

# ENSAYOS PREVIOS SOBRE ACCION ANTIBACTERIANA DE ALGUNOS HELMINTOS

POR

*Carlos Rodríguez López-Neyra* y *José González Castro*

## INTRODUCCIÓN

La creencia popular relativamente difundida entre nuestro vulgo, sobre la acción protectora de la teniasis frente a la tuberculosis ; la observación repetida de helmintiasis humanas y animales en que, a pesar de las vías abiertas por los parásitos a la infección y de concurrir un conjunto de condiciones eminentemente favorables para la misma, no llega a producirse ; la convivencia de helmintos y gérmenes en determinadas localizaciones orgánicas, ya de un modo habitual (helmintos intestinales y flora intestinal) o accidental (algunas infecciones en hombres y animales parasitados) sin que los parasitados sufran, al menos de un modo acusado, alteraciones graves que pongan en peligro su vida, como consecuencia de la acción directa de las bacterias (invasión) o indirecta de sus productos metabólicos (toxinas), hace ya tiempo que atrajo nuestra atención, incitándonos a su estudio. Nuestro interés por estos problemas aumentó cuando pudimos comprobar en la literatura que otros autores habíanle prestado igualmente atención, e incluso se habían hecho algunos trabajos experimentales, orientados en este sentido.

Así, por ejemplo, como resultado de una atenta observación clínica o epidemiológica, diversos autores han querido ver el au-

tagonismo entre ciertas helmintiasis e infecciones, hechos que, como todos aquellos que no se basan en una seria y meticulosa experimentación, no han sido admitidos por otros, que fundados también en observaciones del mismo tipo pero de sentido contrario, se han erigido en sus detractores. Ya antiguos clínicos franceses como André (1878), Grancher (1887) y Boulland, admitieron explícitamente el antagonismo entre teniasis y tuberculosis, en contra de renombrados compañeros de su época, que lo negaban categóricamente.

Mandoul (1931) recuerda sus antiguos trabajos con L. James (de los que daremos cuenta más adelante), acerca de la acción antituberculosa de los extractos de tenia, comprobada experimentalmente en los cavia, que concuerdan perfectamente con las antiguas observaciones sobre los tuberculosos portadores de tenias: éstos, se acomodaban bastante bien a su tuberculosis sin parecer estar muy afectados, en tanto que albergaban el parásito, pero en cuanto éste se expulsaba espontáneamente o por un tratamiento antihelmíntico, la infección tuberculosa no tardaba en tomar una forma más aguda, lo que no sería en su opinión, más que una manifestación del poder bactericida de estos helmintos, que se extiende también a otros gérmenes patógenos. A continuación se refiere a los trabajos de Sorour en El Cairo, referentes a otros platelmintos, las Bilharzias. Este autor ha observado lesiones dobles, bilharziósicas y tuberculosas, juntas, en el mismo campo microscópico, y en diferentes órganos (pulmón, intestino, testículos, epidídimo, epiplón, cuello uterino), sorprendiéndose por la perfecta encapsulación fibrosa de los focos tuberculosos, lo que le hace pensar si los factores creados por la Bilharziosis concomitante, no influenciarían favorablemente la curación de las lesiones tuberculosas. De otra parte, mientras que la tuberculosis de los órganos y de los tejidos es muy frecuente en los enfermos del Hospital Kasr-el-Aini, siendo considerada como un factor importante de mortalidad, la tuberculosis de las vías urinarias es muy rara, tal vez debido al antagonismo entre lesiones tuberculosas y bilharzianas, pues, como es sabido, éstas suelen localizarse en vías urinarias. Menciona Sorour, que la anquilostomiasis, enfermedad endémica en la que la eosinofilia es intensa, raramente se asocia a la tuberculosis, como se lo atestiguan las autopsias practicadas desde 1905. Finalmente, el autor se plantea la cuestión: «¿Es permitido de-

ducir de nuestro estudio, que las lesiones de los helmintos (tal menos de las Bilharzias y Anquilostomas) y la eosinofilia intensa que ellos ocasionan, crean una atmósfera poco favorable al desarrollo del bacilo de la tuberculosis?».

En la tesis de Ramisirav, según Poisson (1936), se lee el siguiente párrafo referente a las creencias seculares de los malgachos: Au moment de l'expulsion des vers on regarde attentivement si l'on si en trouve pas un plus larg et plus long que les autres. Ce serait un très grand malheur, on serait en presence du *mpiandry aina* (gardien de la vie) et la mort du malade ne tarderait pas a venir». De igual modo, dice Poisson, se sabe que los malgachos comen voluntariamente cerdos con ladrería (*cisticercos*) que prefieren a los que están sanos, y establece las posibles relaciones de estos dos hechos, con las observaciones de Mandoul sobre antagonismo entre teniasis y tuberculosis. El mismo autor, fundándose en diversas estadísticas, hace un estudio de la frecuencia de la teniasis y otros parasitismos en Madagascar, comprobando su frecuencia, lo que le lleva a decir: «Si queda así establecido que las helmintiasis son frecuentes en Madagascar, y que los portadores de tenias son numerosos, ¿no es posible pensar que muchos de los casos de tuberculosis humana o animal quedan estacionarios o benignos como consecuencia de este hecho?». Los malgachos y los europeos, mueren ciertamente de tuberculosis, pero el autor cree que estos casos son menos frecuentes que en Francia, y, además, que la tuberculosis en Madagascar es una enfermedad menos temible que en los países templados. En lo que concierne a los animales, expone cómo en el Zebú la tuberculosis en la mayoría de los casos se presenta como una enfermedad crónica de evolución lenta, con tubérculos caseificados, y no es de ningún modo incompatible con la vida del animal, siendo esta observación todavía más exacta para el cerdo, que vive en las regiones centrales, con lesiones tuberculosas caseificadas la mayor parte del tiempo, limitadas a los ganglios de la cabeza, más raramente a los pulmones o a las vísceras abdominales, siendo de todos los animales domésticos malgachos el más extensamente parasitado por toda clase de gusanos (Cestodes y Nematodes). Igual ocurre con las aves, en las que es rara la tuberculosis. Otros animales, como los terneros, están igualmente muy parasitados por *Ascaris* y *Moniezia expansa*, ésta, también muy repartida. Referente al especial tipo de tuberculosis

en el zebú, queda en duda Poisson sobre si referirla a una resistencia particular de los bueyes malgachos, obtenida por una selección natural muy antigua, como piensa Carongean, o a la presencia de gusanos intestinales, de los cuales están abundantemente parasitados los bóvidos de Madagascar. Sin querer mantener conclusiones definitivas sobre ninguno de estos hechos, Poisson termina diciendo: «... yo pienso que sería interesante buscar la correlación entre las helmintiasis y la tuberculosis, tanto en el hombre como en los animales, lo que podría, si esta relación de causa a efecto es comprobada, confirmar las observaciones hechas en Egipto por Mandoul y explicar las creencias de los Malgachos, creencias a menudo basadas como en todos los pueblos sobre hechos observados repetidas veces y aun constatados por experiencias empíricas que se conservan y transmiten por tradición».

De Leobardy es uno de los autores franceses que más se ha distinguido en los últimos tiempos en la defensa del antagonismo teniasis y tuberculosis. En una comunicación a la Sociedad de Estudios sobre la Tuberculosis (1940) y en la tesis de su alumno M. Charles (1940), se pone de manifiesto el hecho que, no solamente los tuberculosos portadores de tenia no son incomodados por su parásito, sino que, al contrario, la expulsión de este último, provocada o espontánea, coincide con la aparición de un brote exolutivo y con una agravación de su estado general.

Black (1946) publica una encuesta concerniente a 711 tuberculosos, de los cuales 60 eran portadores de anquilostomas, presentando su enfermedad una evolución tórpida y favorable. La baciloscopia era positiva en el 63'4 por 100 de los sujetos parasitados y en 70'5 por 100 de los sujetos no parasitados.

Sahel (1947), con motivo de una encuesta epidemiológica efectuada en el Alto Egipto, no con el fin de descubrir sistemáticamente la tuberculosis pulmonar, sino el paludismo que tanto azotó por aquella fecha tal región, observa que los sujetos muy anemiados y que a primera vista eran considerados como muy sospechosos de tuberculosis tras un estudio clínico y radiológico detenido, no revelaban la menor lesión pulmonar; además, en aquellas localidades donde la anemia era más frecuente, se observaba el título de morbilidad tuberculosa más bajo. Esta anemia era debida a la anquilostomiasis muy extendida por todo el país, por lo que el autor piensa que la resistencia de estos

sujetos, frente al *B. de Koch*, a pesar de las condiciones generales desfavorables, es imputable a la presencia en ellos de anquilostomas con anterioridad a la primo-infección tuberculosa. La acción del parásito se ejercería, sobre todo, por intermedio de las células eosinófilas entretenidas por su presencia, lo que establecería cierta relación entre la parasitosis y el asma, que no se observa casi nunca con la tuberculosis evolutiva, y cuando parece reconocer un origen tuberculoso, las lesiones pulmonares que la acompañan se limitan a la fibrosis, procesos de resistencia y, en suma, de curación. Quizá también los parásitos ejercerían en el organismo una acción antibiótica directa frente al *B. de Koch*, y los eosinófilos no serían más que el testigo de la reacción del organismo frente al parásito.

