Fleig de composición bastante complicada, difícil de preparar, que de ordinario se enturbia después de ser esterilizado y que según parece dificulta algo la actividad leucocitaria.

3^o.- Una emulsión de microbios muertos. En principio Aclsard en unión de Fenillié para determinar el índice de actividad leucocitaria propuso utilizar las partículas de carbón contenidas en una disolución de tinta china , hecha con agua salada citra-



Filipe Millat

Lámina 5.^a.- Resultado de la leuco-reacción. A.A'.A".Polinucleares.con levaduras incluidas. B.Linfocito. C. Polinuclear.D.D'.Levaduras de muguet libres.E. E'. Glóbulos rojos (Coloración por la tionina. Aumento 1,000 diam.)

da; pero observó que no servía porque á la **superficie** de los leucocitos se adherían en gran número como lo demostraba el hecho de que sucedía lo mismo con los hematíes y esto como es natural aumentaba de modo considerable el valor de aquel índice.

En su consecuencia en unión de Félix propuso más tarde el profesor citado medir la actividad leucocitaria por medio de las levaduras de muguet esterilizadas, prefiriéndolas á los microbios muertos porque estos pueden influir en la fagocitosis merced á sus toxinas.

La emulsión de levaduras de muguet se prepara así . De un cultivo de saccharomyces albicans sobre gelosa, de cuatro días de fecha, á fin de que las levaduras sean pequeñas y midan unas 2 ó

(131)

3 micras tan solo , se toman tres ó cuatro oses y en líquido fisiológico esterilizado y al que se agregó formol puro en la proporción de 10 % se mantienen por espacio de 24 horas, transcurridas las cuales en un tubo esterilizado se centrifugan repetidas veces con líquido normal también aséptico hasta que desaparezca el formol para averiguar lo que podemos utilizar la siguiente reacción que descubre cantidades de aldehído fórmico de 1x20,000. A 10 c.c. del líquido procedente de la centrifugación se añaden 3 c.c. del siguiente reactivo

Floroglucina ----- 0'20 grs.
Lejía normal de sosa--20 gotas.

Agua destilada-----20 grs. (Dorronsoro)

Si existe formalina la mezcla tomará un color que ha de osci-

(132)

lar entre el rosa de carne y el rosa vivo .

Si no hay ya fórmula obtendremos la emulsión añadiendo por cada cose que quede después de la última centrifugación 5c.c. del líquido siguiente esterilizado

Cloruro sódico-----	8 grs.
Citrato de sosa -----	6 grs.
Agua destilada -----	1,000 grs.

debiendo agitar muy bien la emulsión antes de usarla porque las levaduras son pesadas y se depositan en la vasija que las contiene, y á fin de conseguir que aquella sea lo más homogénea posible.

Agregando el líquido citrado en la proporción dicha la riqueza de la emulsión debe de ser de unas 60,000 levaduras por milímetro cúbico, pudiendo determinarse aquella colocando una gota

en el porta excavado del cuenta glóbulos de Thoma-Zeiss. La emulsión que yo he utilizado en mis experiencias así calculada tenía unas 59,400 por mm.³

Como quiera que no es siempre fácil procurarse un cultivo de muguet, me parece que puede utilizarse en su lugar otro de bacterium termo (que desaparezca) esterilizado por el mismo procedimiento y obteniendo con él una emulsión cuya riqueza sea de 100,000 bacterias por mm.³. Con ella he conseguido idénticos resultados que con el saccharomyces.

3.^o- Una disolución de tuberculina al 1/500, á cuyo efecto puede utilizarse la solución matriz del Instituto Pasteur agregando á una gota de ella, cuatro de líquido salado.

(334)

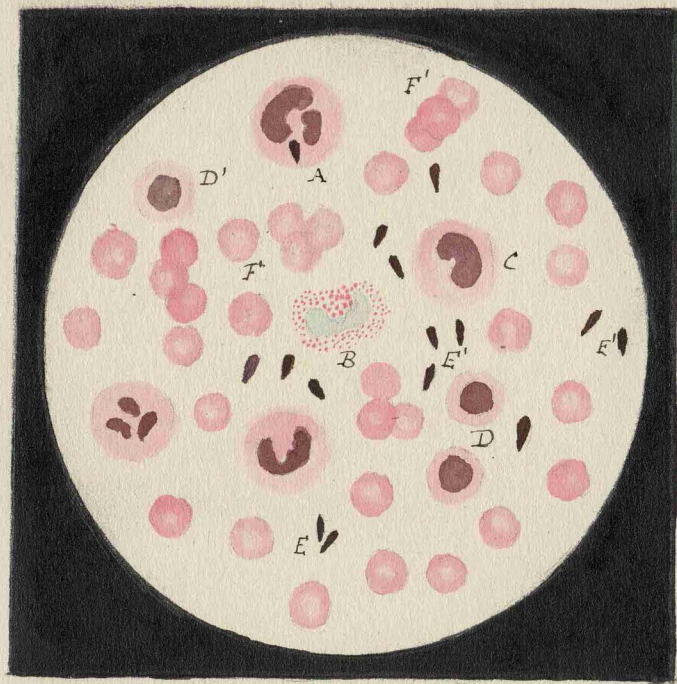
4.^o- Una gradilla especial para colocar las ampollas en la estufa . En la lámina 1.^a- hay un dibujo que representa una que he mandado construir de cobre para mis trabajos .

Aparte de esto como es natural, se dispondrá del material necesario de fijadores, pipetas, reactivos, etc. indispensable en todo trabajo de Laboratorio.

Veamos ahora como se procede en las experiencias de leucoc-
reacción.

En las ampollas preparadas conforme se ha dicho antes (pag. 128) y hervidas en agua destilada y CH₂, primero y después en agua destilada sola á fin de quitarle aquel que se empleó para limpiar-
las bien (1) se echan 10 gotas de suero normal 10 de líqui-

(1) El objeto de emplear epl agua destilada es porque me ha sucedy-



F. Lave J. Millet

Lámina 6^a.- Resultado de la leuco-reacción. A. Polinucleares con levaduras de muguét incluidas. B. Eosinofilo. C. Mononuclear grande
 D. D. Linfocitos. E. E. Levaduras de muguét libres. F. F. Glóbulos rojos. (Coloración por la hematoxilina-eosina. Aumento 1,000 diam.)

do salado citrado de la fórmula ya indicada, al hablar de la emulsion de levaduras de muguet y de esta emulsion. En la mitad de las ampollas colocaremos además gota de la solución de tuberculina al 1/500, numerándolas á fin de que sepamos despues no solo cuales son las que tienen tuberculina y cuales no sino á que enfermo pertenece la sangre en ellas contenida.

por puncion en un dedo del enfermo añadiremos una gota de sangre que cuidaremos no sea muy grande por que sino se coagulará parcialmente y esto hay que evitarlo. Inmediatamente despues que haya caido la gota de sangre en el líquido de la ampolla que se habrá tenido la precaucion de que lo haya hecho sin rozar la piel ni las

(1) do con frecuencia que el agua de fuente deja á veces muchas sales de cal insolubles que me coagulaban la sangre en las ampollas.

