

Instituto Nacional de Parasitología. Sección de Fisiopatología de Granada

## ACCION "IN VITRO" DE CIERTOS FERMENTOS DE ORIGEN VEGETAL SOBRE NEMATODES PARASITOS

POR

*Diego Guevara*

Jefe de Sección

El presente trabajo ha sido efectuado como continuación de otro anterior, en colaboración con E. Suárez Peregrín, publicado en esta misma revista (1), en el que dábamos cuenta del resultado de nuestras experiencias a propósito de la acción *in vitro* de diversos tipos de látex y extractos de *Ficus carica*, cultivado en Granada, sobre ejemplares vivos de *Ascaridia galli*. Allí pueden encontrarse algunos antecedentes sobre el tema, así como las más destacadas referencias bibliográficas. En esta segunda serie de experiencias he utilizado, en general, el mismo tipo de «material y métodos» que entonces, por lo que no repetiré aquí lo descrito en aquel trabajo; sólo serán explicadas ahora aquellas particularidades que no consten allí. Por ello se continúa bajo el epígrafe:

### III. EXPERIENCIAS PERSONALES, RESULTADOS Y DISCUSIÓN

D) *Eficacia antihelmíntica de las fracciones soluble e insoluble de suspensiones acuosas de látex de "Ficus carica"*.

Recordemos lo acaecido en los tubos de las filas «A» y «B», Cuadro 1 de nuestra anterior publicación. Sucedieron las co-

(1) Guevara, D., y Suárez, E. 1955.- «Acción *in vitro* del látex y otros zumos de *Ficus carica* sobre *Ascaridia galli*». REV. IBÉR. PARASITOL. Vol. Extraordinario, marzo 1955.

sas de modo superponible en ambas filas de tubos. Puesto que la diferencia de circunstancias entre unos y otros ensayos era sólo que en los de la fila «A» se colocó la suspensión de látex *sin filtrar*, mientras que en los de la fila «B» se puso aquella previamente *filtrada por papel*, quedaba claro desde el primer momento la solubilidad en el agua o en las soluciones acuosas de la sustancia activa. Para mejor decidir sobre este punto fué preparado el siguiente ensayo:

CUADRO 3

«Suspensión de látex» del tipo b) en agua destilada partiendo de pedúnculos de frutos verdes. Concentración final, 1/5 (peso tejido vegetal/líquido empleado). Esta «suspensión» fué después filtrada por papel de cenizas conocidas, resultando las dos fracciones siguientes:

SOLUCION	RESIDUO
La disolución que atravesó el filtro tiene color ligeramente amarillento y está totalmente transparente.	Quedó sobre el filtro un residuo pulverulento, blanco nívco. Se lava sobre el mismo filtro con unas gotas de agua destilada que se agregan a la «suspensión». El insoluble lavado se interpone en agua destilada formando una suspensión en la proporción 1/3 (peso primitivo de tejido vegetal/agua puesta para la suspensión).
En una caja Petri se disponen: 20 c. c. de esta solución. 4 hembras de <i>Ascaridia galli</i> vivas y móviles. Se llevan a la estufa a 37°C. Resultado al cabo de: 3 horas.—Todas móviles. 4 horas. Todas con movilidad escasa. 8 horas.—Una de ellas, con hernias y eventraciones, pero a pesar de ello, móvil. También están móviles las otras. 25 horas.—Los cuatro gusanos, con grandes lesiones cuticulares por donde salen hernias y eventraciones de los órganos internos.	En una caja Petri se disponen: 20 c. c. de esta suspensión. 6 hembras de <i>Ascaridia galli</i> vivas y móviles. Se llevan a la estufa a 37° C. Resultado al cabo de: 3 horas.—Todas inmóviles. 8 horas.—Una de ellas con lesiones cuticulares y eventraciones. Todas inmóviles. 25 horas.—Las seis, fuertemente atacadas y medio digeridas.

Dentro de lo poco cuantitativa que es la apreciación visual del deterioro producido en los ejemplares de *Ascaridia*, parece claro que en la experiencia realizada con «suspensión del residuo» la actividad fué más rápida, y al cabo más intensa, que

en la «solución», tanto en el aspecto paralizante como en el disolvente de los tejidos de los vermes. Pero aun sin tener en cuenta el problemático aspecto cuantitativo de la experiencia, queda confirmado en ella lo que ya fué observado en experiencias anteriores (ver trabajo citado, tubos «B» del cuadro 1): esto es, que el agente activo es soluble en agua. Además, aquí vemos que no se disuelve íntegramente con rapidez, ya que el «residuo» insoluble, después de extraído con agua y lavado, aun conservó una intensa actividad, como si ésta estuviese de algún modo adherida o fijada a un soporte insoluble que la liberase lentamente y con cierta resistencia por la acción del agua. Otras experiencias posteriores confirman este punto de vista.

