

ESTUDIO DE LA ACCION COMBINADA DEL SUERO

Y DE LOS

LEUCOCITOS EN LA INFECCION PERITONEAL TIFOIDEA

DEL CONEJILLO DE INDIA

En trabajos anteriores he demostrado que la unión de suero y leucocitos tiene una acción más eficaz que la del suero específico solo (1). Petterson (2) ha conseguido establecer este mismo fenómeno, pero sobre todo en las experiencias de este último se notan algunas irregularidades en los resultados, lo que me llevó a tratar de analizar este tema, para determinar las causas que pudiesen intervenir y ser el origen de estas irregularidades en el resultado de los ensayos.

Para ello he empleado la inyección de mezclas de suero específico y leucocitos, efectuadas inmediatamente antes de la infección con un cultivo en caldo del bacilo de Eberth de 24 horas de edad, cuya dosis mortal era de un sexto de centímetro cúbico. Para eliminar por completo las fallas posibles debidas a la infección, he inyectado siempre una mayor cantidad, es decir, un cuarto de centímetro cúbico.

El suero empleado ha sido obtenido de una cabra inmunizada con cultivos en caldo del bacilo de Eberth, los que al principio fueron inyectados muertos y después vivos. La dosis preventiva míni-

(1) Petterson A. Centralbl. f. Bak. T. 40. p. 637.

(2) Bachmann A. Argentina Médica. Agosto de 1907.

ma de este suero era de 0.000 4, pero para los ensayos he inyectado solamente 0.000 25.

Los leucocitos fueron obtenidos mediante inyecciones peritoneales de somatosa al 10 %, en chanchitos de la India. Estos reciben 20 a 30 c. c. en dos porciones, una efectuada por la mañana y otra mayor por la tarde de la víspera del día destinado para efectuar la extracción del exudado para conseguir los leucocitos.

El exudado, siempre muy rico en polinucleares, era extraído una vez muerto el animal, sedimentado para eliminar el plasma y luego emulsionado en solución fisiológica de cloruro de sodio. Esta emulsión era sometida por tres veces consecutivas al tratamiento de Buchner, para matar los leucocitos y obligarles a abandonar sus sustancias bactericidas en el medio ambiente.

Como lo demuestra el cuadro siguiente, las grandes dosis de leucocitos, lejos de favorecer la acción del suero, la dificultan y el animal muere víctima de la infección.

CUADRO N° 1

Ch. N° 1	300	200 mill. de leucocitos y 0.000 25 de suero antitífico inyectados en el peritoneo	Inmediatamente después de las inyecciones son inoculados todos con 1/4 de c. c. de cultivo en caldo de 24 horas de edad del bacilo de Eberth en el peritoneo.	Muere en 24 horas
Ch. N° 2	gra-	100 mill. de leucocitos y 0.000 25 de suero antitífico inyectados en el peritoneo		Amanece muerto
Ch. N° 3	mo s	50 mill. de leucocitos y 0.000 25 de suero antitífico inyectados en el peritoneo		Se salva
Ch. N° 3	de peso	0.000 25 de suero antitífico inyectado en el peritoneo		Amanece muerto

Se efectúan las mezclas de leucocitos y suero "in vitro", igualando los volúmenes a 2 c. c. La emulsión de leucocitos muertos contienen 150 millones de estas células por c. c. ella es bien sacudida antes de emplearla para repartir por igual los elementos corpusculares en el líquido de suspensión.

A la hora y media después de efectuada la infección se extrae líquido peritoneal de los animalitos en experimentación, observándose en el del N° 1, bastantes bacilos, pocos leucocitos, no se observa fagocitosis. El aspecto del exudado del N° 2 es más o menos igual al del anterior. En el N° 3 se encuentran pocos bacilos, menos que en el exudado de los anteriores, fagocitosis nula.

A las tres de la tarde se repite la extracción del líquido peritoneal encontrándose en el del N° 1 gran cantidad de bacilos, de tipo animalizado, muchos leucocitos, muy poca fagocitosis, los más de los bacilos incluidos transformados en gránulos, pocos de ellos recientemente fagocitados, algunos de los polinucleares se encuentran en leucolisis. El cuadro observado en el N° 2 es semejante al anterior, pero con menos fagocitosis.

En el exudado del N° 3 se encuentran muchos menos bacilos que en los números anteriores, bastantes leucocitos, sin embargo no se nota fagocitosis, se observan manifiestas señales de bacteriolisis, algunos bacilos se presentan muy anchos, y uno que otro en los cuales solo están teñidos los contornos. Coloración con la Thionina fenicada, fijación por el calor o por el alcohol metílico. En el líquido extraído al N° 4 se observan bastantes bacilos, algunos leucocitos, casi todos en leucolisis, no se nota fagocitosis.