= 136

paredes de aquella, con una pipeta aspiraremos con rapidéz y de 75 á 100 veces el líquido que contiene. (1). Si nó lo hacemos así la sangre indefectiblemente se coagulará.

Hecho ésto colocaremos la gradilla que contiene las ampollas, en la estufa en donde permanecerá una hora á 37°.

Transcurrido éste tiempo, centrifugaremos los tubitos por espacio de 5 á 10 minutos. Despues y conforme indica la lámina 3a con una pipeta se aspira todo el líquido que nada encima de la sangre depositada por centrifugación.

Con una pequeña sierra de vidrio se corta la parte afilada de la ampolla en la unión de los dos tercios inferiores por el superior (1) Es conveniente que la pipeta nó sirva nada más que una vez en cada sesión, porque al depositarse la sangre en sus paredes, se coagula y el fibrino-fermento que queda libre, coagula á la que se aspire después.

= 137 =

lámina 42): se desperdician aquellos y en un porta se sopla este que contiene los leucocitos hemáticos y levaduras de muguet.

Una vez en el porta la sangre se extiende muy bien á fin de que la capa adherida á aquel sea del espesor de una célula. Es más cómodo con el objeto de no hacer muy extensa la preparación aspira el exeso con una pipeta y trasladarlo á otro ó otros porta objetos.

Después se fija la preparación. De los diversos fijadores de la sangre; calor, alcohol - éter, líquido de Flemming, de Bouin, de Dominici &, los mejores para frotis son sin género de duda los dos últimos, sobre todo el de Dominici cuya composición es la siguiente

Tintura de iodo ----- 3 g.

Disolución saturada en

caliente de $\text{Cl}_2 \text{Hg}$ ----- 30g.

= 138 =

Háganse reaccionar, fíltrese y añádanse 10 c.c de disolución acuosa de formol al 1/10. Colóquense las preparaciones en la estufa á 37 °C. durante 2 minutos, No ténganse menos de este tiempo por que los glóbulos rojos se estrellan, ni más por que ellos y los blancos se contraen y se destruyen. Sepuede fijar aun más agregando al reactivo de Dominici unas gotas de solución acuosa de C₁₄ Pt al 1

Es como digo antes un admirable fijador de las células de la sangre. Hay que tener la precaucion cuando se le emplea de adherir algo la sangre al porta pasándolo una ó dos veces por la llama por que como fija casi instantáneamente si la sangre no está adherida al porta el reactivo la despega y se pierde la preparación. El reactivo de Beauin que dá tambien buenos resultados aunque no tanto como el anterior se compone de

(139)

Formol puro _____	10 grs.
Acido acético cristalizante _____	2 grs.
Sol. ⁿ saturada de acido pi- crico _____	30 grs.
Sol. ⁿ de Cl ₄ Pt. al 1 % _____	10 gotas

Por último si no se dispone de ninguno de los dos reactivos dichos, se puede muy bien substituir por una solución acuosa de saturada de Cl₂ Hg.

Después de fijada la preparación se colorea. Para ello podemos utilizar, referentemente los siguientes métodos.

1º. Metastains : líquido de Graham ; decoloración por alcoholéter para que las hemáticas sean menos aparentes. Los núcleos de los leucocitos son violeta pálido; las levaduras de muguet violeta obscuro.

(140)

0. Tichina en solución acuosa al 1 % . Los hematies son verdes; el núcleo de los leucocitos azul oscuro el protoplasma azul muy pálido y las levaduras solo se colorean en su membrana y en su núcleo, más no en su protoplasma que por ser refringente resalta mucho incluido en los fagocitos . He de advertir que con este colorante si se utiliza el reactivo de Dominici es preciso lavar muy bien la preparación antes de colorearla porque el citado reactivo precipita la tichina.

Después de terminadas las preparaciones se procede al cálculo de la leucoreacción, para lo cual se cuentan, los leucocitos que existen y se representan; los que no tienen ninguna levadura por un 0 y los que las tienen por el número de ellas incluido, haciendo lo primero con las preparaciones que tienen tuberculina y después

(141)

con las que tienen suero normal solo .

Finalmente se suman las levaduras incluidas y se dividen por el número de leucocitos polinucleares observados: el cociente de

Levaduras incluidas

Leucocitos polinucleares

nos dará según se dijo antes el valor de la actividad leucocitaria; con la tuberculina primero y con el suero después. Dividiendo el cociente primero por el segundo tendremos el valor de la leuco-reacción. Si se han hecho varias preparaciones es conveniente contarlas como si fuesen una sola ya de tuberculina, ya de suero. Las de la enferma número 1 de la sala de Santa Anaía dieron el resultado siguiente :

(142)

Medio tuberculizado= Leucocitos 1414082001100000301000013 = 83
levaduras : 84 leucocitos = 0'95.

Medio normal = Leucocitos 1000020010020 = 6levaduras : 13leucoci-
tos = 0'46

$$\frac{0'95}{0'46} = 2'06$$

que es el valor de la leuco-reacción positiva en esa enferma.
Como se dijo al hablar del fundamento científico del leuco-diag-
nóstico si el valor de éste se encuentra por encima de $\approx 1'50$ se
puede considerar como positivo . Si el resultado está próximo á
esa cifra debe repetirse la experiencia y si el valor que de nue-
vo resulta es el mismo debe considerarse desde luego ya definitiva-
mente como positiva ó negativa según esté por encima ó por deba-

(143)

jo de aquella cantidad . T

Tal es la técnica del procedimiento de Achard. Siguiéndolas al pié de la letra creo que no se encontrarán las dificultades con que al principio tropezé yo y que solo á fuerza de paciencia de de una parte y merced á los amables consejos de Mr Achard de otra, he conseguido vencer.

====

(144)

-OBSERVACIONES

En las diversas enfermerías del Hospital de San Juan de Dios de Granada, he emprendido investigaciones experimentales con el objeto de averiguar la importancia diagnóstica de la Leuco-reacción con la tuberculina. Al mismo tiempo en quienes la practiqué hice también la intradérmica. El número de enfermos observados es el de 56 divididos en tres grupos .1º Sospechosos. 2º Tuberculosos evidentes y 3º No tuberculosos. A estos dos últimos grupos los subdividiré al mismo tiempo en otros dos ; al primero en: A) afectados de tuberculosis médicas y B) enfermos de tuberculosis

(145)

quirúrgicas y al 29 en A) afectos de enfermedades médicas no tuberculosas y B) idem quirúrgicas .

Para formular el diagnóstico me he valido, en primer lugar del juicio clínico de mis maestros y de los señores médicos de la Beneficencia Provincial granadina y en segundo de los métodos de certeza que en la actualidad se poseen .