E) *Actividad del látex de pedúnculos de frutos, comparativamente con el de peciolo de hojas.*

Las experiencias llevadas a cabo con dicho objeto quedan sintetizadas en el

CUADRO 4

Látex de FRUTOS	Látex de HOJAS	TESTIGOS
Se prepara una «suspensión de látex» tipo a) cortando los pedúnculos de los frutos y dejando caer la pequeña gota que fluye sobre agua destilada. Concentración aproximada: 1/5 (10 gotas látex/3 c.c. agua). pH=6.	Se prepara una «suspensión de látex» igual que la anterior, pero empleando el que fluye de peciolo de hojas recién cortadas. Concentración aproximadamente igual que la anterior. pH=6.	Solución salina al 8'5 por mil.
Se colocan: 3 c. c. del líquido. 2 ascaridias recién sacadas del intestino de gallinas. en un tubo de hemolisis. Resultado a las 6 horas de permanencia a 37° C. Solamente quedan restos informes.	Se colocan: 3 c. c. del líquido. 2 ascaridias recién sacadas del intestino de gallinas. en un tubo de hemolisis. Resultado a las 6 horas de permanencia a 37° C. Solamente quedan restos informes.	Se colocan: 3 c. c. del líquido. 2 ascaridias recién sacadas del intestino de gallinas. en un tubo de hemolisis. Resultado a las 6 horas de permanencia a 37° C. Los dos gusanos vivos y muy móviles, sin ningún deterioro.

Aunque el anterior resultado era previsible, la experiencia viene a corroborar que la actividad antihelmíntica reside en el látex de *Ficus carica*, proceda éste de pedúnculos de frutos verdes o de peciolos de hojas del mismo pie de planta. Confirmamos también con esta experiencia lo que ya fué visto en las de nuestra anterior publicación; o sea que las «suspensiones de látex» tipo a) eran, en general, más activas que cualquiera otra de los tipos b) y c), pues según queda expuesto, ya a las 6 horas habían sido los gusanos digeridos íntegramente, mientras que se requería más tiempo de contacto cuando se experimentaba con suspensiones de los tipos b) y c). Esto lo atribuimos, como ya quedó entonces dicho (conclusión 4 de aquel trabajo), a la probable presencia de sustancias inhibitoras o frenadoras contenidas en los zumos celulares. En las suspensiones de látex de tipo a) estos zumos están prácticamente ausentes; en las de tipos b) y c) los hay en mayor o menor proporción.

F) *Diferencias de actividad entre el látex de "Ficus carica" cultivado y silvestre.*

Sospechando pudiera existir alguna diferencia entre la actividad del látex de la planta cultivada y de la silvestre que vive en nuestra región, efectuamos las experiencias que comparativamente se exponen en el cuadro siguiente:

CUADRO 5

<p>A Con frutos pequeños e inmaduros de planta silvestre se hace una «suspensión» de látex» Tipo b). Concentración: 1/2. pH = 6'5. Con esta «suspensión» se hicieron los dos ensayos siguientes:</p>		<p>B Con frutos de planta cultivada del mismo diámetro que los usados en A se prepara una «suspensión de látex» Tipo b). Concentración: 1/2. pH = 6'5. Con esta «suspensión» se hicieron los dos ensayos siguientes:</p>	
<p>A - 1. 5 c. c. del líquido A. 2 ascaridias vivas. Se llevan a 37° C.</p>	<p>A - 2. 5 c. c. del líquido A. 2 ascaridias vivas. Se llevan a 37° C.</p>	<p>B - 1. 5 c. c. del líquido B. 2 ascaridias vivas. Se llevan a 37° C.</p>	<p>B - 2. 5 c. c. del líquido B. 2 ascaridias vivas. Se llevan a 37° C.</p>
<p>Resultado a las 15 horas. Los dos ejemplares muertos y con algunas hernias de gran tamaño.</p>	<p>Resultado a las 15 horas. Los dos ejemplares muertos y con pocas hernias.</p>	<p>Resultado a las 15 horas. Los dos ejemplares en trozos muy atacados.</p>	<p>Resultado a las 15 horas. Los dos ejemplares destrozados; sólo quedan grumos informes.</p>

Se observa una palmaria diferencia entre el látex de *Ficus carica* silvestre y cultivado, en favor de la actividad vermícida del segundo. No hemos hecho experiencias encaminadas a dilucidar dónde reside la causa de tal diferencia, pero de las observaciones realizadas al preparar las suspensiones y manejar los frutos de ambas procedencias, creemos se debe a una menor riqueza en látex de la raza silvestre, al menos la usada por nosotros. Es posible, por tanto, que si en vez de calcular las concentraciones con relación al peso inicial de tejido vegetal, se obtuviesen a la misma concentración, pero con relación al peso de látex de una y otra planta, los resultados fueran más semejantes.

Diremos aquí que en todas las experiencias donde expresamente no se consigne otra cosa hemos utilizado siempre frutos inmaduros, de 2-3 centímetros de diámetro, de la raza cultivada, que localmente llaman de «higos blancos».