Dos horas después de estas observaciones se examina de nuevo el exudado de los animalitos infectados y se constata en el extraído al N° 1 enorme cantidad de bacilos, pocos leucocitos, ligera fagocitosis. En el N° 2 encontramos igualmente una enorme cantidad de bacilos, bastantes leucocitos y la fagocitosis iniciándose. En el exudado del N° 3 se observan muchos menos bacilos que en los N° 1 y 2 mayor cantidad de leucocitos, que en la observación anterior, pero poca fagocitosis. En el líquido extraído al N° 4 se ve

una grandísima cantidad de bacilos, bastante leucocitos reunidos en grupos, sin fagocitosis.

En la autopsia del N°. 1 se encuentra al cuadro común de las peritonitis sépticas, en el líquido peritoneal se observa una enorme cantidad de bacilos, muy pocos leucocitos, pero con fagocitosis muy acentuada, aún en los mononucleares, con los microorganismos en todo grado de digestión, muchas células están degeneradas con los núcleos en cariólisis, pocos en cariorexis. En la autopsia del N°. 2 se encuentra un cuadro semejante. En la del N°. 4 encontramos una enorme cantidad de microorganismos, pocos leucocitos con bastante fagocitosis.

Vemos por esta experiencia que solo se salva el animal que ha recibido la dosis menor de leucocitos. La experiencia siguiente nos muestra dos hechos importantes, primero que los animales que se salvan son los inyectados con dosis medias y que los leucocitos de

CUADRO N° 2

Ch. N° 1	300	0.000 25 de suero antitífico y 200 mill. de leucocitos en el peritoneo	Todos son inculados con 1/4 c. c. de cultivo en caldo de 24 horas de edad del bacilo de Eberth en el peritoneo	Amanece muerto
Ch. N° 2	gra-	0.000 25 de suero antitífico y 100 mill. de leucocitos en el peritoneo		Se salva
Ch. N° 3	mos	0.000 25 de suero antitífico y 50 mill. de leucocitos en el peritoneo		Amanece muerto
Ch. N° 4	de	0.000 25 de suero antitífico en el peritoneo		Amanece muerto
Ch. N° 5	peso	Testigo		Amanece muerto

diferentes animales tienen propiedades bactericidas o activas diferentes entre sí. En la prueba anterior se salva el animal que ha recibido 50 millones de leucocitos, en esta el que recibe esta cantidad muere, salvándose en cambio aquel que recibe el doble, hecho que por otra parte lo he visto repetirse con relativa frecuencia en el curso de mi experimentación, y que puede parangonarse con el ya conocido del diferente tenor en sustancias microbicidas de los sueros de diversos animales de una misma especie.

El suero antitífico es el mismo de la experiencia anterior, los leucocitos pertenecen a otro animalito. La infección se efectúa a las 11 a. m., inmediatamente después de la inyección de la mezcla de suero y leucocitos, ambas son peritoneales.

A las 5 p. m. se encuentran gravemente enfermos todos menos el N° 2. Se extrae líquido peritoneal de ellos, constatándose en el del N° 1, algunos hematies, gran cantidad de bacilos, bien móviles y libres, poca fagocitosis.

El exudado del N° 2 es denso, contiene gran cantidad de leucocitos, muy pocos bacilos libres. Los leucocitos están en su mayoría reunidos en grupos y con marcadas señales de fagocitosis. En las preparaciones teñidas, los leucocitos se presentan sin sus límites claramente definidos y rodeados de una especie de magma uniforme coloreada y en cuyo seno se encuentran aprisionados gran cantidad de bacilos, en diferente grado de destrucción, casi todos teñidos pálidamente. En el líquido extraído al N° 3 se notan muchos bacilos bien móviles, bastantes leucocitos y muy escasa fagocitosis.

En el exudado del N° 4 se observa una gran cantidad de bacilos libres, móviles, muchos leucocitos y muy poca fagocitosis.

En esta prueba también constatamos que, el animalito que recibe la mayor dosis de leucocitos muere, demostrándonos que lejos de sumarse la acción de dos factores pequeños, más bien se anulan. Sucede algo parecido a lo que estamos acostumbrados a ver en la desviación del complemento de Neisser y Wechsberg, como también sabemos que las dosis medianas son las eficaces en la formación de

la anafilatoxina, siguiendo el procedimiento de Friedberger. No solo se manifiesta la acción de las dosis medianas, en estos casos sino que ella se comprueba también en las experiencias de fagocitosis "in vitro", como lo ha constatado Neufeld, hecho que me ha sido fácil comprobarlo.

En la experiencia siguiente puede constatarse que aún en el caso de inyectar una dosis de suero capaz por sí sola de salvar a los animalitos, la adición de leucocitos está regida por la misma ley, es decir que solo son útiles las dosis medianas, las grandes o las medianas impiden o dificultan su acción.