Delanoe (1948) cree encontrar cierta relación entre la resistencia de los musulmanes marroquíes a la infección tuberculosa y la frecuente infestación intestinal por diversos helmintos (tenias, áscaris, oxiuros); según la autora, la menor receptividad de los musulmanes que los israelitas a la infección tuberculosa, podría quizá deberse a la menor frecuencia de parasitismos intestinales en éstos, como resultado de sus hábitos y costumbres culinarias.

Como vemos, ciertas creencias populares y algunas observaciones clínicas y epidemiológicas parecen abogar en pro de ciertos antagonismos entre determinados helmintos y bacterias. Sin embargo, no todos los autores están de acuerdo con tal antagonismo, e incluso hay quien ve favorecida la marcha de algunas infecciones por su coexistencia con una helmintiasis. Así, por ejemplo, Von Bülow (1929) observa en una enferma, de Costa Rica, la reactivación de antiguas lesiones tuberculosas, por el paso intrapulmonar de larvas de anquilostoma, larvas que junto con Bacilos de Koch observa al examinar los esputos.

Romero Calatayud (1931-32), estudiando las relaciones entre verminosis intestinales e infección tuberculosa en amplios grupos de niños, en condiciones experimentales muy semejantes, llega, entre otras, a las siguientes conclusiones: «1.° Los vermes intestinales se desarrollan con mayor frecuencia en los niños tuberculosos que en los sanos. 2.° Esta desigualdad parece corresponder a un factor constitucional de debilidad existente en los tuberculosos». Realmente este autor sólo habla de la facili-

tación de las helmintiasis por la tuberculosis, pero no de un efecto pernicioso de aquéllas sobre ésta.

Según Berny (1936), en la Guayana francesa, con arreglo a los datos de Leger, en 1917, el índice helmintológico era de 95 por 100 en el elemento transportado y de 82 por 100 en los soldados *criollos*. Durante el año 1935, el examen de 2.884 heces en el Instituto de Higiene de Cavena arrojó un 52 por 100 de anquilostomiásicos. Puen bien, en esta zona la tuberculosis es muy frecuente y evoluciona muy rápidamente. Estos datos, en desacuerdo con los de Sorour y Mandoul, le lleva a investigar el parasitismo en 30 tuberculosos bacilíferos, con el fin de averiguar si estaban parasitados especialmente por anquilostomas, si presentaban eosinofilia y si la evolución de su tuberculosis era distinta a la de tuberculosos no parasitados. El autor observa que 13 —o sea el 36 por 100— eran portadores de anquilostomas; en casi un 50 por 100 la eosinofilia era muy neta y que la infección parecía evolucionar de manera idéntica en los parasitados y en los no parasitados.

Estos hechos contradictorios no pueden extrañarnos, si tenemos en cuenta que en el problema que se debate, son muchos los factores involucrados que no han sido tenidos en cuenta. Además, se ha generalizado demasiado al hablar de antagonismo entre helmintos y bacterias, sin tener en cuenta las diferencias biológicas entre unas y otras clases de gusanos y unas y otras clases de gérmenes, lo que indudablemente ha de tener un valor considerable en cuanto a su recíproco comportamiento. La importancia de estos factores, posiblemente sea equiparable a la de otros seres vivos, como los hongos, entre los que hoy se sabe perfectamente que existen especies capaces de elaborar sustancias antibacterianas activas frente a determinadas bacterias y no frente a otras, es decir, que existe un verdadero *espectro microbiano* para cada hongo activo; pero, además, dada una especie determinada y su grupo de gérmenes sensibles, es posible conseguir variedades más o menos activas frente a estos gérmenes, y su actividad sufre grandes oscilaciones, según la naturaleza del substratum nutritivo, pH, temperatura, etc., a que se efectúa el desarrollo del moho. Hace falta, pues, que la experimentación se encargue de puntualizar lo que pueda haber de cierto en estas observaciones sobre antagonismo de helmintos y microbios.

Bajo un punto de vista teórico, y por analogía a lo que sucede en otros seres vivos, algunos no muy alejados de los helmintos dentro de la escala zoológica, no es aventurado suponer que los gusanos y las bacterias, que normal o accidentalmente conviven en el mismo lugar de un ser parasitado (*parabiosis*) (1), deben comportarse, o indiferentemente, o beneficiarse (*probiosis*), o perjudicarse (*antibiosis* o *antagonismo*). Y siguiendo este razonamiento lógico, la acción antagonista, entre un germen y un helminto, no se limitaría en todo caso a una influencia desfavorable sobre el medio ambiente común, que diera por resultado el retardamiento, la disminución o la abolición del crecimiento, o la debilitación de cualquier función vital para el helminto, como es el caso entre bacterias, sino que siendo el gusano un ser pluricelular, con sus órganos y sistemas más o menos primitivos y rudimentarios, los gérmenes tratarían de invadirlo le igual forma que a un organismo superior y frente a ellos pondría en juego su sistema de defensas. En cuanto a cómo son y en qué consisten estas defensas, muy poco o nada se sabe. Si hemos de juzgar por analogía con lo observado en otros invertebrados (2), posiblemente existiría un mecanismo preponderantemente humoral, aunque también celular, aparte del conjunto de barreras que frente a la invasión microbiana representan los tegumentos del animal más o menos quitinizados y posiblemente los líquidos digestivos y las estructuras histológicas del sistema intestinal (en aquellos helmintos que lo poseen), así como las correspondientes al sistema excretor.

Hasta ahora, muy pocos son los trabajos en que se haya intentado abordar el estudio de la acción antibacteriana de los helmintos, pero ellos muestran ya ciertas seguridades sobre su existencia. Así, Jammes y Mandoul (1904) hacen un estudio sobre el poder bactericida de diversas especies de áscaris y de tenias, frente a diferentes gérmenes saprofitos y patógenos: a tal fin, obtienen jugos helmintianos que dejan contaminar espontáneamente, o bien los esterilizan por tindalización a 52° ó por filtra-

(1) Utilizamos los términos *parabiosis*, *probiosis* y *antibiosis* en el sentido de M. Welsch, en su trabajo «Phénomènes d'antibiose chez les Actinomycetes». Rev. Belge Path. Med. Exp. T. XVIII. Suplemento II

(2) Sobre inmunidad en los invertebrados puede consultarse el excelente trabajo de conjunto de Jean G. Baer «Immunité et répétitions immunitaire chez les Invertébrés». Rev Suisse de Path. et Bnt. Separatum. Vol. VII. Fasc. 4. 1944.

ción a través de bujías y seguidamente los siembran con gérmenes patógenos, o los inyectan a animales previamente infectados y observan que efecto tienen sobre la marcha de la infección. Los jugos de áscaris (*A. megaloccephala*, *A. vituli*, *A. mystax*), abandonados libremente, se contaminaban con facilidad por diversos bacilos (*B. subtilis*, *B. piocianico*, *B. coli*): este mismo jugo, esterilizado por filtración y sembrado de *B. tífico* y *Vibrión colérico*, permitía un cultivo abundante, semejante al que se obtiene en los medios ordinarios; inyectado en cantidad de 1 c. c. a 3 c. c. a la paloma previamente inoculada intraperitonealmente con un cultivo de colibacilos, no evita su muerte por peritonitis, siendo igualmente inefectivo, en la estafilococcia del conejo, por inyección intrarraquídea. El jugo de áscaris carecería, pues, de propiedades bactericidas, lo que, según los autores, concuerda con las observaciones clínicas, de que los áscaris pueden cohabitar con los gérmenes patógenos intestinales (*Vibrión colérico*, por ejemplo), sin que éstos parezcan molestados por su acción y, además, con el papel vectorial respecto a diversos gérmenes, pero de un modo especial del *B. de Eberth*, que se le atribuye a estos gusanos. Los jugos de tenia (*T. expansa*, *T. serrata*, *T. mesocetoides*, *T. inermis*), abandonados, se dejan a veces también infectar, pero sólo por bacilos con esporas resistentes como el *Bacilo subtilis* y *Bacilo mesentericus vulgaris*. Los mismos jugos sembrados con otros microbios saprofitos o patógenos, manifiestan propiedades bactericidas evidentes, aunque irregulares. El jugo de *T. serrata*, diluido al tercio en suero artificial y filtrado por bujía Chamberland B, se mostró refractario al cultivo de *B. mesentéricus*, *B. piocianico*, *B. coli*, *Estafilococo dorado*, *B. tífico* y *Vibrión colérico*. En el jugo puro de *Tenia expansa*, filtrado por bujía Chamberland F, el *B. coli*, *B. tífico* y *Vibrión colérico*, se desarrollan con dificultad, no dando más que un ligero enturbimiento; el *B. enteridites* y el *Estafilococo dorado* sufrieron un retardo en su evolución, formando grumos, como si fueran aglutinados; el *B. piocianico* sólo se retrasó en su desarrollo 24 horas. El jugo de *Tenia inermis* resultó inactivo frente al *Estafilococo dorado*, *B. tífico* y *Vibrión colérico*, produciéndose, a veces, como con el jugo de *Tenia expansa*, grumos. Para investigar la acción antagónica de las tenias frente al *B. de Koch*, disponen 3 lotes de 5 caviar cada uno, inoculando uno con jugo de *T. inermis*, otro con *B. de Koch*

y otro con jugo de la misma tenia y *B. de Koch*. Las diferencias de la evolución de la tuberculosis en el grupo control y problema fueron muy marcadas, retardándose en este último grupo su aparición y dando lugar a lesiones ganglionares mucho más pequeñas.