1º grupo. Enfermos sospechosos

OBSERVACION nº 1- Clínica Médica de S. Rafael nº 12 - Profesor D.^r Velázquez de Castro (D. Antonio) -Enfermo Juan Martínez Martín. 23 años, soltero, Santafé (Granada) Padeceió una bronconeumonía grippal, quedando muy debilitado después; se sospechó una tuberculosis pulmonar. Análisis de esputos negativo en el

(146)

sentido de no haber bacilos de Koch .

Intradermo-reacción negativa .

Leuco-reacción negativa = $0'83 = \frac{\text{Act. leuc. con la tuberculina } 0'26}{\text{Act. leuc. con el suero. } 0'31}$

OBSERVACION nº 2.- = San Fernando nº 6 = Dr. Godoy. Enferma Luisa Ventura Robles - 26 años . Almería . Puerpera de 17 días, sospechosa de tuberculosis pulmonar. No hay bacilos en los esputos
Intradermo-reacción positiva de mediana intensidad

Leuco-reacción negativa = $1'21 = \frac{\text{Act. leu. con la tuber.} = 0'40}{\text{Act. leu. con el suero } 0'33}$

OBSERVACION nº 3 = Santa Amalia nº 1 = Dr. Pareja Garrido = Enferma Dolores Martin Rodriguez - 22 años casada - Orgiva (Gra-

(147)

naña) = Osteitis de la rama del pubis, con caracteres clínicos de tuberculosis: en el pus no se encontraron bacilos de Koch. Intradermo-reacción; Mediana.

Leuco-reacción positiva=2'06 $\frac{\text{Act. leuc. con la tuber.} - 0'95}{\text{Act. leuc. con el suero.} \quad 0'46}$

OBSERVACION nº 4- Antigua clínica de niños, hoy Quirúrgica 2º curso.- Profesor. Dr. Pareja Garrido .- Antonio Martínez Gallardo 23 años Puente Genil (Córdoba)- Artritis sospechosa de tuberculosis de la rodilla izquierda.

Intradermo-reacción.- Negativa.

Leuco-reacción positiva=2'20= $\frac{\text{Act. leuc. con la tuber.} - 0'44}{\text{Act. leuc. con el suero.} \quad 0'20}$

(148)

OBSERVACION nº 5.- Clínica de operaciones. San Francisco nº 6
Dr. Escribano.- Enfermo Juan Fuentes Rueda, 35 años, casado, Al-
caudete.- Diagnóstico dudoso entre osteitis sífilítica costal y
proceso tuberculoso. Tratamiento antisifilítico de resultado ne-
gativo.

Intraderno-reacción= Positiva, de mediana intensidad.

Leuce-reacción positiva=1'96= $\frac{\text{Actv. leuc. con la tub.}=0'65}{\text{Actv. leuc. con el suero}0'33}$

OBSERVACION nº 6 = San Vicente nº 1- Dr. Velázquez de Castro(D.
Antonio)- Enferma Antonia Méndez Martínez, 24 años, casada. Guada-
hortuna (Granada) Sospechosa de tuberculosis pulmonar.

Intraderno-reacción positiva de mediana intensidad.

(150)

Intradermo-reacción.- No pudo ser hecha por fallar la enferma.

Leuco-reacción negativa=1'39= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leuc.con el suero.}} = \frac{0'46}{0'33}$

La autopsia reveló un pequeño foco neoplásico canceroso de los ganglios mesentéricos

OBSERVACION nº 9.- San Antonio 17= Profesor Dr. Márquez.-Enferma Maria Guerrero Recio, 41 años; casada. Granada. Diagnóstico dudoso de peritonitis tuberculosa.

Intradermo-reacción Positiva de mediana intensidad.

Leuco-reacción negativa=1'25= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leuc.con el suero.}} = \frac{0'94}{0'75}$

(151)

29 Grupo. Enfermos tuberculosos

A) Tuberculosis médicas.

OBSERVACION nº 10. .- San Rafael 27. Dr. Amos y Rico.- Enfermo José Higuera Alvarez, 57 años; casado. Granada.- Tuberculosis Pulmonar; bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción positiva de m.i.

Leuco-reacción positiva-2'61= $\frac{\text{Activ. leuc. con la tubec.}}{\text{Activ. leuc. con el suero.}} = \frac{0'89}{0'34}$

OBSERVACION nº 11.- San Rafael 6. Dr. Velázquez de Castro.-En-

(152)

fermo Antonio Molina Mejias. 52 años. Granada.--Tuberculosis pulmonar bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción positiva de m.i.

Leuco-reacción positiva-3'70= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 1}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'27}$

OBSERVACION nº 12.- San Rafael 9.-Dr. Velázquez de Castro.--Enfermo José Moldero Mesa. 36 años.-Granada.--Tuberculosis pulmonar: Bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción .-No pudo ser realizada por haberse ido.

Leuco-reacción positiva-1'63= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'77}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'47}$

(153)

OBSERVACION nº 13.- San José nº 9.- Dr. Garrido Quintana.- Enfermo Diego Larios de la Cruz.- 37 años, casado. Granada. - Tuberculosis pulmonar: bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción.-Positiva de m.i.

Leuco-reacción positiva= $2 \frac{1}{2}$ = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuberc. } 0'70}{\text{Activ.leuc.con el suero. } 0'30}$

OBSERVACION nº 14.- Jesús y María 18.- Enferma Manuela Mena Pó-sito.-36 años, viuda.-Alorno (Huelva) Tuberculosis pulmonar: bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción= Positiva de m.i.

Leuco-reacción positiva=2= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuberc. } = 1}{\text{Activ. leuc. con el suero. } 0'50}$

(154)

OBSERVACION nº 15.- San Joaquín 16= Dr. Fernández Osuna.- Enfermo José Vico Medina.- 25 años Granada. - Tuberculosis pulmonar: bacilos de Koch.

Intradermo-reacción positiva = M. i.

Leuco-reacción positiva=1'75= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'70}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'40}$

OBSERVACION nº 16.- San Joaquín 8.-Dr. Fernández Osuna.-Enfermo Antonio Ruíz Garcia.-26 años,. Motril (Granada) Tuberculosis pulmonar; bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción .- Negativa.

Leuco-reacción positiva=1'70= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'70}{\text{Activ.leuc. con el suero.} \quad 0'41}$

(155)

OBSERVACION nº 17.-San Joaquín 7.-Dr. Fernández Osuna.- Enfermo Juan Porquera Yéranos.- 35 años, casado. Baza (Granada) Tuberculosis pulmonar con bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción. Negativa.

Leuco-reacción positiva = $2 = \frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'66}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'33}$

OBSERVACION nº 18.- San Antonio 2.-Dr. Fernández Osuna.- Enferma Maria Cruz Diaz.- 21 años, soltera. Gerez del Marquesado. Tuberculosis pulmonar: bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción.- Positiva. M.i.