G) *Duración del poder vermícida del látex de "Ficus carica" en presencia de algunos conservadores.*

Habíamos observado siempre que se dejaba a la temperatura del laboratorio (20-24° C., en aquella época) una suspensión de látex del tipo que fuera que se producía intensa pululación bacteriana (por gérmenes de tipo antracoide), perdiendo aquélla totalmente, en un plazo de 48-72 horas, la facultad de disolver o lesionar los gusanos.

Esto nos indujo a probar con algunos conservadores e investigar la durabilidad de su acción conservadora a la temperatura ordinaria y en la misma forma líquida en que hemos preparado comúnmente nuestro material de estudio. Sólo dos sustancias conservadoras hemos ensayado: el mertiolato y el benzoato sódico.

En el cuadro 6 puede verse la forma como se dispuso la experiencia y los resultados logrados. No se han consignado en dicho cuadro los resultados con suspensiones sin adición de conservador alguno, pero ya queda dicho en el párrafo anterior que siempre que una solución o suspensión de látex u otros zumos era abandonada a la temperatura ordinaria del laboratorio, quedaba invadida por bacterias y perdía toda actividad.

CUADRO 6

Experiencias sobre el tiempo que perdura la actividad antihelmíntica del látex de *Ficus carica* conservado a la temperatura del laboratorio (entre 20 y 24 grados, según la hora) y en presencia de algunas sustancias conservadoras.

Días que permaneció el látex a la temperatura del laboratorio, antes de ser empleado en estas experiencias.	Contenido	Contenido
	«Suspensión látex» tipo b). Concentración: 1/2. pH inicial=6'5. Conservador: «mertiolato» al 1 por 10.000. Varias <i>Ascaridia adultas</i> .	«Suspensión látex» tipo b). Concentración: 1/2. pH inicial=6'5. Conservador: «Benzoato sódico» al 1 por 100. Varias <i>Ascaridia adultas</i> .
	Resultado	Resultado
	A las 24 horas de contacto a 37° C.	A las 24 horas de contacto a 37° C.
Recién preparada la suspensión.	Ascaridias totalmente digeridas.	Ascaridias formando restos irreconoscibles.
De 2 a 3 días.	Restos informes.	Muy avanzado estado de digestión.
20 días.	Muy avanzado estado de digestión.	Muertas; sin apreciarse indicios de digestión.
22 días.	Muy avanzado estado de digestión.	Muertas; sin indicios de digestión.
67 días.	Avanzado estado de digestión.	

Del examen del cuadro 6 se deduce que la disolución de mertiolato a la concentración del 1 : 10.000 tiene un efecto conservador, y en menor escala también lo es el benzoato sódico al 1 por 100.

El primero permite conservar al látex una gran actividad enzimática aun después de permanecer 67 días como mínimo a la temperatura del laboratorio. En la solución de benzoato al 1 por 100 el látex ha perdido su papel disolvente frente a *Ascaridia* a los 20 días de permanencia en iguales condiciones (probablemente antes). A causa de una forzada ausencia hubieron de ser interrumpidas las experiencias durante un par de semanas, por lo que entre los 3 y los 20 días de permanencia a 20-24° C. no se obtuvieron datos sobre la conservación; de aquí que no se conozca la duración exacta del poder conservador del benzoato al 1 por 100, pero con lo observado basta para ver la

gran diferencia con el mertiolato. De todas formas, la acción conservadora del benzoato se echa de ver, pues a los tres días cualquier otro látex sin conservador hubiera estado invadido de bacterias y sin actividad apreciable. En experiencias posteriores (ver Cuadro 7, ensayo 5.º) con otras especies de nematodos más sensibles a la acción del látex, se vió que a los 19 días de estar a la temperatura del laboratorio una «suspensión de látex» en benzoato sódico al 1 por 100 había perdido su poder disolvente sobre *Ascaridia*, pero aun era bien manifiesto sobre *Heterakis* y *Subulura*. En otra prueba análoga (cuadro 7, ensayo 6.º) el látex en benzoato al 1 por 100 había perdido también su acción sobre estos nematodos a los 23 días, o sean cuatro días más en iguales circunstancias.

Otras pruebas fueron hechas dejando evaporar en la estufa a 37° algunas suspensiones de látex con y sin conservador de mertiolato y benzoato sódico. Disuelto más tarde el residuo seco en igual volumen de agua que el de líquido inicial, y empleando *Ascaridia* y *Heterakis* como testigos, los resultados fueron siempre negativos, es decir, estos líquidos carecían de acción disolvente, si bien los gusanos quedaban inmóviles y muertos a las pocas horas de contacto a 37°.

H) *Acción de las suspensiones de látex sobre "Ascaridia galli", "Subulura brumpti" y "Heterakis gallinae" comparativamente.*

Ocasionalmente fué probada en varios ensayos la acción de las suspensiones de látex que venimos estudiando sobre otros nematodos parásitos de la gallina distintos de *Ascaridia galli*. Fueron aquéllas las especies *Heterakis gallinae* y *Subulura brumpti*, que de modo casi constante parasitan los ciegos de la gallina y son ambas de dimensiones muy semejantes entre sí, pero menores que *Ascaridia galli* (hembras de *H. gallinae*, 10-15 por 0'4 mm.; hembras de *S. brumpti*, 9-13 por 0'4-0'5 mm.). En todos los casos nos pareció que la acción era mucho más intensa sobre estas especies pequeñas que sobre los *Ascaridia*. Para verificar esta suposición se llevaron a efecto las experiencias de los cuadros 7 y 8.