James y Mandoul (1905) vuelven a insistir, en una breve nota, sobre las propiedades bactericidas de los jugos helmintianos demostradas en las experiencias precedentemente expuestas, cuya intensidad no sólo dependería del modo de preparación, sino de la clase de Tenia, de la concentración del extracto y de la clase de microbios, yendo en orden de sensibilidad decreciente el *Vibrión colérico*, *B. tífico*, *Colibacilo* y, por último, los gérmenes esporulados (*B. subtilis* y *B. mesentéricus*). Los autores llaman la atención sobre el paralelismo funcional de las tenias y del intestino delgado, ya que se defienden de igual modo ante la infección (substancias bactericidas), frente a la acción digestiva de los jugos (poder antiquinásico) y absorben los productos alimenticios de igual modo. Esto les lleva a decir: «La convergencia de las funciones de la tenia y de la pared digestiva del hospedador parece ser el resultado de una adaptación cada vez más estrecha del primero a la vida intra-intestinal. Esta adaptación tiene ciertamente en el cestode una parte de influencia en la atrofia del tubo digestivo, la perforación de la cutícula y la transferencia de las funciones digestivas a la superficie del cuerpo. Como consecuencia de estos fenómenos, el parásito hace suya la cavidad digestiva del hospedador y funciona paralelamente a la pared intestinal: él ejerce sus funciones todas de absorción y despliega sus medios de defensa, especialmente su poder bactericida».

«Estas consideraciones nos conducen a interpretar, de una manera simple, la acción beneficiosa especial, que puede ejercer la tenia sobre el hospedador: este gusano aporta los medios de defensa propios, que se juntan a los de él. Es posible, que en ciertos casos, este último saque ventaja de tal complemento».

«Al mismo tiempo que ellos permiten comprender la existencia del poder bactericida en los cestodes, las consideraciones precedentes explican quizá su ausencia en los Nematodes. Los primeros están revestidos de una cutícula perforada (permeable), que permite la absorción, pero impropia para asegurar una protección eficaz; el poder bactericida aparece como un modo de

protección compensando la acción insuficiente de la cutícula. Los segundos están recubiertos de una cutícula continua y carecen, así como nosotros lo hemos mostrado en otro lugar, de poder bactericida».

En 1906, James y Mandoul hacen una nueva publicación glorificando sus primeras experiencias, donde establecen 3 grupos de gérmenes según su sensibilidad a la acción bactericida de las tenias. En el primero, se incluyen los menos sensibles, estando constituido por microbios comunes cuyo *habitat* es poco especializado: figuran en él, en orden de sensibilidad creciente, el *B. subtilis*, *B. mesentéricus*, *Proteus*, *Piociánico* y *Estafilicoco*. En el segundo, se encuentra el *Colibacilo*, con una sensibilidad intermedia. Y en el tercero, diferentes gérmenes intestinales patógenos, como el *B. tífico* y el *Vibrión colérico*, y alguno como el *B. de Koch*, que puede tener también su puerta de entrada por el intestino. Seguidamente, los autores recuerdan las investigaciones de Conradi y Kuipjuweit sobre la existencia de secreciones bactericidas en ciertos microbios intestinales, especialmente el *Colibacilo*, que se dejan sentir de preferencia sobre los bacilos de Eberth y Paratíficos, diciendo con este motivo: «Comportando el mismo medio, no puede ser sorprendente que el *Colibacilo* y las tenias posean diversas propiedades comunes, particularmente la posibilidad de resistir a la acción de los jugos digestivos y un poder bactericida, especialmente dirigido contra los microbios patógenos introducidos en su propio *habitat*».

«Estos diferentes datos permiten —creemos nosotros— dar una interpretación más precisa del poder bactericida de los cestodes:

1.º Este poder parece especialmente activo contra los microbios patógenos que se introducen en el medio intestinal.

2.º No debe considerarse como patrimonio o dotación especial de los cestodes.

3.º El paralelismo que se establece entre ciertos actos de seres muy alejados, como las tenias, las bacterias y la pared digestiva misma, muestra con evidencia que estos actos deben estar sujetos a una causa general que determina su convergencia. Esta causa parece ser la necesidad de una defensa común contra la acción del medio digestivo. Si es así, el poder bactericida representa como un arma apropiada a las condiciones presentadas por el contenido intestinal y simultáneamente empleado

por las diversas individualidades (tenias, microbios normales del intestino, células de la pared digestiva) que viven en su contacto».

Koidzumi (1927) refiere unas experiencias de Ugami y Mivagawa, en que un grupo de caviás fué moderadamente infectado con larvas de áscaris, y 17 días más tarde, una parte del lote recibe una inyección intraperitoneal de *Bacilo tuberculoso*, dejando el resto como control. Contrariamente a lo que se esperaba, los controles se infectaron más severamente que los animales infectados simultáneamente con áscaris.

Kawanishi (1929), embadurnando la piel de caviás con una emulsión de *B. de Eberth* y colocando sobre ella larvas intestinales de anquilostoma, consigue que al penetrar activamente estas larvas, a través de la piel, arrastren con ellas los gérmenes, que pueden ser encontrados, al cabo de una hora, en diversos órganos. Observó que muchas bacterias se adhieren sólidamente a la superficie de la larva, pero que ninguna se encuentra en el interior, debido a que sufren la acción de «fermentos bactericidas».

Joyeux y Baer (1929), estudiando la reencapsulación del *Sparganum ranorum*, se admiran de que, a pesar del grave traumatismo causado por su paso a través de la pared estomacal e intestinal, no se presenten complicaciones infecciosas, y que los cortes del gusano reencapsulado no muestren más que una débil o nula reacción alrededor de la cápsula. Pensando que el *Sparganum* pudiera ejercer una acción bactericida frente a la flora del tubo digestivo, llevan a cabo el siguiente experimento: El contenido intestinal de una culebra parasitada se siembra sobre caldo peptonado en una serie de tubos. En la mitad de estos tubos se agregan *Sparganum* aislados asépticamente. A las 24 horas, los tubos que contienen *Sparganum* están mucho menos turbios que los otros. El recuento de bacilos da por mm. c. 31.450.000 para los tubos que contienen solamente flora microbiana intestinal, y 16.923.000 para los que contenían la flora y los *Sparganum*.

Bacigalupo (1942), haciendo examen microscópico directo y cultivos de la serosidad peritoneal de caviás infectados con metacercarias de *Fasciola hepática*, no consigue aislar ningún germen, a pesar de que tal serosidad se debía al paso de las mencionadas formas larvarias que procedían de un medio séptico,

como es el medio intestinal y de que tuvieron que abrirse camino a través de la pared del intestino para llegar al peritoneo.

Parece, pues, que la experimentación apoya también la idea de una acción antibacteriana de los helmintos. Ello nos ha impulsado a iniciar una serie de investigaciones, de las que en el presente trabajo sólo vamos a dar a conocer algunos ensayos previos de orientación, que nos han permitido corroborar en cierto modo los trabajos de James y Mandoul y aportar algunos datos nuevos.

El estudio de las acciones recíprocas entre bacterias y helmintos, no creemos represente sólo una curiosidad científica, sino que posiblemente de él se derivarían algunas adquisiciones de utilidad práctica indiscutible en Medicina y Veterinaria. Así, por ejemplo, la acción antagónica de determinados helmintos, frente a ciertos gérmenes patógenos, podría utilizarse con fines terapéuticos, ya sea por implantación artificial de estos helmintiasis en los organismos infectados, o por la inoculación a éstos de las sustancias helmintianas activas. Y a la inversa, gérmenes inocuos para el hospedador de un helminto, pero muy activos frente a éste, podrían utilizarse por sí o sus principios activos para combatirlo. La existencia de sustancias antibacterianas que difunden o trasudan libremente por la superficie del cuerno del gusano o por intermedio del sistema excretor o de orificios de conductor glandulares, o en el interior del sistema digestivo donde eventualmente pueden alojarse gérmenes diversos, que más tarde por regurgitación o través del orificio anal salgan al exterior, podría explicar el por qué ciertos helmintos, ya en sus fases adultas o en las larvarias, a pesar de lesionar ampliamente el ser que parasitan en zonas bañadas por un medio séptico, o de efectuar en su interior largos y tortuosos recorridos procedentes de lugares contaminados, sólo raramente abren la puerta a la infección, o se erigen en vehículos que la transporten a la intimidad tisular del organismo. Y aun más, una acción antibacteriana selectiva, como es el caso en la mayor parte de las sustancias antibacterianas de origen biológico, podría explicar quizá, junto a determinadas características estructurales de los gusanos, la acción inoculadora o vectorial de un determinado helminto para unos gérmenes y no para otros. Pensando de esta forma se comprendería, en parte, esa aparente contradicción que uno de nosotros apuntábamos en un reciente trabajo, sobre la acción vec-

torial o inoculadora de gérmenes que algunos le atribuyen a los gusanos y que otros se la niegan, fundados unos y otros en hechos de observación y más raramente en trabajos experimentales cuidadosos.