Leuco-reacción positiva = $1'83 = \frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'66}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'36}$

(156)

OBSERVACION nº 19.- San Antonio 3.-Dr. Fernández Osuna .- Enferma: Trinidad Fernández Castro.-18 años, soltera. Maracena (Granada). Tuberculosis pulmonar con bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción = Positiva intensa.

Leuco-reacción positiva = 1'84 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'61}{\text{Activ.leuc.con el suero.} = 0'33}$

OBSERVACION nº 20.-San Antonio 4.- Dr. Fernández Osuna.- Enferma, Carmen Ortega Vázquez.-43 años, cañada, Molvizar (Granada) Tuberculosis laríngea; bacilos en los esputos.

Intradermo-reacción = Positiva frustrada.

Leuco-reacción positiva = 2'36 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'78}{\text{Activ.leuc.con el suero.} = 0'33}$

(157)

B) Tuberculosis quirúrgicas.

OBSERVACION nº 21.-Santa Amalia 2.-Dr. Pareja Garrido. Enferma
Carmen Garcia Bugés. - 19 años , soltera .- Gerez del Marquesa-
do.(Granada) Artritis tuberculosa de la rodilla.

Intraderno-reaccion .Positiva,intensa.

Leuco-reacción positiva = 1'88 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leuc.con el suero.}} = \frac{1}{0'53}$

OBSERVACION nº 22.-Santa Amalia 3.4 Dr. Pareja Garrido.- Enferma
Carmen Delgado Castillo.-16años.Soltera.-Vélez Benaudallá -Coxal-
gia.

Intraderno-reacción positiva.n.i.

(158)

Leuco-reacción positiva = 2'12 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'70}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'33}$

OBSERVACION nº 24.- S. Francisco 5.- Dr. Escribano. Enfermo. Juan Antequera Sánchez.- 22 años, soltero. Almuñecar (Granada) Mal de Pott. Intradermo-reacción positiva.M.

Leuco-reacción positiva=4'66 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 1'40}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'30}$

OBSERVACION nº 25.-S. Francisco 7.- Dr. Escribano.- Enfermo Francisco González Garcia. 30 años, Casado.- Gabia Grande.- Mal de Pott. Intradermo-reacción. No pudo ser hecha por haberse ido de la Sala Leuco-reacción positiva=2'75 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'33}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'12}$

(159)

OBSERVACION nº 26.-S. Francisco 11.- Dr. Escribano.- Enfermo

José Guzman Cortés.-29 años.Soltero.Motril.-Mal de Pott.

Intradermo-reacción positiva.M.

Leuco-reacción positiva = 2'07= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'56}{\text{Activ.leuc.con el suero.} = 0'27}$

OBSERVACION nº 27.-Saleta de San Joaquín 14.- Dr. Escribano. En-

fermo Enrique Garcia Jiménez.-15 años,-Granada.-Fístula por ostei-
tis del isquión al parecer tuberculosa. Curado.

Intradermo-reacción positivaM.

Leuco-reacción negativa = 0'62 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'20}{\text{Activ leuc. con el suero.} = 0'32}$

OBSERVACIÓN nº 28.- Saleta de San Joaquín 12.- Dr. Escribano.-

(100)

Enfermo, Francisco Enriquez Reina.-13 años. Granada.- Mal de Pott.
Intradermo-reacción positiva. M.

Leuca-reacción positiva = 2'82 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'65}{\text{Activ. leuc. con el suero.} \quad 0'23.}$

OBSERVACION nº 29.-Saleta de S. Joaquín 9.- Dr. Escribano. Enfermo Domingo Mingorance Vasces.-30 años. Casado.- Salobreña. Mal de Pott.

Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción positiva= 1'96 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'55}{\text{Activ. leuc. con el suero.} \quad 0'28}$

OBSERVACION nº 30.-Saleta de S. Joaquín.-Crujía 11- Dr. Escribano

(161)

Bartolomé Galvez Cruz.-33 años ,casado .- Absceso frio preesternal
y del muslo derecho.

Intradermo-reacción positiva. M

Leuco-reacción positiva = 2'04= $\frac{\text{Activ. leuc.con la tuber.} = 0'90}{\text{Activ.leuccon el suero.} \quad 0'44}$

OBSERVACION nº 31.-S. Pablo 12.- Dr. Mesa Moles.- Enfermo José
Membribe Herreria.- 21 años,casado.-Serón (Almería) Eleuresia
tuberculosa operada: en el pus aún hay bacilos de Koch.

Intradermo-reacción negativa.

Leuca-reacción positiva= 2'22= $\frac{\text{Activ. leuc.con la tuber.} =1}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'45}$

(162)

OBSERVACION n.º 32.-S. Damian 4.- Dr. Escribano.- Enferma Maria Pardo Sánchez.-18 años, soltera.- Iznalloz (Granada) Artritis tuberculosa de la rodilla al parecer curada.

Intradermo-reacción. No pudo ser hecha por haber sido dada de alta

Leuco-reacción negativa= 0'95= Activ.leuc.con la tuber.= 0'15
Activ.leuc.con el suero. 0'16.

OBSERVACION n.º 33.- S. Damian 8.- Dr. Escribano.- Enferma Francisca Ocaño Carmona. 21 años, casada. Martos.- Coxalgia al parecer

curada..

Intradermo-reacción negativa.

Leuco-reacción negativa= 1'25 = Activ.leuc.con la tuber. = 0'50
Activ.leuc.con el suero. 0'40



LÁMINA 7^a.— Intradermo-reacción positiva intensa. Enfermo á quien se refiere la observación n^o.34 de la estadística presentada en esta Memoria.

(163)

OBSERVACION nº 34. Santa Natalia 2 .- Dr. Márquez. Enfermo .Francisco Torres Moral .- /3 años . Granada. Artritis tuberculosa dela rodilla izquierda.

Intradermo-reacción positiva: muy intensa.

Leuco-reacción positiva. = 1'61 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber. } 0'79}{\text{Activ. leuc. con el suero. } 0'49}$

OBSERVACION nº. 35.- Santa Rita nº 6 .Dr. Amor y Rico. Enferma Sofia Bolaños Jiménez. 19 años. Soltera. La Zubia Granada. Artritis tuberculosa del codo derecho: operada y casi curada. No hay bacilo
Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción negativa = 1'50 = $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber. } = 0'75}{\text{Activ. leuc. con el suero. } 0'50}$

OBSERVACION nº 36.- Santa Rita nº 1. Dr. Amor y Rico. Enferma Rafaela Expósito Serrano. 5 años . Carcabuey (Cordoba) Mal de

(164)

Pott.

Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción positiva= 1'38= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber} = 0'66}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'35}$

OBSERVACION n.º 37 .- San José 7 . Dr. Garrido Quintana.- Enfermo Manuel Ruiz López de 22 años. Soltero. - Ezcúzar (Granada) Osteitis costal tuberculosa operada y curada.