CUADRO 7

Clase de sustancia activa a ensayar, común para los tubos con <i>Ascaridia</i> , <i>Subulura</i> y <i>Heterakis</i> .	Especie de parásito sobre la que se ensayó.	
		Dos hembras adultas y vivas de <i>Ascaridia galli</i> .
	Resultado a las 24 horas de permanencia a 37° C.	Resultado a las 24 horas de permanencia a 37° C.
1.º Líquido transparente que procede de filtrar por papel una «suspensión de látex» tipo b) al 1/2 de concentración, en «mertiolato» al 1 por 10.000.	Los dos gusanos están reducidos a fragmentos muy atacados.	Todos los ejemplares están reducidos a grumos informes.
2.º Líquido preparado tratando por agua el insoluble de filtrar el anterior, hasta completar un volumen igual al primitivo; agitando repetidamente y filtrando de nuevo. El líquido transparente que se recoge es el empleado en este caso.	Los dos ejemplares están muertos, pero inatacados.	Todos los ejemplares están atacados intensamente, mostrando cada uno varias hernias y eventraciones.
3.º Líquido formado por la suspensión del residuo insoluble del anterior, en agua hasta un volumen igual al primitivo.	Los dos gusanos muertos pero sin deterioro de cutícula ni otras partes.	Todos los ejemplares muertos, sólo algunos presentan eventración de los órganos.
4.º «Suspensión de látex» tipo b) al 1/2 de concentración en benzoato sódico al 1 por 100, y conservada a la temperatura ordinaria durante 19 días.	Los dos ejemplares muertos, sin lesiones visibles.	Todos los ejemplares con hernias y eventraciones.
5.º «Suspensión de látex» tipo b) al 1/2 de concentración en benzoato sódico al 1 por 100, y conservada a la temperatura ordinaria durante 23 días.	Los gusanos están muertos pero no han sido atacados por digestión.	Todos los gusanos están muertos pero sin señales de haber sido digeridos.
6.º Ringer para mamíferos.	Los dos ejemplares vivos y móviles.	Todos los ejemplares vivos y móviles.

Del examen del cuadro anterior se deduce en primer lugar la confirmación plena del supuesto previamente enunciado, o sea que la potencia digestiva del látex de *Ficus carica* es mayor sobre los nematodos pequeños que sobre los grandes, dentro de las especies parásitas de la gallina que hemos ensayado. Efectivamente, para cada uno de los casos 1.º, 2.º, 3.º y 4.º consignados en el cuadro 7 siempre se cumplió una más intensa destrucción de *H. gallinae* y *S. brumpti* que de *A. galli*, aunque

en cada caso se trataba de productos activos diferentes entre sí en alguna cualidad. Especialmente son de señalar los casos 2.º, 3.º y 4.º, en los cuales el producto ya no es capaz de actuar sobre *A. galli* en su papel digestivo y, sin embargo, aun conserva poder para hacerlo sobre las otras dos especies, si bien más o menos moderadamente.

En el caso 5.º, y debido tal vez a la prolongada permanencia a la temperatura del laboratorio en presencia de un conservador de escasa eficacia como el benzoato sódico al 1 por 100, la actividad del látex se ha perdido incluso frente a las especies pequeñas. No obstante y en todos los casos se conserva la acción letal «paralizante» de los preparados.

No podemos aportar pruebas sobre cual sea la causa de esta menor resistencia de los nematodos pequeños, ya que no hemos operado con un número suficientemente elevado y diverso de especies que nos permitieran sacar conclusiones válidas, pero aparte la posibilidad de que existan diferencias específicas atribuibles a otras causas, apuntamos aquí dos posibilidades: 1.º menor tamaño de *Heterakis* y *Subulura* y consecuentemente menor vigor de su cutícula. 2.º diferencias constitucionales tal vez relacionadas con su respectiva localización dentro del intestino, puesto que *A. galli* es habitante del intestino delgado muy rico en fermentos hidrolíticos diversos, al paso que *H. gallinae* y *S. brumpti* viven en los ciegos cuyo ambiente es mucho más pobre en enzimas.

También nos confirma la experiencia del cuadro que estamos glosando, especialmente si nos fijamos en el caso 3.º, lo que en su lugar quedó dicho sobre la lenta solubilidad de la sustancia activa del látex en las soluciones acuosas, pues el líquido que se empleó en dicho caso 3.º fué una suspensión del insoluble que ya había sido extraído con agua dos veces para obtener los líquidos que se usaron en los casos 1.º y 2.º, y a pesar de esa doble extracción por agua aún es capaz de producir hernias y eventraciones en cierto número de ejemplares de *H. gallinae* y *S. brumpti*.