## PARTE EXPERIMENTAL

*Propósitos.*—En esta primera parte de nuestras investigaciones, el fin que nos proponíamos era comprobar si el jugo de algunos cestodes poseía acción antibacteriana definida frente a gérmenes diversos, como James y Mandoul sostienen, y si así era, determinar si el triturado total de los mismos cestodes, después de desecado a temperatura moderada (no superior a 40°) seguía mostrando actividad, en cuyo caso nos permitiría acumular cantidad suficiente de material para intentar la purificación de la sustancia o sustancias activas. Mas no sólo abordamos estos problemas, sino que también, como después veremos, intentamos extraer de los triturados frescos de las tenias, utilizando varios solventes orgánicos diversas fracciones, con objeto de estudiar si la actividad antibacteriana de alguna de ellas era superior a la del producto crudo. Así mismo experimentamos la acción antibacteriana de triturados totales desecados de tenias, que previamente habían estado sometidas a la acción del formol, así como de ciertas fracciones igualmente formoladas.

*Material y técnica.*—Los cestodes utilizados en nuestras experiencias han sido la *Moniezia expansa* (Rudolphi 1810) y la *Stilesia* (= *Avitellina*) *centripunctata* (Rivolta 1874), habiendo sido preferidas a otros cestodes, por la facilidad con que pueden conseguirse en los mataderos.

Los jugos helmintianos para las experiencias se obtenían triturando en un mortero 60 gr. de tenias hasta convertirlos en una papilla finamente grumosa; se agregaba entonces 20 c. c. de suero salino, con objeto de fluidificar la papilla, y hacer más fácil la filtración, que de otra forma resultaba casi imposible. La mezcla se dejaba en reposo durante 10 minutos, y entonces se filtraba por papel de filtro primero y seguidamente por bujía Chamberland L<sub>3</sub>. Esta filtración resultó siempre larga y penosa.

La actividad antibacteriana de estos jugos se ha probado distribuyendo la cantidad que se obtenía en 4 tubos de hemolisis, 3 que se sembraban con los gérmenes problemas y otro que se

dejaba como testigo doble de : a), esterilidad ; b), si ésta se demostraba, el tubo quedaba completamente transparente, y podíamos así, comparativamente con él, apreciar el grado de enturbiamiento de los tubos problemas y, por tanto, la capacidad antibacteriana del jugo frente al germen en cuestión. Cuando este tubo se enturbiaba, era señal de contaminación del jugo, y por lo tanto la prueba no se consideraba válida. En cada prueba se disponían, además, testigos con cantidades equivalentes de caldo, uno para cada germen investigado : el grado de enturbiamiento en ellos nos servía también para juzgar, por comparación con el de los tubos problemas de jugo, su capacidad antibacteriana. Siempre, antes de comenzar la prueba, era determinado colorimétricamente el pH del jugo, con objeto de ver si era compatible con un perfecto desarrollo del germen a sembrar.

Para preparar los triturados totales desecados, recogíamos los gusanos del intestino de los animales, lo más pronto posible después de su sacrificio, e inmediatamente se lavaban abundantemente con agua del grifo, hasta que quedaban completamente limpios. Se lavaban tres veces más en agua estéril y se disponían bien extendidos sobre láminas de vidrio (vidrio de ventana) algo inclinadas para que escurriese el agua que soltaban ; con hojas grandes de papel de filtro estéril se enjugaban, desecándose finalmente a la estufa a 37°-38° C. Cuando los cestodes habían quedado reducidos a una película blanco-amarillenta, muy adherente al vidrio, perfectamente seca, se les raspaba con una espátula, y el raspado se pulverizaba en un mortero estéril, de donde el triturado se trasladaba a frascos estériles de tapón esmerilado para su conservación. Para algunos extractos, los helmintos después de lavados se mantenían en agua formolada durante un tiempo variable, y después de nuevos lavados con agua destilada y de permanencia más o menos prolongada en la misma para eliminar el formol, eran desecados y triturados, como queda dicho precedentemente.

Al ocuparnos de cada extracto, en particular, expondremos más detalles sobre su obtención e indicaremos la marcha seguida para obtener una fracción alcohólica y otra etérea que han sido objeto de nuestros ensayos, así como una fracción formolada, precipitable por el alcohol.

Los triturados desecados fueron generalmente ensayados sobre placas de agar, sembradas en masa, con el germen cuya sen-

sibilidad se quería investigar. La técnica consistió en sembrar con tres asas de un cultivo de 24 horas del germen en caldo 12 c. c. de agar fundido a 45° C en un tubo : se homogenizaba la siembra, rotando el tubo entre las manos, y se vertía el agar en una caja de Petri, confeccionando una placa. Una vez solidificado el agar, se depositaba sobre cualquier lugar de la misma un peso determinado del triturado seco, formando un montecito (técnica similar a la recomendada en la circular número 198 por el Departamento de Agricultura de E. U., para probar las propiedades inhibidoras de pastas, polvos, pomadas, etc., a base de desinfectantes), que al empaparse con el caldo del agar difunde a su alrededor las sustancias activas, cuando existen. Mas raramente, el triturado ha sido agregado a una cantidad determinada de caldo peptonado ordinario, filtrada la mezcla después de un cierto tiempo de contacto, esterilizado el filtrado y, por último, filtrado. Este último método sólo se utilizó para un triturado formolado.

Para ciertos extractos líquidos o pastosos, empleamos, ya el método de los cilindros de Heatley, ya el de los papelillos de filtro.

Tanto para los triturados totales como para los extractos líquidos o pastosos, se comprobó previamente, si producían o no cambios del pH del medio, suficientes por si solos, para explicar cualquier acción inhibidora. Los triturados totales eran agregados, a tal fin, a una pequeña cantidad de caldo, y después de 12-24 horas, se filtraba y determinaba colorimétricamente el pH del filtrado. Este, generalmente, se acidificaba algo, de forma que de 7'2 que era el pH del caldo, se hacía un pH 7 a 6'8, modificación perfectamente compatible con un buen crecimiento de los gérmenes investigados.

La comprobación de los resultados se hacía siempre a las 24 y 48 horas de incubación de los medios en la estufa a 37° C, prolongándose a veces la observación por más tiempo.

Los gérmenes frente a los cuales se han ensayado los productos vermicianos, han sido : *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A y B* y dos gérmenes de tipo bacilar cuya identificación no hemos hecho, aislados de unos triturados totales de *Moniezia expansa* que resultaron inactivos, por lo que los designamos *Bacilo Moniezia I* (B. M. I.) y *Bacilo Moniezia II*. Finalmente, gracias a la

amabilidad del Dr. Suárez, al que quedamos reconocidos, se efectuó un ensayo frente al *Vibrión colérico*, cepa Korin de Egipto (1), con un triturado de *Moniezia* y con un extracto sobre lo que vilveremos después.

Para facilitar la referencia a determinado producto vermiciano, hemos optado por designar los jugos por J, los triturados totales por T y las fracciones o extractos por E; a ellos se agrega la inicial en mayúscula del nombre del gusano de que proceden (M = *Moniezia*, S = *Stilezia* (= *Avitellina*) y, finalmente, un número romano, que indica el orden de obtención del producto. Cuando con una misma tenia obtuvimos varios productos o fracciones, al número de orden se le agregaba una letra pequeña para diferenciarlos.

#### PRUEBAS CON JUGO DE MONIEZIA EXPANSA

Se ensayan los jugos correspondientes a dos lotes de *M. expansa*, procedentes de animales diferentes, frente al *B. de Eberth*, *Escherichia coli* y *Staphilococcus pyogenes aureus*. De ambos jugos, la cantidad conseguida después de 4 horas de filtración fué aproximadamente 6 c. c. El pH del primero (J. M. I) fué 7 y el del segundo (J. M. II) 6'9.

**Resultados.**—J. M. I: Contaminación del tubo testigo y de los problemas por *B. subtilis*, careciendo, por consiguiente, de valor la prueba.

J. M. II: Ausencia de contaminación en el tubo testigo.

El tubo de *B. de Eberth* se mantuvo con igual aspecto que el testigo, no siendo demostrable en él gérmenes por examen directo.

El tubo de *Escherichia coli* mostró a las 48 horas un crecimiento bacteriano muy discreto, mucho menor que en el testigo de caldo.

En el tubo de *Staphilococcus pyogenes aureus* se observó un ligerísimo enturbimientto apenas perceptible, siendo difícil la observación de gérmenes al examen directo (gota pendiente y Gram).

(1) Esta cepa fué aislada en la reciente epidemia colérica de Egipto, habiendo sido traída al Instituto de Higiene de Granada para la confección de vacuna anticolérica.

**Conclusiones.**—Se demuestra el poder antibacteriano del jugo de *Moniezia expansa*, siendo mayor para el *B. de Eberth* y menor para el *St. p. aureus* y sobre todo para el *Escherichia coli*, coincidiendo estos resultados con los obtenidos por James y Mandoul, en Francia, salvo ligeras modificaciones, ya que en nuestras experiencias el *B. de Eberth* no se desarrolló en el jugo, mientras que aquellos autores observan un ligerísimo crecimiento, y además la sensibilidad del *St. p. aureus* resultó mayor que la del *Colibacilo*.