Intradermo-reacción negativa=1'40= $\frac{\text{Activ leuc.con la tuber.} = 0'35}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'25}$

OBSERVACION n.º 33.- San José 10.- Dr. Garrido Quintana.- Enfermo Faustino Navarro Robles. 26 años. Soltero . Maria (Almeria) Mal de

(165)

Pott.

Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción positiva=1'79= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leuc.con el suero.}} = \frac{0'52}{0'29}$

OBSERVACION nº 39.-Virgen 6.- Dr. Garrido Quintana. Enferma Dolores Grantes Mora. 27 años .Soltera. Granada. Lupus con lesiones destructivas de la nariz.

Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción positiva= 2'77 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leuc.con el suero.}} = \frac{0'75}{0'27}$

OBSERVACION nº.40.- San Antonio 23.- Dr. Márquez. Enferma Maria Ledesma López. 28 años .Soltera. Valladolid. Artritis tuberculosa de

(166)

hombro izquierdo.

Intradermo-reacción positiva intensa.

Leuco-reacción positiva = 2'41 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 1'11}{\text{Activ.leuc.con el suero.} = 0'46}$

OBSERVACION nº 41.- San Antonio 28.- Dr. Márquez.- Enferma Esperanza García Payés.- Guadix.- Baños - Osteitis tuberculosa de los metacarpianos , y metatarsianos.

Intradermo-reacción positiva intensa.

Leuco-reacción positiva = 4'19 = $\frac{\text{Activleuc.con la tuber.} = 1'72}{\text{Activ.leu.con el suero.} = 0'41}$

(167)

Enfermos clinicamente no tuberculosos

A) Afecciones médicas

OBSERVACION n.º 42.- S. Rafael Cruzia 2.- Dr. Velázquez de Castro.
Enfermo Antonio Gutiérrez Robles. 60 años. Baza. Laringitis cata-
rral crónica.

Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción negativa = 0'51 = $\frac{\text{Activ.leuc.con la tube.} = 0'62}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 1'21}$

OBSERVACION n.º 42.- S. Joaquín 15. Dr. Fernández Osuna.- Enfermo
Francisco Moreno Coca. Montefrío. 27 años. Gastritis crónica.

(168)

Intraderno-reacción positiva M.

Leuco-reacción negativa=0'92= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leu.con el suero.}}$ = $\frac{0'37}{0'40}$

OBSERVACION nº 44.-S. Joaquín 16.-Dr. Fernandez Osuna.- Enfermo Luis Solsona Quesada.- 35. Casado.Alneria.-Estenosis aórtica reumática bronquitis por lesión cardíaca, y sífilis terciaria.

Intraderno-reacción negativa.

Leuco-reacción negativa= 1'32= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.}}{\text{Activ.leuc.con el suero.}}$ = $\frac{0'66}{0'80}$

OBSERVACION nº 45.- S. Joaquín 9.- Dr. Fernández Osuna. Enfermo Francisco Carrasco Serrano. 36 años. Puente Genil.Soltero.Enteritis crónica.

(169)

Intradermo-reacción negativa.

Leuco-reacción negativa -1'10" $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'55}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'50.}$

OBSERVACION n^o 46 .-- S. Joaquín 4.-Dr. Fernández Osuna.- Enfermo José García Villar.- 56 años. Soltero. Granada. Enfisema y bronquitis crónica. Intradermo-reacción positiva M.

Leuco-reacción negativa -1'02" $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'42}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'41.}$

OBSERVACION n^o 47.-S. Antonio 5.-Dr. Fernández Osuna. Enferma Ana Moreno Pérez. 16 años, soltera. Escoznar (Granada). Osteofitos múltiples probablemente por heredo sífilis.
Intradermo-reacción positiva M.

(170)

Leuco-reacción negativa-0'80- $\frac{\text{Activ. leuc. con la tub.} = 0'40}{\text{Activ. leuc. con el suero.} 0'50}$

OBSERVACION nº 48.- Saleta de Santa Ana.5.-Dr. Pareja Garrido.

Enfermo Rafael González Almada. 25 años. Soltero.-Salobreña (Granada) .Sífilis terciaria.

Intradermo-reacción positiva intensa.

Leuco-reacción negativa-1'46- $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'44}{\text{Activ. leuc. con el suero.} 0'30}$

B) Afecciones quirúrgicas

OBSERVACION nº 49.- Quirúrgica 2º curso .- Dr. Pareja Garrido. En-

(171)

fermo Gregorio Ibañez Salvador, 37 años. Rago (Almeria) Osteo-
mielitis del femur.

Intradermo-reacción positiva.

Leuco-reacción negativa= 1 = $\frac{\text{Acti.leuc.con la tuber.} = 0'52}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 052}$

OBSERVACION nº 50. San Francisco 10.- Dr. Escribano. Enfermo An-
tonio Martin Jiménez. 17 años. Soltero. Almeria. Osteomielitis de
la tibia derecha.

Intradermo-reaccion positiva, muy intensa.

Leuco-reacción negativa= 43= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tube.} = 0'26}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'60}$

OBSERVACION nº 51. Saleta de S. Joaquín 1.- Dr. Escribano. Enfer-

(172)

no José Martín Linares.- 64 ños.casado.- Monsegil.Granada. Pros-
tático.

Intradermo-reacción negativa.

Leuco-reacción negativa-0'92- $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'35}{\text{Activ.leuc.con el suero.} = 0'37}$

OBSERVACION nº 52. S. Damian 6.- Dr. Escribano.- Enferma Manuela
Hernández Sala.-54 años,casada.-Canales (Granada) Adeno-carcinoma
de los glandioscarotídeos. Comienzo del periodo caquetico.

Intradermo-reacción negativa.

Leuco-reacción negativa- 0'75 - $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'15}{\text{Activ.leuc.con el suero.} = 0'20}$

(173)

OBSERVACION nº 53.-S. Damian 7.Dr. Escribano.- Enferma Plácida Arboleda Martín.-19 años. Soltera.- Hueter Vego (Granada) Artritis reumática deformante.

Intradermo-reaccion positiva M.

Leuco-reacción negativa=0'80= $\frac{\text{Activ.leuc.con la tuber.} = 0'20}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'25}$

OBSERVACION nº 54.-S. José nº 3.- D. Garrido Quintana.-Enfermo Antonio Melguizo Martínez.-13 años.Granada.Osteomielitis del maxilar inferior.

Intradermo-reacción positiva.M.

Leuco-reacción negativa=0'80= $\frac{\text{Activ.leuc.con le tuber.} = 0'40}{\text{Activ.leuc.con el suero.} \quad 0'50}$

(174)

OBSERVACION n.º 55.-S. José 1.- Dr. Garrido Quintana. Enfermo Francisco Ortuña Mangas. 41 años, casado. Rute. - Fistulas de ano. Intraderno-reacción positiva M.