Una tercera cuestión que el examen del cuadro parece aclarar se refiere al poder conservador relativo de la solución de benzoato sódico al 1 por 100, ya que en el caso 4.º tuvo eficacia un preparado con este conservador a los 19 días de permanencia a la temperatura del laboratorio, si bien solamente fué frente a las especies pequeñas.

CUADRO 8

Sustancia activa a ensayar, común para los tubos de una y otra especie.	Especie de nematode estudiado	
	Dos hembras de <i>A. galli</i> vivas y móviles.	Varios ejemplares de <i>H. gallinae</i> y <i>S. brumpti</i> .
	Resultado a las 24 horas a 37° C.	Resultado a las 24 horas a 37° C.
1.º «Suspensión de látex tipo b) al 1/2 de concentración, en solución de mertiolato al 1 por 10.000, filtrada por papel (3 c. c. en cada tubo).	Los dos gusanos flácidos y fuertemente atacados.	Todos reducidos a grumos informes.
2.º El mismo líquido del anterior caso diluido al tercio en solución Ringer (9 c. c. en cada tubo).	Los dos gusanos muertos, pero sin haber sido atacados.	Todos muertos y la mayoría con hernias y eventraciones.

Las pruebas del cuadro n.º 8 constituyen una ampliación confirmando lo anteriormente dicho para el cuadro 7, siendo aquí el líquido empleado el mismo para el caso 1.º y 2.º, pero a distinta concentración y la dilución está hecha en solución de «mertiolato» como conservador.

Como en las anteriores experiencias se pusieron juntas las especies de *Heterakis* y *Subulura*, sin distinción, quedaba por dilucidar si existía diferencia de comportamiento ante la acción digestiva del látex de *Ficus* para estas dos especies de dimensiones y localización similares. Para tratar de resolver esta cuestión fué dispuesta la serie de ensayos que se sintetizan en el cuadro 9.

Se aprecia ante todo la gran actividad mostrada por la «suspensión de látex» que nos sirvió para estas experiencias, cosa no sorprendente pues siempre hemos apreciado diferencias cuantitativas de intensidad de acción de unas muestras a otras de látex, diferencias que no han sido medidas, sino simplemente apreciadas por comparación objetiva de sus resultados.

Vuelve también a confirmarse aquí lo antes hallado respecto a la solubilidad de las sustancia encimática digestiva frente a los nematodes (ver el exacto comportamiento del líquido sin filtrar del caso 1.º y del filtrado del caso 2.º, procediendo ambos del mismo preparado original); además se comprueba que una primera extracción con líquidos acuosos en la proporción 1/1 no

CUADRO 9

Sustancia activa a ensayar, común para los tubos de una y otra especie.	Especie de nematode ensayada	
	5 machos y 5 hembras de <i>S. brumpti</i> . A 37° C.	5 machos y 5 hembras de <i>H. gallinae</i> . A 37° C.
1.º «Suspensión látex» tipo b) al 1/1 de concentración, en líquido Ringer. Sin filtrar. Cantidad: 3 c. c. en cada tubo.	Resultado a las: 1 hora: Comienzo aparente de digestión. 2 horas: Estado avanzado de digestión. 16 horas: Disolución total de los 10 ejemplares.	Resultado a las: 1 hora: Comienzo aparente de digestión. 2 horas: Estado avanzado de digestión. 16 horas: Disolución total de los 10 ejemplares.
2.º Líquido resultante de filtrar por papel la «suspensión látex» tipo b) del caso anterior 1.º. Filtrado casi totalmente transparente. Cantidad: 3 c. c. en cada tubo.	Resultado a las: 1 hora: Digestión aparente. 2 horas: Digestión avanzada. 16 horas: Los 10 ejemplares disueltos.	Resultado a las: 1 hora: Digestión aparente. 2 horas: Digestión avanzada. 16 horas: Los 10 ejemplares disueltos.
3.º Líquido resultante de tratar nuevamente por Ringer los trozos de tejido de frutos que quedaron después de obtener la «suspensión de látex» del caso 1.º de este cuadro. Sin filtrar. Resulta una suspensión análoga a la del caso 1.º, pero mucho menos turbia, o sea con menos látex por c. c.	Resultado a las: 1 hora: No parece haber digestión. 2 horas: Se ha iniciado levemente la digestión. 16 horas: Los 10 ejemplares, disueltos.	Resultado a las: 1 hora: No parece haber digestión. 2 horas: Se ha iniciado levemente la digestión. 16 horas: Los 10 ejemplares, reducidos a grumos.

priva a los trozos de tejido vegetal de todo el fermento; por el contrario, aun le deja una muy notable proporción del mismo. (Resultados positivos, aunque menos intensos, en el caso 3.º)

Parece, por otra parte, según los resultados del cuadro anterior, que no existiera diferencia alguna entre la resistencia de *Subulura brumpti* y *Heterakis gallinae* frente a la agresión del látex, pues los resultados obtenidos con ambas especies son superponibles, pero no obstante esa aparente concordancia puede notarse una leve diferencia a las 16 horas de acción en el tercer caso, en el sentido de una menor acción del mismo líquido sobre *H. gallinae*, cuyos restos aun quedan formando grumos, mientras que los ejemplares de *S. brumpti* estaban íntegramente disueltos.