#### PRUEBAS CON JUGO DE AVITELLINA CENTRIPUCTATA

Con tres lotes de tenias, procedentes de diferentes animales, se preparan tres jugos: J. S. I, J. S. II y J. S. III. La filtración se hizo en 3 horas 45 minutos y el pH de los jugos estuvo alrededor de 7. En cuanto a su aspecto, se trataba de un líquido opalescente blanquecino, más que el de *Moniezia*. Se prueban frente al *B. de Eberth*, *Escherichia coli* y *St. p. aureus*.

**Resultados.**—En los tres jugos, el tubo control resultó contaminado por un cocobacilo móvil Gram negativo, germen que se comprobó también en los restantes tubos, por lo que se consideran las pruebas sin valor. Desde luego, en los tres tubos problemas, junto al germen de contaminación, identificamos los gérmenes sembrados, escasos los *B. de Eberth*, más abundantes los *Colibacilos* y *Estafilococos*. Posiblemente, el germen de contaminación debió pasar las bujías procedentes de los triturados.

**Conclusiones.**—La contaminación de los tres jugos de *Stilezia* (*Avitellina*) *centripuctata*, no permite juzgar sobre si poseen o no propiedades antibacterianas, ya que el crecimiento en ellos de los gérmenes patógenos sembrados, tanto pudiera depender de una débil o nula acción antibacteriana del jugo para estos gérmenes, como de su anulación o interferencia por el germen de contaminación o todavía por la intervención de los dos factores conjuntamente.

# PRUEBAS CON TRITURADOS TOTALES DESECADOS DE MONIEZIA EXPANSA

*T. M. I.*—Se prepara, a partir de tenias recién aisladas que se lavan y desecan, como ya expusimos. Con una parte de este lote de tenias se prepara un extracto alcohólico-etéreo, al que después nos referiremos.

Sobre tres placas, una de *Salmonella typhi*, otra de *Escherichia coli* y otra de *St. p. aureus*, se depositan dos montoncitos de 0'30 gr. del triturado desecado y se incuban a 37° A las 24 horas, en la placa de *B. de Eberth* (Lám. I, fig. 1), se observa, junto al triturado, una banda muy estrecha de 2-3 milímetros, donde no han crecido apenas colonias, sobre todo en las capas superficiales del agar: en las placas de *E. coli* y *St. p. aureus* no se observa inhibición. A las 48 horas, salvo en la placa de *B. de Eberth*, donde han aparecido numerosas colonias en la pequeña zona de inhibición del día anterior, las demás siguen con el mismo aspecto, en cuanto a inhibición se refiere: junto a los triturados, creció un hongo, y también a partir de su borde se inició el tercer día el desarrollo de gérmenes de contaminación.

Esta experiencia se repitió, con resultado casi idéntico, si bien fué aún menos patente que en la anterior la acción del triturado frente al *B. de Eberth*. Vuelve a desarrollarse el mismo hongo e idénticas colonias de contaminación.

*Conclusiones.*—1.° El *T. M. I* sólo resultó débilmente activo para el *B. de Eberth*, cuyo crecimiento retrasó en las zonas próximas al triturado. 2.° La contaminación del triturado por un hongo y bacterias, nos hace pensar si ello tendría alguna influencia en su poca actividad.

*T. M. II.*—Este triturado había sido preparado con anterioridad a nuestro trabajo, estando destinado a otras experiencias; pero disponiendo de él, tuvimos la curiosidad de ensavarlo, aunqueuviésemos desde el principio cierta reserva sobre los resultados que habría de darnos, por haber intervenido en su preparación un poderoso antiséptico, como es el formol.

Su confección se realizó de la siguiente manera: lavado de las tenias en agua del grifo y en agua destilada, pasándose de ésta al agua formolada al 10 por 100, donde permanecieron 12 horas. Al cabo de este tiempo, se lavaron escrupulosamente 10

veces en agua del grifo y 4 veces en agua destilada, se dejaron en ésta varias horas, se volvieron a lavar, y finalmente, bien enjugadas entre hojas estériles de papel de filtro, se desecan primero a la temperatura ambiente y más tarde a 40° C en la estufa. Una vez secas se trituran en el mortero, obteniéndose un polvo grosero amarillento, con un olor que recuerda algo al de las tenias frescas, pero sin que al olfato se perciba la menor traza de formol.

La actividad de este triturado se ensaya sobre cultivos en caldo y en placa.

*Prueba en caldo.*—A 25 c. c. de caldo ordinario se agregan 0'25 gr. del triturado, manteniéndose en baño de maría a 50° durante medio hora. Se filtra, quedando el medio ligeramente opalino, esterilizándose el filtrado a 110° C durante 10 minutos. El medio permanece ligeramente opalino y con un pH 7. Se siembra con un asa de cultivo en caldo de 24 horas de *B. de Eberth*, y a la vez un matraz testigo con 25 c. c. de caldo sólo, incubándose ambos a 37°.

*Resultado.*—A las 24 horas se observa fuerte entubamiento en el testigo y ninguno en el problema; a las 48,72 y 144 horas, el resultado sigue inalterable en el problema, mientras que en el testigo el enturbiamiento se ha hecho mayor, habiéndose iniciado finalmente cierto aclaramiento por depósito de los gérmenes en el fondo del matraz. El examen microscópico (gota pendiente y Gram) fué negativo en el caldo con triturado y positivo en el testigo, e igual resultado se observó en las resiembras en tubos de agar inclinado.

Se vuelve a sembrar el matraz problema con un asa de cultivo en caldo de *B. de Eberth*, produciéndose ahora enturbiamiento a las 48 horas, pero el examen microscópico demostró un *Estafilococo* de contaminación.

*Prueba en placa de agar.*—Previamente se comprueba que una gran cantidad de triturado agregado a caldo o a agua destilada neutra no modifica apenas el pH, de forma que de un pH 7'2 del caldo se pasa a un pH 7.

Se deposita sobre una placa de agar sembrada en masa con *S. typhi* una cantidad de 0'30 gr. de triturado en polvo y otro 0'30 gr. de *T. M. I*.

*Resultado.* (Lám. I, fig. 2).—A las 24 horas se observa alrededor del *T. M. II* una amplia zona de inhibición de 5-6 cm. A

las 48 horas, se ven en este halo dos zonas : una interna de inhibición total, donde no ha crecido ni una sola colonia, y otra periférica de inhibición parcial, donde se aprecia en las capas profundas del agar a las que seguramente llegó menor cantidad de substancia activa, muy escasas y diminutas colonias de *B. de Eberth*.

**Conclusiones.**—1.ª Los triturados totales desecados de *Moniezia expansa*, sometidas previamente a la acción del formol, poseen acción antibacteriana frente al *B. de Eberth*, que persiste después del calentamiento a 50° media hora y a 110° diez minutos. 2.ª Aunque se procuró eliminar el formol, primero por lavado escrupuloso y repetido en agua, y después por desecación de los helmintos, no se puede descartar en absoluto la persistencia en el triturado de cierta fracción a la que atribuir la acción antibacteriana, aunque creemos más verosímil que se formasen compuestos por condensación del formol (quizá con proteínas) que por sí o liberando formaldehído al ponerse en contacto con los medios de cultivo, fueran la causa de la inhibición bacteriana. En este caso, la hipotética acción antibacteriana de alguna substancia propia de los helmintos, pudo ser reforzada por la acción inespecífica del formol, ya al copularse con ella, o al hacerlo con substancias inactivas de los triturados que de esta forma se harían activas. Tampoco puede descartarse la formación de un polímero, transformación que fuese catalizada por alguna substancia vermidiana.

**T. M. III.**—Bajo esta denominación comprendemos varios triturados, preparados simultáneamente a partir de *Moniezia* procedentes de dos animales.

Las tenias procedentes de un borrego, después de bien lavadas en agua corriente y en agua destilada, se dividen en dos lotes de igual peso. Uno de ellos se extiende en placas de vidrio y se deseca a 40°, obteniéndose el triturado T. M. III<sub>1</sub>. El otro se mantiene en agua formolada al 10 por 100 durante 15 minutos, y después de lavado repetidamente en agua destilada se deseca a 40°. Lo designamos T. M. III<sub>1F</sub>.

Con un grupo de *Moniezia*, recogidas de otro cordero y lavadas, se hacen dos fracciones de igual peso. Una se deseca en la estufa a 40° C, obteniéndose el triturado T. M. III<sub>2</sub>; otra permanece 12 horas en agua formolada al 10 por 100, y después de

repetidos y minuciosos lavados en agua destilada se deseca en la estufa a 40° C, obteniéndose el triturado T. M. III<sub>2F</sub>.

Todos los triturados constituyen un polvo grosero, higroscópico, color ligeramente amarillento, recordando el rayado de pan y olor un tanto aromático e irritante.

#### PRUEBAS CON T. M. III SOBRE PLACAS DE AGAR SEMBRADAS CON *B. DE EBERTH*

La cantidad de triturado que se deposita en cada placa es de 0'30 gr.