Leuco-reacción negativa -1- $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'31}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'31}$

OBSERVACION n.º 56.- Jesus y Maria 9 Dr. Oete.- Enferma Dolores Fernández Serrano. 21 años, casada. Montegiñar.- Fleción del ligamento ancho.

Intraderno-reacción negativa.

Leuco-reacción negativa -1- $\frac{\text{Activ. leuc. con la tuber.} = 0'40}{\text{Activ. leuc. con el suero.} = 0'40}$

= 175 =

R E S U M E N .

El de las observaciones que anteceden puede hacerse del modo siguientes

OBSERVACIONES	LEUCO-REACCION		INTRADERMO -REACCION (1)	
	Positiva	Negativa.	Positiva	Negativa.
9 casos dudosos..	4(44'45 %)	5(55'55 %)	5(62'50 %)	3(37'50 %)
11 de tuberc. led..	11(100%)	0	8(80 %)	2(20 %)
16 de id. quir.	16(100 %)	0	14(93'33 %)	1(6'67 %)
5 de id. curadas	0	5 (100 %)	3(75 %)	1(25 %)
7 de afec. n. notub.	0	7 (100 %)	5(71'43 %)	2(28'57 %)
8 de idquir. id.	0	8 100 % .)	5(62'50 %)	3(37'50 %)

(1) Las diferencias que existen entre los números totales de algunas columnas de la leuco y la intradermo son debidas á no haberse podido hacer la segunda en algunos enfermos.

= 176 =

Resultados según la edad de los enfermos.

OBSERVACIONES	LEUCO-REACCION		INTRADERMO-REACCION(1)	
	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa
9 adultos tuber.dud.	4(44'45 %)	5(55'55 %)	5(62'50%)	3(37'50 %)
4 niños tuberculosos	4(100 %)	0	4(100 %)	0
25 adultos tuberculosos	25(100 %)	0	20(86'96%)	3(13'04 %)
4 ad.tub. curados	0	4(100 %)	2(75 %)	1(25 %)
1 niño no tuber.	0	1(100 %)	1(100 %)	0
14 adul. nó tuberc.	0	14(100 %)	9(64'29 %)	5(35'71 %)
??				

(1) Léase la llamada de la página anterior.

Si ahora con detenimiento nos fijamos en los cuadros precedentes y en las series de casos expuestas, induciremos con facilidad la gran importancia que reviste el método del profesor Achard.

Era mi ánimo en un principio hacer un estudio práctico comparativa entre la leuco-reacción y, sino todos los métodos diagnósticos de la tuberculosis, por lo menos la del grupo de las tuberculino-reacciones: pero, triste es confesarlo, la vivísima oposición que por parte de los enfermos encontré, después de que les hube practicado la intradermo-reacción, no obstante las escasas molestias que ocasiona, me obligaron desde luego á alejar de mí aquella idea, y contentarme por lo tanto solo con la citada reacción intradérmica.

Considerada desde el punto de vista práctico es en extremo im-

(178)

portante el procedimiento de que me he ocupado.

Ha permitido alejar la duda del diagnóstico en los casos apuntados en el primer grupo. El enfermo de la observación n.º 1 que después de padecer una gripe de forma torácica intensa, estuvo durante bastante tiempo haciendo temer que el bacilo de Koch hubiese invadido su pulmón enfermo, dió una leuco-reacción negativa, y los hechos demostraron después, al aumentar de peso, y mejorar evidentemente que la reacción era de resultado en armonía con ellos.

La enferma de la observación n.º 2, presentaba sintoma de tuberculosis, apesar del resultado negativo del análisis bacteriológico de los esputos. Se tramitó el trabajo del parto y la enferma mejo-

ró rapidamente ,desapareciendo todos los síntomas torácicos,vinien-
do así á dar la razón al método de que me ocupo .

Nuestro sabio maestro el Dr. Escribano dudaba como se dijo
en el diagnóstico del caso á que se refiere la observación n.º 5. .
El leuco-diagnóstico vino á dar la razón á otro hecho,el resultado
negativo del tratamiento antisifilítico,é hizo que dicho catedrá-
tico se inclinase en favor de la idea de una osteitis tuberculosa
de la costilla enferma.

La autopsia demostró en la observación n.º 8 que el resulta-
do de ella coincidía con el valor negativo dado por el método.
Demostróse así que no se trataba de una peritonitis tuberculosa.

En cuanto á los procesos tuberculosos el resultado ha sido
óptimo,puesto que en el 100% de los casos ya de tuberculosis qui-

rúrgicas ,ya médicas el valor de la leuco-reacción ha sido positivo , y además tenemos en cuenta que ninguno de los enfermos de otras afecciones no tuberculosas han reaccionado,por ejemplo: laringitis catarral,bronquitis crónica,enteritis crónica,osteomielitis aguda etc. etc. aquel resultado se hace mucho más digno de ser tenido en cuenta,máxime cuando la oftalmo,la cuti,la intradermo,y la rino-reacción entre los procedimientos clínicos hacen reaccionar á sujetos enfermos de afecciones clinicamente no tuberculosas.

Por otra parte segun Caurmont y Arloing el sero-diagnóstico de la tuberculosis dá el siguiente resultado en sujetos adultos:

(181)

Enfermos tuberculosos	Reaccion positiva - 87.9 %.
id.	negativa - 12.1 %.
id.	positiva - 34.6 %.
id. no tuberculosos.	negativa - 65.4 %.
id.	positiva.- 26.8 %.
Sujetos sanos al parecer	id. negativa - 73.2 %.

y el siguiente en los niños

Niños clinicam. tuberc.	Reaccion positiva - 72.38 %
id.	dudosa - 15.24 %.
id.	negativa - 12.35 %.
Niños tuberc. dudosos.	Reacciones positivas- 50 %.
id.	dudosas - 5'55 %.
id.	negativas - 44.45 %.

(82)

	Reacción positiva....	12'76 %
Niños clinicamente no tuber.	Id. dudosas.....	0 %
	Id. negativas..	87'24 %

Según Bezancou y Philiber " en la práctica la reacción de precipitación está desprovista de todo valor. Casi todos los enfermos, tuberculosos ó no han dado precipitaciones, á excepción, de enfermos atacados de asistolia ó de nefritis crónica, para los cuales la precipitación fué nula ó insignificante "

Si á esto añadimos lo que en su lugar oportuno dijosa respecto al valor práctico de la determinación del índice opsónico, de la reacción de veneno de la cobra y de la fijación del complemento, induciremos finalmente la gran importancia absoluta y relati-

va del método .

Cierto que se me podrá objetar , que las estadística que presento no es lo suficientemente extensa para en definitiva juzgar el asunto; pero no lo es menos que aparte continuara estudiandola con detenimiento ya en los 56 casos apuntados puede verse la importancia de la leuco-reacción, al compararla con los resultados que en los mismos enfermos ha dado la intradermo.