Puesto que la leve diferencia anotada sólo era apreciable al cabo del más prolongado tiempo de observación de esta experiencia (16 horas) y precisamente en el caso tercero que es el de menor actividad de los tres, supusimos que en otras posibles circunstancias en que se tratase de preparados poco activos, esta diferencia pudiera manifestarse de modo más acusado. Con el fin de aclarar este extremo se dispuso la serie de experiencias que se esquematizan en el cuadro siguiente :

CUADRO 10

Sustancia activa a ensayar, común a los tubos de una y otra especie.	Especies de nematodos a ensayar	
	Varios ejemplares de <i>Heterakis gallinae</i> , vivos y móviles.	Varios ejemplares de <i>Subulura brumpti</i> vivos y móviles.
	Resultados a las 20 horas de contacto a 37° C.	Resultado a las 20 horas de contacto a 37° C.
1.º Líquido resultante de filtrar por papel una «suspensión de látex» tipo b) a la concentración 1/1 en líquido Ringer.	Todas en forma de grumos informes.	Integramente disueltas.
2.º El mismo líquido de 1.º, pero diluido en Ringer a la concentración final 1/4.	Fuertemente digeridas, sin llegar a deshacerse en grumos.	Integramente disueltas.
3.º El mismo líquido de 1.º y 2.º, pero diluido hasta la concentración final de 1/8.	Fuertemente digeridas pero sin deshacerse en grumos.	Integramente disueltas.
4.º El mismo líquido, diluido a la concentración 1/16.	Algunos fuertemente digeridos, otros sólo presentando hernias y eventraciones.	Integramente disueltas.
5.º El mismo líquido, diluido al 1/32.	Muchos ejemplares muertos sin digerir, pocos atacados pero sin deshacer.	Dos ejemplares atacados sin deshacer, los otros totalmente disueltos.
6.º El mismo líquido, diluido hasta 1/64.	Todos muertos pero sin lesiones cuticulares.	Todos fuertemente atacados pero sin deshacer en grumos.
7.º El mismo líquido, diluido al 1/128.	Todos muertos sin lesiones.	Pocos con eventraciones, muchos muertos sin lesiones.
8.º El mismo líquido, diluido al 1/256.	Todos muertos sin lesiones.	Todos muertos sin lesiones.

En esta serie de ensayos se experimentó con un líquido de bastante actividad inicial a su concentración primitiva de 1/2 (peso de tejido vegetal/volumen líquido puesto) que fué diluyéndose en progresión creciente desde la n.º 1 al n.º 8 de las pruebas, resultando en estas últimas a la dilución 1/256.

Se aprecia que conforme la dilución es mayor las diferencias en la intensidad del poder digestivo van haciéndose más patentes frente a ambas especies, sobre todo para las diluciones 1/16, 1/32, 1/64, pues las que ya alcanzan más altos valores, como al 1/128 y 1/256, se hacen ineficaces incluso contra los ejemplares de *Subulura*. En todo caso parece obvio que *Subulura brumpti* es mucho más vulnerable que *Heterakis gallinae*.

Otra segunda serie de 12 pruebas y una tercera compuesta sólo de tres fueron llevadas a cabo siguiendo pauta análoga a la del cuadro 10. En todos los casos de ambas series las suspensiones de látex utilizadas resultaron menos activas originalmente (es decir, a la concentración inicial de 1/1), por lo que en ninguno de los 15 casos resultaron atacadas las *H. gallinae*; por el contrario, las *S. brumpti* paralelamente tratadas sufrieron deterioros que variaban desde estar fuertemente digeridas, sin deshacer en grumos, en los de mayor concentración, hasta muertas y sin indicios de digestión en los muy diluidos.

Todo lo cual tiende a confirmar que *H. gallinae* es más resistente que *S. brumpti* a la acción enzimática digestiva de *Ficus carica*, y que tal diferencia se aprecia más marcadamente frente a preparados de actividad media y moderada, siendo poco menos que inapreciable cuando se trata de líquidos de gran potencia fermentativa.

1) Acción del preparado farmacéutico "Vermizym" comparativamente a la del látex de "Ficus carica" frente a "Ascaridia galli".

Hemos partido de las grageas en que viene presentada la forma comercial para adultos de este producto farmacéutico, cuya sustancia activa es el fermento papaína. La obtención de los líquidos para someter a ellos los gusanos se realizaba pulverizando en mortero de vidrio un número de grageas conveniente al volumen y extensión del ensayo proyectado. Se añadía agua des-

tilada en la cantidad adecuada a la dilución que interesaba obtener. La concentración de estos líquidos la expresamos en miligramos del fermento papaína por centímetro cúbico de líquido obtenido, tomando como dato ponderal el contenido en fermento señalado para cada gragea por la casa preparadora. (210 mlgrs. por gragea). Resultaba así un líquido turbio de color blanco sucio, que unas veces era filtrado o centrifugado antes de su empleo y otras veces se utilizaba sin separar el residuo insoluble, no apreciándose diferencia marcada en la actividad en uno u otro caso.