**Resultado.**—A las 24 horas :

T. M. III<sub>1</sub>. Halo de inhibición de 4'5 cm. (Lám. I, fig. 3).

T. M. III<sub>1F</sub>. Halo de inhibición de 6 cm. (Lám. I, fig. 4).

T. M. III<sub>2</sub>. No se observa halo de inhibición. Junto al extracto se ven unas colonias de contaminación, redondas, convexas, opalescentes casi opacas, de bordes lisos, ya aisladas, ya engarzadas o tangentes en hilera como los eslabones de una cadena. (Lám. I, fig. 5).

T. M. III<sub>2F</sub>. Halo de inhibición de 6'5 cm.

A las 48 horas los resultados fueron :

T. M. III<sub>1</sub>, T. M. III<sub>1F</sub> y T. M. III<sub>2</sub>. Casi igual resultado que a las 24 horas, pues se ve una ligera reducción del halo de inhibición del T. M. III<sub>1</sub> por crecimiento de nuevas colonias en su periferia.

T. M. III<sub>2</sub>. Han aparecido nuevas colonias del mismo germen de contaminación, habiendo crecido las antiguas que tienen ahora 4-6 mm., presentando una irisación verde-azulada. Se trata de un bacilo corto y delgado, móvil, Gram negativo, que no aglutina con el suero anti-Eberth : lo designamos *Bacilo Moniezia 1* (B. M.<sub>1</sub>). Pero además se observa junto al extracto otras colonias que crecen en la superficie y en el espesor del agar, con crecimiento continuo (en forma de película) y desigual, presentando también una irisación azul-verdosa. Se trata de un bacilo largo, delgado, muy móvil, con tendencia a la Gram negatividad aunque de apetencia tintorial poco diferenciada a las 24 horas de cultivo en caldo, al que designamos *Bacilo Moniezia 2* (B. M.<sub>2</sub>). Ambos bacilos se aíslan y siembran en tubos de agar

inclinado, dando un abundante crecimiento a las 24 horas y siendo visible, a las 48 horas, la irisación verdoso-azulada de las colonias.

Las mismas pruebas con M. T. III se repitieron en igualdad de condiciones, obteniéndose idéntico resultado. En la placa de M. T. III<sub>2</sub> se vuelven a aislar los mismos gérmenes, lo que nos indica que los lleva el propio triturado.

#### PRUEBAS CON T. M. III, SOBRE PLACAS DE AGAR SEMBRADAS CON S. PARATYPHI A, S. PARATYPHI B, E. COLI Y S. P. AUREUS

En cada placa se colocan dos montoncitos de 0'30 gr. de extracto total.

A las 24 horas los resultados fueron:

*Placa de S. paratyphi A.* Halo de inhibición pequeño de 1'5 cm., con dos zonas, una periférica, en la que el efecto no es total, observándose algunas colonias en la profundidad del agar, y otra zona central, de inhibición total. Por fuera de la zona periférica el crecimiento bacteriano es más intenso que en el resto de la placa, formando un halo blanquecino que circunscribe los halos de inhibición. Al parecer este anillo sería algo idéntico a lo descrito como anillos de Liesegang, que se forman alrededor de los focos de difusión de los agentes antibacterianos. (Lám. II, fig. 2).

*Placa de S. paratyphi B.* Halo de inhibición de 2'25 cm., observándose igual aspecto que en la placa de *S. paratyphi A.* (Lám. I, fig. 6).

*Placa de E. coli.* Halo de inhibición de apenas 1 cm. Este germen se afecta poco. (Lám. II, fig. 3).

*Placa de St. p. aureus.* Halo de inhibición de 2'25 cm. (Lámina II, fig. 1).

A las 48 horas: en las placas de *S. paratyphi A* y *B*, los halos de inhibición parcial son apenas apreciables, por haber crecido nuevas colonias y aumentado de tamaño las primitivas. En las placas de *E. coli* y *St. p. aureus*, el halo de inhibición se estrecha por crecimiento de colonias en su área.

*Conclusiones.*—1.º Los triturados simples de *M. expansa* desecados, poseen acción antibacteriana frente al *B. de Eberth*, *S. paratyphi A* y *B*, *E. coli* y *St. p. aureus*, si bien esta acción

resultó inconstante. Así, de dos triturados preparados de igual forma, pero con Moniezas recogidas de animales diferentes (T. M. III<sub>1</sub> y T. M. III<sub>2</sub>), uno se mostró manifiestamente activo y el otro no. 2.º Teniendo en cuenta que el triturado que resultó inactivo (T. M. III<sub>2</sub>) se hallaba contaminado por dos especies bacterianas, contaminación que también observamos en el T. M. I igualmente inactivo, pensamos en la posibilidad de que, ya en el propio medio intestinal o en el ambiente del matadero, existan gérmenes más o menos resistentes a las sustancias antibacterianas de las tenias que al disminuir la vitalidad de estas por aislamiento de su medio natural y salida al exterior, se multiplicarían en sus tejidos, destruyendo o anulando el poder antibacteriano de sus triturados. Esto nos sugiere comprobar si los gérmenes aislados de T. M. III son resistentes a un triturado activo como el T. M. III<sub>1</sub>, y si así fuera, si ejercen algún efecto antagonista sobre la acción inhibitoria de este triturado frente a algún germen sensible como el *B. de Eberth*. 3.º La sensibilidad de los gérmenes frente al T. M. III<sub>1</sub>, fué en orden decreciente: *B. de Eberth*, *S. paratyphi B*, *St. p. aureus* (estos dos aproximadamente iguales en sensibilidad), *S. paratyphi A* y *E. coli*. 4.º Los triturados formolados poseen una actividad más constante e intensa que la de los triturados simples frente al *B. de Eberth*. Teniendo en cuenta que al preparar estos triturados se procuró eliminar el formol que pudiese quedar libre, especialmente en el T. M. III<sub>F</sub>: parece más fundamentada nuestra hipótesis de que el formaldehído, o bien se polimeriza dando lugar a compuestos sólidos activos, o lo que es más verosímil, acoplándose a ciertas sustancias helmintianas (casi seguro proteínas), forma compuestos, ya activos por sí mismos, ya por liberación ulterior del formol, ya por ambos mecanismos. Desde luego, la actividad de los triturados formolados es hasta cierto punto independiente de la actividad propia de los helmintos, ya que de un mismo lote de tenias se obtuvieron dos fracciones desecadas, una inactiva (T. M. III<sub>2</sub>) y otra activa (T. M. III<sub>2F</sub>), no habiendo más diferencia en la preparación de ambas que la utilización del formol en la segunda. Por ahora no podemos asegurar si la potencia de un triturado activo aumenta con el tratamiento por el formaldehído, es decir, si éste refuerza la acción de la o las sustancias activas del helminto.

## APÉNDICE

*Pruebas del T. M. III, frente al Vibrión colérico.*—Se llevo a cabo en agua de peptona, que contenía aproximadamente un 6 por 100 del triturado. Un tubo con 5 c. c. se sembró con un asa de un cultivo en agar de 24 horas, disponiéndose de un tubo testigo con 5 c. c. de agua de peptona simple, que fué sembrado de igual forma.

*Resultado:* A las 24 y 48 horas fué observado un ligero enturbimamiento en el problema equivalente a un +. Testigo = (+ + +) enturbimamiento intenso.

El T. M. III, mostróse, pues, activo frente al V. colérico. Como la prueba no se llevó a cabo en condiciones experimentales equivalentes a las realizadas frente a otros gérmenes, no podemos establecer la sensibilidad de éste con respecto a la de aquéllos

#### COMPORTAMIENTO Y EFECTO DE LAS BACTERIAS B. M.<sub>1</sub> y B. M.<sub>2</sub> FRENTE A LA ACCIÓN ANTIBACTERIANA DE LOS TRITURADOS ACTIVOS

Se utilizó para estas experiencias el triturado simple T. M. III<sub>1</sub>, cuya actividad, respecto a diversas bacterias patógenas, como hemos visto, era indiscutible.

*Prueba núm. 1.*—Sobre una placa de agar, sembrada en masa con B. de Eberth, se depositan tres montoncitos de 0'30 gr. cada uno de T. M. III<sub>1</sub>. Una de ellos (A), se deja como testigo; otro (B), se rodea en una parte de su circunferencia y en inmediato contacto con él, con un trazo con el asa de platino cargada de una suspensión en suero salino de un cultivo de B. M.<sub>1</sub> en agar de 24 horas; el tercero (C), se rodea en igual forma, pero sólo en su semicircunferencia externa y más alejado del triturado, con una siembra en trazo de la misma suspensión. Se incubaba la placa a 37° C. (Lám. II, fig. 6).

A las 24 y 48 horas el resultado fué:

Alrededor de los tres montoncitos amplio halo de inhibición para el B. de Eberth, que confluyen hacia el centro de la placa. En (B) el trazo semicircular de siembra con B. M.<sub>1</sub> fué totalmente inhibido, y en (C), se observa dentro del área de inhibi-

ción del B. de Eberth, pero en su parte periférica, numerosas colonias de B. M.<sub>1</sub>, sin que el crecimiento de este germen parezca haber disminuido la acción antibacteriana del triturado, ya que por el lado donde prosperaron sus colonias no se ha reducido aparentemente la zona de inhibición del B. de Eberth, ni éste ha crecido formando colonias satélites de aquél.