Esta cuyos caracteres y técnica ya descubrí adolece del defecto de todas las tuberculino-reacciones ; que enfermos no tuberculosos reaccionan positivamente (observaciones nº 42, 43, 46, 47, 48, 49, 50, 53, 54, 55) y sujetos clinicamente tuberculosos no lo hacen (nº 16, 17, 31.) Son estos hechos que vienen á dar la razón á Entz y Arloing que negaron la especificidad de la cuti y la

oftalmo reacción respectivamente.

Para terminar; aún presenta la leuco-reacción otra ventaja y es que las tuberculosis curadas no reaccionan (observ. nº 27, 32, 33, 35, 37) .en tanto que algunas de ellas , si lo hizo la intradermoñ (nº 27 y 37).

Finalmente , siendo la actividad leucocitaria un poderoso elemento de defensa y estando basado el leuco-diagnóstico en su determinación se induce de aquí una nueva cualidad buena del método de Achard - Bénard : á saber que por medio de él podemos darnos cuenta del estado de defensa leucocitaria del enfermo.

Más , no todo son ventajas ,hay que confesarlo. Tiene la leuco-reacción un inconveniente y es el de ser un procedimiento del

(185)

Laboratorio de delicada técnica y por lo tanto de no poder ser realizado en la cabecera del enfermo : compensa este inconveniente con la bondad de sus resultados. Por otra parte los procedimientos llamados de certeza del diagnóstico de la tuberculosis son también de laboratorio y del mismo modo que se recurre al micrografo para un análisis de esputo puede también recurrirse á él á fin de que practique el leucodiagnóstico, si es que no se perfecciona su técnica en el sentido de hacerlo más sencilla y por ende utilizable por los médicos prácticos como es sero diagnóstico de la fiebre tifoidea .

A este efecto por las casas industriales que á esto se dedican podrian expendirse, emulsiones de levadura de muguet es-

(186)

terilizados, papel de filtro impregnado de suero normal y solución de tuberculina al 1/ 500 como hace la casa Merck para la reacción de Chautemesse?Widal.

Tal es el resultado de mis modestas investigaciones acerca de este asunto .

(187)

C O N L U S I O N E S .

1ª. - La leuco-reaccion por la tuberculina es un procedimiento diagnóstico de las tuberculosis , de resultados excelentes .

2ª.- Aún cuando adolece del defecto de ser procedimiento de laboratorio de delicada técnica, y por lo tanto de no poder ser realizado en la cabecera del enfermo; compensa este inconveniente con la bondad de sus resultados aparte que es posible se perfeccione haciendose aquella más sencilla .

3ª.- A diferencia de lo que sucede con las otras tuberculino- re-

acciones , á cuyo grupo ella pertenece , la leuco-reacción , al menos en los casos por mí observados , no reacciona ni en las tuberculosis latentes, ni en las curadas .

42.- Que en las experiencias por mí realizadas , dió un resultado positivo en los enfermos tuberculosos, cuyo valor es del 100 % , cifra á la que no han llegado hasta ahora ninguno de los restantes procedimientos diagnósticos de las afecciones producidas por el bacilo de Koch.

52.- Que en los enfermos en quienes practiqué el método de Achard , pacientes de afecciones no tuberculosas, dió un resultado negativo igual al 100 % de los casos observados; tanto más digno de ser considerado, cuanto que reacciona positivamente en casos aná-

logos , alguno de los otros métodos (tuberculino-reacciones, aglutinación etc.) .

62.- Que en oposición á lo que sucede con la cuti y la intradermo-reacciones que son métodos de bastante aplicación en los niños ; pero de escasa en los adultos, la leuco-reacción es de tan buenos resultados en los primeros como en los segundos .

72.- Que dada la sensibilidad del método puede ser utilizado con esperanzas de éxito excelente como medio diagnóstico precoz de las tuberculosis incipiente.

82. - Que así mismo teniendo en cuenta aquella cualidad y los resultados que se indican en las conclusiones n^os 3 , 4 , y 5 es de gran aplicación en los casos^a diagnósticos dudosos.

92.- Que igualmente puede constituir y constituye un medio muy

(190)

eficaz para establecer el diagnóstico de las tuberculosis quirúrgicas cerradas .

10.- Que aparte las ventajas precedentes, tiene el método la de que aprecia el grado de actividad leucocitaria del enfermo y por ende que no solo es un método diagnóstico sino pronóstico además.

Madrid. 18 de Junio de 1910.

Ramón Álvarez de Toledo y Valero

(I)

B I B L I O G R A F I A .

Los diversos asuntos tratados en esta tesis pueden ser consultados en las publicaciones que à continuacion se expresan:

- ORTEGA MOREJÓN = Diagnostico ultra-precoz de la tuberculosis pulmonar = El Monitor Sanitario = Nov. 1908 .
- Rènon = Le diagnostic précoce de la tuber. pulmonaire chronique = Paris 1906.
- L. Nattan Larrier = Diagn. de la tuberc. par les nouveaux procédés de laboratoire = Paris 1905.
- F. Bezançon y Philibet = Revue critique des nouv. moyens de diag. de la tuberc. = LE Jour. Méd. fran. Enero

(1 1)

de 1910.

- J. Lemaire = Quelques points particuliers de la cuti-réaction = La Presse Médicale. n° 89 = 1907.
- M. Ferrand y Lemair = Etude clinique et histologique de la cuti-réaction à la tuberculine chez les enfants. = La Presse Médicale n° 78. 1907.
- Von Pirquet = Valeur diagn. de cuti-réaction à la tuberc. chez les enfants. = Wiener Klin. Woch. = 18-9-1907.
- id. = Tuberc. diagnose durch kutane impfung = Berliner Méd. Gesellschaft. n° 20.
- id. = Ist. die vakzinale früreaction spezifische = Wiener Klin. Wochen. = 22 Nov. 1906 .

(111)

Presse Médicale n° 28 - 1908.

R. ENTZ = Wiener Klin. Woch. n° 12 1908.

Dufour = Semaine médicale Sept. 1907

Sicard = id. id. id.

Hamburger = Wiener. Klin. Woch. n°12 - 1908

Abrami yBurnet = Comptes rendus de la Soc. de Biologie 13 Julio
1907.

E. Burnet = id, id. id. 28 Jun. 1907

F. Arloing = id. id. id. 22 29 id. 1909

MM. Ietulle = L'Ophtalmo réaction à la tuberculine = La Presse
Médicale n°5 1907.

Calmette = Un nouveau procéd. diagnos. de la tuberc. = Presse
Médicale n° 49 1907..

Ambarety Lafon = L'ophtalmo-réaction. Soc. d'Ophtalmologie Paris 19

1907.