En el cuadro 11 puede verse la disposición y resultados de una de las series de experiencias que hemos llevado a cabo con el fin antedicho.

CUADRO 11

Experiencias con Vermizym		Experiencias con látex de <i>Ficus carica</i>	
Contenido de cada tubo.	Resultados a las 16 horas a 37° C.	Contenido de cada tubo.	Resultados a las 16 horas a 37° C.
N.º 1. - Verm. 3 c. c. de 40 mlgr. por cada c. c. 2 ascaridias vivas.	Integramente disueltas.	N.º 1. - Fic. 3 c. c. filtrado de «susp. látex» al 1/1, en Ringer. 2 ascaridias vivas.	Reducidas a trozos fuertemente atacados.
N.º 2. - Verm. 3 c. c. con 20 mlgr. por cada c. c. 2 ascaridias vivas.	Integramente disueltas.	N.º 2. - Fic. 3 c. c. id. id. id. al 1/2, en Ringer. 2 ascaridias vivas.	Reducidas a trozos fuertemente atacados.
N.º 3. - Verm. 3 c. c. con 10 mlgr. por cada c. c. 2 ascaridias vivas.	Reducidas a grumos informes.	N.º 3. - Fic. 3 c. c. id. id. id. al 1/4, en Ringer. 2 ascaridias vivas.	Una de ellas fuertemente atacada. Otra con eventraciones.
N.º 4. - Verm. 3 c. c. con 5 mlgr. por cada c. c. 2 ascaridias vivas.	Reducidas a trozos fuertemente atacados.	N.º 4. - Fic. 3 c. c. id. id. id., al 1/8, en Ringer. 2 ascaridias vivas.	Con numerosas eventraciones ambas.
N.º 5. - Verm. 3 c. c. con 2'5 mlgr. por c. c. 2 ascaridias vivas.	Fuertemente atacadas, sin fragmentar.	N.º 5. - Fic. 3 c. c. id. id. id. al 1/16, en Ringer. 2 ascaridias vivas.	Con algunas eventraciones cada una.
N.º 6. - Verm. 3 c. c. con 1'25 mlgr. por c. c. 2 ascaridias vivas.	Varias eventraciones cada ejemplar.	N.º 6. - Fic. 3 c. c. id. id. id. al 1/32, en Ringer. 2 ascaridias vivas.	Muertas, sin deterioro orgánico apreciable.

Según los resultados obtenidos, la acción del *Vermizym* y del látex de *Ficus carica* sobre *Ascaridia galli* es de la misma índole, variando sólo la intensidad en relación con la concentración en sustancia activa en cada caso.

Aunque la acción de los líquidos decrece con la dilución de éstos en principio activo de una manera regular y paulatina, no pueden hacerse comparaciones que tengan la pretensión de resolver cuestiones de orden cuantitativo. Ahora bien, de modo meramente aproximativo puede decirse que el filtrado de «suspensión de látex» de concentración 1/1 tiene la misma acción que una disolución de *Vermizym* conteniendo 5 mlgrs. de papaína por c. c. (comparar tubo 4-Verm. con tubo 1-Fic. y respectivamente sucesivos).

En otras series de ensayos, aunque tratábase de lotes de ascaridias que respondían con diferente resistencia que las usadas en el cuadro 11, la evaluación comparativa fué prácticamente coincidente con la anterior.

#### J) Influencia de la concentración y de la cantidad total de fermento en la digestión de los nematodos.

Algunos autores, operando «in vitro», dicen haber encontrado que en el deterioro final de los nematodos sometidos a la acción de este tipo de fermentos influye sólo la cantidad total presente del mismo y no su concentración. Para comprobar esta afirmación realizamos una serie de experiencias con *Ascaridia galli* y soluciones de *Vermizym*.

Se pusieron 6 recipientes con volúmenes que variaban desde 3 c. c. hasta 96 c. c. de soluciones de *Vermizym* cada vez más diluidas (desde 40 hasta 1'25 mlgrs. de papaína por c. c.) de modo que en todos los recipientes había la misma cantidad (120 mlgrs.) de papaína. Es decir: concentración de la enzima, variable; cantidad total de la misma, constante.