Parece, pues, que los gérmenes B. M.<sub>1</sub> poseen alguna resistencia a las sustancias activas del triturado (al menos en comparación con el B. de Eberth), pero no mostraron en esta experiencia efectos antagónicos respecto a la actividad del triturado.

*Prueba núm. 2.*—Sobre una placa de agar sembrada con S. typhi se despositan dos montoncitos de 0'30 gr. cada uno de T. M. III<sub>1</sub>. Uno se deja de testigo, y junto a la semicircunferencia externa del otro se siembra con el asa una suspensión en suero salino de un cultivo en agar de 48 horas de B. M.<sub>2</sub>. Se incubaba a 37°, observándose a las 24 y 48 horas. (Lám. II, fig. 5).

En el montoncito testigo comprobamos un amplio halo de inhibición para el B. de Eberth. En el problema se observa un semihalo de inhibición para este mismo germen, en su lado interno, mientras que en el lado externo han crecido abundantemente las bacterias B. M.<sub>2</sub>, observándose que a este nivel la acción antibacteriana del triturado frente al B. de Eberth se encuentra algo disminuida. Los gérmenes B. M.<sub>2</sub> han crecido por este lado hasta el mismo borde del montoncito de triturado.

Por consiguiente, los gérmenes B. M.<sub>2</sub> no son inhibidos por el triturado y tienen al parecer un efecto antagónico ligero frente a sus principios activos.

*Prueba núm. 3.*—Se mezclan a partes iguales T. M. III<sub>1</sub> y T. M. III<sub>2</sub>, triturado este último que, como recordaremos, era inactivo, estando contaminado por los gérmenes B. M.<sub>1</sub> y B. M.<sub>2</sub>. Sobre una placa de agar sembrada con S. typhi se depositan 0'30 gr. de la mezcla, y en otro lugar de la placa 0'30 gr. de T. M. III<sub>1</sub>, incubándose a 37° C.

A las 24 horas se observa un halo de inhibición, mucho menor para la mezcla de triturados que para el triturado simple T. M. III<sub>1</sub>. A las 48 horas se observa, alrededor de la mezcla de triturados, la iniciación del crecimiento de un germen de contaminación que identificamos con el B. M.<sub>2</sub>, y a los 3 días se distinguen, a algunos milímetros del borde del montoncito, algunas colonias de B. M.<sub>1</sub>.

La reducción del halo de inhibición de la mezcla de triturados frente al *B. de Eberth*, con relación al triturado activo simple T. M. III, en gran parte se debe, sin duda, a que la mitad de su masa está integrada por un triturado inactivo. Parece ser, que aunque poco, los gérmenes B. M.<sub>2</sub> y sobre todo B. M.<sub>1</sub>, se afectan por las sustancias antibacterianas del extracto, que retarda su desarrollo. Es posible, por tanto, que siendo los efectos de las sustancias activas del extracto sobre el *B. de Eberth*, anteriores al desarrollo de estos gérmenes, en cantidad suficiente para que produzcan en la suficiente cuantía, sustancias antagónicas respecto a aquellos principios activos, el efecto de las antagonistas no puede patentizarse bien de la forma que nosotros hemos operado.

*Conclusiones.*—1.ª Los gérmenes B. M.<sub>1</sub> y B. M.<sub>2</sub> muestran resistencia frente al poder antibacteriano de un triturado desecado simple de *M. expansa*, siendo mayor la del B. M.<sub>2</sub>. 2.ª Parece existir cierta acción antagónica del B. M.<sub>2</sub> frente a la actividad de los triturados respecto al *B. de Eberth*, pero ello requiere una comprobación ulterior, utilizando otro tipo de técnicas, siendo de gran interés el precisar este punto, que, como dijimos con anterioridad, podría darnos la clave del por qué los triturados poseen diferente actividad; siendo posible, volvemos a repetir, que la invasión de los gusanos vivos en el intestino mismo del hospedador («infección helmintiana»), o su contaminación en el medio exterior (durante las manipulaciones de limpieza y lavado de las tripas en el matadero), contaminación por gérmenes resistentes a sus sustancias activas (si se nos permite la frase, «*virulentos para los gusanos*») fuera su causa. 4.ª La manifiesta sensibilidad de ciertos gérmenes frente a los triturados simples desecados (*B. de Eberth*), y la gran resistencia de otros (B. M.<sub>2</sub>), apoya la hipótesis que sustentábamos al principio del trabajo, de que los helmintos podrían o no ser vectores de ciertas infecciones, entre otras causas, según que el gusano ejerciera o no un efecto antagónico, antibiótico, frente a los gérmenes productores de las mismas.

#### PRUEBAS CON EXTRACTOS DE *MONIEZIA EXPANSA*

*Fracciones alcohólica y etérea.*—*Preparación.* Los gusanos (1), lavados en agua destilada, se enjugan entre hojas de papel de filtro, y se trituran en un mortero hasta obtener una papilla clara. A 36'15 gr. de esta papilla, dispuesta en un frasco con tapón esmerilado, se agregan 50 c. c. de éter purísimo (para anestesia), agitándose enérgicamente durante 10 minutos. La mezcla se deja a la temperatura de la habitación, agitándose varias veces cada día. Se agregan 50 c. c. de alcohol absoluto, y se esperan 24 horas, agitándose en este tiempo varias veces. Se filtra por papel de filtro ordinario, obteniéndose un líquido blanquecino azulado opalescente. Se lava el filtro con 10 c. c. de éter, que al caer sobre la masa del líquido filtrado lo clarifica. Se vuelve a lavar el filtro con 10 c. c. de alcohol absoluto, que no altera la transparencia del filtrado; éste tiene ahora un débil tono amarillento. Se deja reposar el filtrado un día, observándose la aparición en su fondo de pequeñas agrupaciones cristalinas de color blanco. La mitad del filtrado se deja evaporar espontáneamente a 33° C. A las 72 horas se ha evaporado todo el alcohol y el éter, quedando sobre el fondo de la placa de desecación una porción pastosa amarillenta de aspecto graso, y un líquido blanco-lechoso, no bien miscible con una fracción acuosa. Este residuo tiene el mismo olor que los gusanos frescos. Se trata con 30 c. c. de éter, que disuelve la parte pastosa amarillenta, pero no el líquido blanco lechoso, que es soluble en alcohol. El extracto etéreo separado del líquido blanco-lechoso se deja evaporar a 33°, hasta la eliminación total del éter, dejando un sedimento amarillo-blanquecino opalescente, de olor rancio y aspecto graso. Los caracteres del líquido lechoso no cambian después de la extracción etérea y eliminación ulterior de los restos de éter. La fracción etérea la denominamos E. M. I, y la fracción alcohólica E. M. I<sub>2</sub>. La primera tiene un pH 6'8 y la segunda un pH 7'1.

(1) Se utilizan tenias del mismo lote con que se preparó el T. M. I.

# PRUBAS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE E. M. I. y E. M. I.

Se efectúan sobre placas de agar frente al *B. de Eberth*, *E. coli* y *St. p. aureus*, para lo cual se disponen en la placa sembrada cuadraditos de papel de filtro impregnados en los extractos.

El resultado de la prueba fué negativo.

**Conclusiones.**—1.ª Las tracciones alcohólica y etérea de un triturado fresco de *M. expansa* no mostraron actividad frente al *B. de Eberth*, *E. coli* y *St. p. aureus*. 2.ª Como los triturados secos del mismo lote de tenias (T. M. I) tampoco fueron activos, no es posible juzgar por esta sola experiencia si el método seguido puede o no servir para concentrar las sustancias activas de las tenias, quedando este punto pendiente de ulteriores investigaciones.

**Extracto formolado (E. M. II<sub>F</sub>).**—Su preparación nos es sugerida por la actividad de los triturados formolados desecados.

**Preparación:** 100 gr. de *M. expansa* lavados y enjugados, se cortan en pequeños trozos y se trituran en un mortero. Se agregan 60 c. c. de agua destilada, se agita 10 minutos y se filtra por papel, resultando un líquido blanco latescente (125 c. c.). A éste se agregan 25 c. c. de formol comercial al 40 por 100, que no cambia su aspecto. Este líquido se mantiene en reposo a la temperatura de la habitación 26 horas. Por tratamiento con alcohol, se obtiene un precipitado blanco-níveo, quedando el resto del líquido de un color blanco opalescente débil. Se separa por decantación el precipitado, que se disuelve en agua destilada, repitiéndose la maniobra tres veces. El último líquido, después de la redisolución del precipitado en agua destilada, se lleva a un tubo grande de centrifuga donde se precipita con alcohol, se centrifuga para separar el precipitado y después de decantar la parte sobrenadante líquida, se vuelve a disolver en agua destilada. Esta maniobra se repite 5 veces consecutivas, con objeto de eliminar el formol libre. Por último, se recoge el precipitado, se prueba su pH, que resultó igual a 7, se extiende en una caja de Petri y se deseca a la estufa a 37°. Se recoge en el fondo de la placa un residuo en forma de lámina ligeramente amarillenta, transparente, de aspecto y consistencia vítrea, muy quebradiza (salta y se desprende de la caja en forma de pequeñas escamas cuando se raspa con la espátula), recordando por su aspecto y

consistencia la albúmina de huevo desecada. Después de raspada esta capa, se tritura en el mortero, obteniéndose un polvo completamente seco, blanquecino, de aspecto vítreo, no higroscópico. Es muy poco soluble en el agua (prácticamente nada), donde al tratar de disolverlo determina una ligerísima opalinidad. En cantidad de 0'10 gr. en 1 c. c. de caldo nutritivo, no modifica sensiblemente su pH.