CUADRO N° 5

Ch. N° 1	300	0.000 5 de suero antitífico y 50 mill. de leucocitos, intra-peritoneal	Todos son inmediatamente despues inoculados con $\frac{1}{4}$ c. c. de cultivo en cada caso de 24 horas de edad del bacilo de Eberth en el peritoneo.	Amanece muerto
Ch. N° 2	gra-	0.000 5 de suero antitífico y 30 mill. de leucocitos peritoneal		Se salva
Ch. N° 3	mos	0.000 5 de suero antitífico y 20 mill. de leucocitos, intra-peritoneal.		Muere en 32 horas
Ch. N° 4	de	0.000 5 de suero antitífico y 10 mill. de leucocitos, intra - peritoneal.		Muere en 53 horas
Ch. N° 5	peso	0.000 5 de suero antitífico, intra-peritoneal.		No sufre nada
Ch. N° 6		Testigos		Amanece muerto

La cantidad de leucocitos empleados es menor que en las experiencias anteriores porque en este caso se trata de leucocitos vi-

vos. A pesar de ellos se ve por el cuadro N°. 3 que solo se salva el animal que recibe una dosis media, es decir en el caso presente, 30 millones de células; teniendo un retardo sobre la muerte del testigo los N°. 3 y 4 que son aquellos animalitos que reciben dosis menores de fagocitosis. Muriéndose en cambio al mismo tiempo que el testigo aquel a quien se le inyecta la mayor cantidad de glóbulos blancos.

La experiencia que a continuación se menciona no hace sino confirmar los datos suministrados por las anteriores, es decir que actúan las dosis medias.

CUADRO N° 4

Ch. N° 1	300	0.000 5 de suero antitífico y 50 mill. de leucocitos en el peritoneo	Inmediatamente después se inoculan con 1/4 c. c. de cultivo en caldo de 24 horas de edad del bacilo de Eberth, en el peritoneo	Muere en 24 horas
Ch. N° 2	gramos	0.000 5 de suero antitífico y 100 mill. de leucocitos en el peritoneo		Se salva
Ch. N° 3	de	0.000 5 de suero antitífico y 200 mill. de leucocitos en el peritoneo		Muere en 48 horas
Ch. N° 4	peso	Testigo		Muere en 20 horas

Los leucocitos vivos privados de su plasma y emulsionados en solución fisiológica se mezclan con el suero "in vitro" y se inyectan peritonealmente e inmediatamente después se efectúa la infección, también peritoneal.

Es tan marcada la acción nociva de las grandes cantidades de leucocitos que ellos pueden provocar la muerte rápida de los animales inoculados como puede observarse en el cuadro siguiente.

CUADRO N° 5

Ch. N° 1	500	0.000 25 de suero anti-tífico y 200 mill. de leucocitos en el peritoneo	A todos inmediatamente despues se les inocula con 1/4 c. °c. de cultivo en caldo de 24 horas de edad del bacilo de Eberth ee el peritoneo	Muere a las 10 horas
Ch. N° 2	gra-	0.000 25 de suero anti-tífico y 100 mill. de leucocitos en el peritoneo		Amanece muerto
Ch. N° 3	mos	0.000 25 de suero anti-tífico y 50 mill. de leucocitos en el peritoneo		Se salva
Ch. N° 4	de	0.000 25 de suero anti-tífico en el peritoneo		Muere a las 24 horas
Ch. N° 5	peso	Testigo		Amanece muerto

Los leucocitos empleados son muertos por el método de Buchner, repetido tres veces consecutivas. Se efectúan las mezclas de suero y leucocitos "in vitro" y se inyectan inmediatamente después, los animalitos son infectados peritonealmente pocos minutos después, de la introducción de la mezcla leucocitaria. Todos los volúmenes son igualados a 2 c. c.

Cinco horas después de la infección se extrae líquido peritoneal a los cobayos y se observa en el N°. 1, una enorme cantidad de bacilos aislados, móviles, pocos leucocitos, fagocitosis nula. En el exudado del N°. 2 se encuentran muchos bacilos, menos que en el N°. 1, más leucocitos que en este; fagocitosis iniciándose. En el líquido extraído al N°. 3 se ven muy pocos microorganismos, muchos leucocitos aislados, fagocitosis poco acentuada. El exudado del N°. 4 presenta el siguiente cuadro: muchos bacilos libres y móviles,

muchos fagocitos, fagocitosis poco acentuada. En el del N° 5 se observan gran cantidad de bacilos, algunos leucocitos, poca fagocitosis.

Dos horas después el N° 1 está sumamente enfermo, en agonia. En el exudado del N° 2 se encuentran gran cantidad de bacilos aislados, móviles que recorren rápidamente el campo de la preparación, muchos leucocitos, los más reunidos en grupos más o menos grandes, fagocitosis regularmente acentuada, más o menos la mitad de los leucocitos contienen pequeñas cantidades de bacilos. En el N° 3 encontramos regular cantidad de bacilos, mayor número que en la observación anterior, muchos leucocitos aislados, fagocitosis casi nula, transformación de los bacilos al tipo francamente animalizado. Los N° 4 y 5 se notan muy enfermos.

Esta serie de experiencias nos permiten deducir que en determinadas condiciones la inyección de una mezcla de suero específico y de leucocitos puede ser favorable. La eficacia de estas mezclas está regida, lo mismo que varios otros fenómenos inmunológicos por una aparente ley de las cantidades medianas, como si fuese una curva que obedeciese a una fórmula de máximos y mínimos de acción biológica negativa.

ALOIS BACHMANN

Director del Instituto de Bacteriología
de la Universidad Nacional de Córdoba