(IV)

- J. Comby = Oculo réaction à la tuberc. chez les enfants.
Presse Médicale n°64 1907.
- Navarro Moreno = Diagnostico de la tuberculosis por la oftalmo-
reaccio= Tesis de Madrid 1907.
- Paul van Durne y
Evariste Stocké = Lesions oculaires tardives après l'ophtalmo-
reaction = Presse Médicale n° 22 1908.
- Lapersonne = L'Ophtalmo-reaction presente-t-elle quelques
dangers pour l'oeil ? =P. Médicale. n°99 1907.
- F. Arloing = Sur le mécanisme de l'oculo-reaction à la tu-
berculine. = Soc. de Biologie 25 Enero 1908.
- Wolf-Eissner = Berl. Klin. Wochen. 1907. n° 22

(†)

- Wolf-Eisner = Münchener medizinische Woch. n° 2 - 1908.
id. = Wiener Klinische Wochen. n° 3 1907.
Dameno = Gazzetta degli ospedali e delle cliniche n° 15
Onorato = Conversazioni biologiche genovesi. n° 12 1907
Morelli = Wiener Klin. Wochens. n° 3 - 1908 .
Wladimiroff = Berliner tierärztliche Wochen. n° 4 1908.
Rosemberg = Berliner Wochen. 1908 . n° 4
Denis = Revue intern. de la tuberculose n° 4 1907.
Vallée = Comptes rendus des séances de l'Académie des
sciences = n° 22 1907.
id. = Revista de especialidades médicas n° 4 1907.
1
Gurschmann = Medizinische Klinik n° 3 1908.

(VI)

- izolololani = Münchener medizinis. Wochen. n°5 1908.
- teck:ckmann = Intradermo-réaction à la tuberc. Paris 1909
- . M M Mantoux y Moussu = Sur l'intradermo-réaction à la tuberc. =
Académie des Sciences .14-Sept.-1908 y Socie
tè centrale veterinaire 15-Oct.- 1908.
- allèlèe Deglaine & = Sur l'intradermo-réaction à la tuberc. =
Bulletin de la Societè médic. veterinaire
1909 n° 107.
- obèèècourt Mantoux & = Intradermo-réaction à la tuberc. chez le
cobaye = SOC. de Biol. -27- Oct.- 1909.
- Corrèrnillon =L'intradermo-réaction à la tuberc. =Paris 89

(V 11)

- R. Romme = À propos de la spécificité des cuti-réactions =
La Presse Médicale n° 28 . 1908.
- Olmer y Terras = Cuti-réaction à la tuberc. chez les adultes =
Presse Médicale n° 28 . 1908.
- Macé de Lepinay = Valeur comparative de la cuti-réaction et de l'
intradermo ala tuberc. chez l'enfant = Soc.
Méd. des Hôpitaux . 1909. pag. 680 .
- Lereboullet = Les réactions cutanées à la tuberc: cuti, in-
tradermo réactions ; leurs résultats = Pro-
grès Médical 1909 pag. 87.
- Mentoux = L'intrad. réac. à la tuberc. et son interpré-
tation clinique = Presse Med. n° 2 1910.

(VIII)

- Lafitte-Dupont & Arloing = Réaction diagn. de la tuberc. sur la muqueuse nasale. La rhino-réaction = n° 21. 1909.
- Arloing = Comptes rendus de l'Acad. des Sciences = 9, 16, 21. Mayo 1898.
- Descos = La sero-réaction chez l'enfant = Journal de Paris. et de Pathol générale. Enero 1903.
- Courmont = Société de Biol. = 28 Mayo 1898.
- Ravaut = Thèse de Doctorat. = Paris 1901.
- Barjon y Gade = Archiv. méd. des hôp. de Lyon. 7 Marzo 1902.
- Widal y Ravaut = Congrès intern. de Med. Londres 1901.
- id. = Soc. de Biologie 22 Dbre. 1901.
- Marmorek = Soc. de Biol. 25 Dbre. 1903. 22 Enero 1904.

(1 X)

Nattan-Larrier = Soc. de Biol. 30 de Enero 1904.
Christmas = id. id. . 13 Febrero 1904.
Ehrlich. = Berliner Klin. Woch. 1887.
Weber = Tesis de San Petersburgo. 1895 .
Bezançon, Griffon & = Soc. de Biol. Enero .1903 .
Jousset = Soc. Méd. des hôp. = 9-1-1903.
id. = Semaine med. 21--1--1903.
id. = Arch. de med. exprim. = 1903 .
Loefer y Louste = Soc. med. d-s hôp. = Abril 1904.
id. = Archives de med. exper. = Mayo 1905.
Lesieur = Journal de Phis. et de Pathol. gen. 16-91904.
Nattan-Larrier et
Bergeron. =L'hydro-hemolise =Presse Med. 14--6--5.

(X)

- Bergerony Griffon = Soc. de Biol. 4 Febrero 1909.
- Levaditi è Inmann = Comptes rend. de la Soc. de Biol. 1907 pag.687.
- Bulloch = Trans. pathol. Soc. de Londres, 1905 vol. 56.
- Rene Gaultier = Les opsonines et la thèr. opsonisante Paris 190
- Ch. Achard y Feuillie = Sur l'activité leucocytaire= (Comptes rend. d
la Soc. de Biol. 11-1-1908 pag. 17 y Sem. med.
1908 pag. 35.
- Ch. Achard y Ch.Foix = Recherche de l'activité leuc. au moyen des
levures de muguet = Comptes rendus de la Soc .
de Biol. 28 Nov. 1908 pag. 510 y Sem. med.
1908. pag. 598.
- id. id. = Le pouvoir leuco-activante des humeurs = COM

(X 1)

- ren. de la Soc. de Biol. 13 Nov. 1909.
- Ch. Achard y Bènard. = Reactions spécifiques des leucocytes - Leuco-
diagnostic = C. R. de la Soc. de Biol. 13 No
bre. 1909. tomo 67. pag. 502.
- Ch. Achard. = Vitalité, résistance et activité des globules
blancs dans les maladies Paris 1909.
- id. = Leuco-réaction avec tuberc. = Journal med. fran
31 Enero 1900.
- Bezançon y Griffon = Congrès pour la lutte contre la tuberc. Ber-
lin. 1899.
- Marmoreck = Presse med. Enero .1909.
- A. Bergeron = Le diagnostic de la tuberc. par la fixation

(Xll)

- du complement = n° 1 Presse med. 1910.
- F. Malmejac = L'uro reaction diagnostic precoce de la tub.
Presse med.n° 76 1909.
- C.Levaditi = Les opsonines =Presse Med. n° 70 1907.
- id. = Les opsonines et le traitement des maladies
par la tubercule de Wright =Presse med. n° 72
- Wright = Proceeds of the Royal Soc. Londres 1905.
- id. = Lancet. 1904.
- id. = Lancet Marzo 1902.
- id. = Clinique journal. Nbre. 1904.
-