En el siguiente cuadro puede verse la disposición y resultados de estas experiencias:

CUADRO 12

Contenido de cada recipiente	Resultado a las 16 horas a 37° C.
N.º 1. 3 c. c. solución de Vermizym con 40 miligramos de papaína por c. c. 2 ascaridias vivas. Papaína total = 120 miligramos.	Reducidas a trozos fuertemente atacados.
N.º 2. 6 c. c. solución de Vermizym con 20 mlgrs. de papaína por c. c. 2 ascaridias vivas. Total papaína = 120 miligramos.	Fuertemente atacadas las dos ascaridias.
N.º 3. 12 c. c. solución de Vermizym con 10 mlgrs. de papaína por c. c. 2 ascaridias vivas. Total papaína = 120 miligramos.	Algunas eventraciones y hernias.
N.º 4. 24 c. c. solución de Vermizym con 5 mlgrs. de papaína por c. c. 2 ascaridias vivas. Total papaína = 120 miligramos.	Muertas, pero sin ser atacadas.
N.º 5. 48 c. c. solución de Vermizym con 2'5 mlgrs. de papaína por c. c. 2 ascaridias vivas. Total papaína = 120 miligramos.	Muertas, pero sin deterioro.
N.º 6. 96 c. c. solución de Vermizym con 1'25 mlgrs. de papaína por c. c. 2 ascaridias vivas. Total papaína = 120 miligramos.	Muertas, pero sin deterioro.

Resulta, pues, bien claro que, al menos en las condiciones de trabajo impuestas en la experimentación anterior, lo que parece influir de manera exclusiva en el resultado final es la concentración del fermento, ya que a pesar de existir en todos los recipientes la misma cantidad total de papaína las ascaridias en su contacto fueron atacadas en relación con el número de miligramos por c. c. y en los últimos tres casos no fué ni tan sólo iniciada la digestión.

## SUMMARY

In the «watery suspensions of latex» from *Ficus carica* a digestive activity can be seen with living examples of *Ascaridia galli* and other parasitic nematodes. This action is present both in the transparent liquid which is produced by filtering the suspensions and in the residue retained by the filter.

Both the latex from the peduncles of green fruit and that from the petioles of leaves show that they have some digestive power with that parasitic species.

According to the results of some experiments, preparations from the cultivated variety are more efficacious than those from the same wild plant of our region, which could be explained by the greater latex content, weight for weight, of the former.

The suspensions of latex lose their activity when they are left at normal temperature for a few days and they are invaded by microorganisms.

«Mertiolate», in the proportion of 1:10,000, has a high preserving effect for at least 67 days at laboratory temperature.

1 % of sodium benzoate is also a preserver of the activity of latex, but to a lesser degree than «mertiolate».

The species of intestinal parasitic nematodes of chickens *Subulura brumpti* and *Heterakis gallinae*, located in the coecum are more vulnerable to the latex of *Ficus carica* than *Ascaridia galli*, whose location is in the small intestine of the same host.

With regard to *S. brumpti*, this appears to be less resistant to such a digestive action than *H. gallinae*, but this difference can only be clearly seen with preparations of medium and moderate activity.

The commercial chemical Vermizym, with a papaine base, has an effect on *A. galli* similar to that of the latex from *Ficus carica*, the activity of its action depending closely on the concentration of the liquid in papaine, but being independent of the total quantity of ferment present.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

En las «suspensiones acuosas de látex» de *Ficus carica* puede evidenciarse una actividad digestiva frente a ejemplares vivos de *Ascaridia galli* y otros nematodos parásitos. Dicha acción existe tanto en el líquido transparente que resulta de filtrar las suspensiones como en el residuo que es detenido por el filtro.

El látex procedente de pedúnculos de frutos verdes y el de peciolos de hojas demuestran ambos tener poder digestivo frente a dicha especie parásita.

Según el resultado de algunas experiencias, los preparados procedentes de la variedad cultivada son más eficaces que los de la misma planta

silvestre de nuestra región, lo cual pudiera explicarse por el mayor contenido en látex, por unidad de peso, de la primera.

Las suspensiones de látex pierden su actividad cuando se les abandona a la temperatura ordinaria por un período de pocos días, siendo invadidas por microorganismos.

El mertiolato al 1 por 10.000 tiene un alto efecto conservador por un plazo al menos de 67 días a la temperatura del laboratorio.

El benzoato sódico al 1 por 100 es también conservador de la actividad del látex, pero en menor escala que el mertiolato.

Las especies de nematodos parásitos intestinales de la gallina *Subulura brumpti* y *Heterakis gallinae*, de localización cecal, son más vulnerables para el látex de *Ficus carica* que la especie *Ascaridia galli*, cuya localización es en el intestino delgado del mismo hospedador.

A su vez, *S. brumpti* parece ser menos resistente a dicha acción digestiva que *H. gallinae*, pero esta diferencia sólo puede apreciarse con claridad frente a preparados de actividad media y moderada.

El producto comercial Vermyzim, a base de papaína, actúa sobre *A. galli* de modo similar a como lo hace el látex de *Ficus carica*, estando la actividad de su acción en estrecha dependencia con la concentración de líquido en papaína, pero siendo independiente de la cantidad total de fermento presente.

#### BIBLIOGRAFIA

Las más destacadas referencias bibliográficas que han sido consultadas sobre esta materia pueden verse en nuestra anterior publicación:

GURVARA POZO, D., y SUÁREZ PEREGRÍN, E. 1955.—Acción *in vitro* del látex y otros zumos de *Ficus carica* sobre *Ascaridia galli*. REV. IBER. PARASITOL., Vol. Extraordinario, marzo 1955, 4.