## PRUEBAS DE ACTIVIDAD DE E. M. II<sub>F</sub> SOBRE PLACAS DE AGAR SEMBRADAS CON B. DE EBERTH, S. PARATYPHI A, S. PARATYPHI B, E. COLI Y ST. P. AUREUS

La cantidad de extracto utilizada en cada prueba fué 0'05 y 0'02 c. c., incubándose las placas a 37° C. Los resultados se leyeron a las 24 y 48 horas, siendo estas lecturas prácticamente iguales.

**Resultados.**—*B. de Eberth*: Halo de inhibición muy neto de 5 cm. aproximadamente.

*S. paratyphi A*: Halo de inhibición muy neto de 2'5 centímetros aproximadamente, rodeado de una serie de halos blanquecinos concéntricos, donde el crecimiento colonial es más apretado e intenso.

*S. paratyphi B*: Halo de inhibición muy neto de 3 cm., rodeado de los mismos halos blanquecinos concéntricos que la *S. paratyphi A*, de los cuales el más próximo al halo de inhibición es más grueso. Tanto para este germen como para el anterior, se repitieron las pruebas con idéntico resultado.

*E. coli*: Halo de inhibición muy neto de 1 cm. de diámetro aproximado.

*St. p. aureus*: Halo de inhibición muy neto aproximadamente de 2'8 cm.

## PRUEBAS DEL E. M. II<sub>F</sub> FRENTE AL VIBRIÓN COLÉRICO

Se disponen dos tubos con 5 c. c. de agua de peptona, a uno de los cuales se agrega 0'05 gr. de extracto. Ambos se siembran con un asa de un cultivo en agar de 24 horas, de la cepa egípcia Korin. Se incuban a 37°, viéndose los resultados a las 24 y 48

horas. En el tubo con extracto no se observó enturbiamiento, mientras que en el tubo testigo el enturbiamiento fué intenso (+ + +).

PRUEBAS SOBRE LA ACTIVIDAD DE SOLUCIONES ACUOSAS DE E. M. II, FRENTE AL B. DE EBERTH SEMBRADO EN PLACA DE AGAR

*Solución A* : 0'01 gr. de E. M. II<sub>F</sub> se interpone en 3'5 c. c. de agua destilada estéril a la temperatura de la habitación (25° C), agitándose durante un cuarto de hora y filtrándose por papel. Queda un líquido débilmente opalescente.

*Solución B* : 0'01 gr. de E. M. II<sub>F</sub> se interpone en 3'5 c. c. de agua destilada estéril y se lleva la mezcla al baño de maría a 40° durante 45 minutos. Al cabo de este tiempo se filtra, resultando un líquido ligeramente opalescente.

Sobre una placa de agar sembrada en masa con *B. de Eberth* se disponen dos cilindros de porcelana : en uno se deposita 0'5 c. c. de la solución filtrada A y en otro la misma cantidad de solución filtrada B. Se incuba la placa a 37°, observándose a las 24 y 48 horas

*Resultado.*—Ninguna de las soluciones mostró efecto inhibitor.

Teniendo en cuenta que 0'05 gr. de extracto seco dió un halo de inhibición sobre placa de *B. de Eberth* de 4 cm., lo que supone la difusión de la substancia activa por lo menos por 1'5 ó 2 c. c. de agar, de haber pasado alguna porción del mismo al agua destilada, debieron dar también las soluciones acuosas un halo de inhibición, si aunque fuese en pequeña cantidad se hubiera solubilizado en el agua destilada. Como así no ocurrió, hemos de admitir que esta substancia, no soluble en agua, se solubiliza y difunde en el agar por un mecanismo que hasta ahora desconocemos, pero en el que seguramente intervienen factores físico-químicos diversos (pH, concentración y clase de electrólitos del medio, etc.).

*Conclusiones.*—1.ª El extracto de E. M. II<sub>F</sub> demostró actividad antibacteriana, y ésta mayor que los triturados simples desecados y que los formolados, mostrando al parecer su actividad frente a los diversos gérmenes ensayados las mismas varia-

ciones que para el triturado simple T. M. III<sub>1</sub>, ya que en la prueba efectuada el *B. de Eberth* resultó ser el más sensible, siguiéndole en orden de sensibilidad la *S. paratyphi A*, *St. p. aureus*, *S. paratyphi A* y *E. coli*. También el *V. colérico* resultó ser más sensible a este extracto que al triturado simple T. M. III<sub>1</sub>. 2.ª El extracto E. M. III<sub>F</sub> es insoluble en agua o, si lo es, lo hace en tan pequeña cantidad que sus soluciones resultan inactivas. 3.ª Dada la forma en que se preparó el extracto, pudiera haber sucedido que su actividad se debiera únicamente al formol (formación de polímeros o de compuestos de condensación con substancias vermidianas, etc.), pero tampoco podemos desechar la hipótesis, aunque hasta ahora sea poco verosímil, al menos hasta que comprobaciones ulteriores aclaren este punto, de que el formol conservase alguna substancia vermidiana e incluso reforzarse su acción, substancia que por la técnica utilizada por nosotros había resultado concentrada, hipótesis que se apoya en los resultados de esta experiencia, donde observamos una al menos aparente actividad selectiva del extracto que coincide con la de un triturado simple no formolado (T. M. III<sub>1</sub>). De todas formas, en el supuesto de que el formol ni proteja ni refuerce la acción de substancias antibacterianas específicas de las tenias, resulta muy interesante el estudio de los compuestos formolados vermidianos activos, de cuyo estudio posiblemente se derivarían conocimientos útiles en medicina y veterinaria.

PRUEBAS CON TRITURADOS TOTALES DESECADOS DE STILEZIA (AVITELLINA) CENTRIPUCTATA

Con tenias procedentes de dos animales, y siguiendo la técnica ya descrita en la parte general, preparamos los triturados T. S. I y T. S. II. Se prueba su actividad frente al *B. de Eberth*, *S. paratyphi A* y *B*, *E. coli* y *St. p. aureus*, sembrados en masa en placas de agar, sobre las que se depositan 0'30 gr. de cada triturado.

Ni a las 24 ni a las 48 horas se observa halo de inhibición para ninguno de los triturados. A las 48 horas comienzan a desarrollarse en los bordes de los montoncitos colonias de aspecto cremoso ; posiblemente estos gérmenes contaminaban el triturado. En las placas de *S. paratyphi A* y *B* se observan alrededor

de los montoncitos del triturado una serie de halos blanquecinos concéntricos, donde el crecimiento bacteriano es más denso e intenso.

*Conclusiones.*—1.ª Los dos triturados de *Stilesia centripunctata* ensayados resultaron inactivos, y como los triturados inactivos de *Moniezia expansa* estaban contaminados. Cabe, pues, pensar que los triturados de este teniado carecen realmente de actividad, pero también que pueden haberla perdido como consecuencia de la infección de las tenias por gérmenes a sus productos antibacterianos, ya sea en el propio intestino o en el medio exterior. 2.ª La formación de anillos blanquecinos alrededor de los montoncitos de triturado en las placas de *S. paratyphi A* y *B* indica que, hasta cierto punto, es un fenómeno independiente de la actividad de los triturados y peculiar a ciertas especies bacterianas.

#### RESUMEN

Se hace una síntesis histórica de las aportaciones al conocimiento de la acción antibacteriana de los helmintos, deteniéndose en consideraciones sobre la utilidad que pueden reportar estas investigaciones y dando algunas hipótesis de trabajo.

Se estudia experimentalmente *in vitro* la acción antibacteriana del jugo, triturados simples y formolados, extracto alcohólico-etéreo y fracción precipitable por el alcohol de un jugo formolado de *Moniezia expansa* (Rudolphi 1810), y del jugo y triturados simples desecados de *Stilesia* (= *Avitellina*) *centripunctata* (Rivolta 1874), frente a diversos gérmenes patógenos.

El jugo de *M. expansa* se mostró activo frente al *B. de Eberth*, *St. p. aureus* y *E. coli*, aunque desigualmente para cada uno de estos gérmenes, de acuerdo con lo observado por James y Mandoul (1904).

Los triturados desecados simples fueron unos activos y otros no. Los activos se mostraron eficientes en orden de sensibilidad decreciente frente al *B. de Eberth*, *S. paratyphi B*, *St. p. aureus*, *S. paratyphi A* y *E. coli*: también el *Vibrión cólico* cepa Korin fué sensible. Los inactivos estaban contaminados por diversas bacterias, habiéndose aislado de uno de ellos dos especies bacterianas (*B. M.*<sub>1</sub> y *B. M.*<sub>2</sub>) que se mostraron hasta cierto punto resistentes (más la segunda) a un triturado simple activo, por

lo que se sugiere la hipótesis de que gérmenes del intestino de los animales hospedadores de los gusanos o del medio ambiente, resistentes a las sustancias antibacterianas de esta tenia, al contaminarla, destruyen o anulan de algún modo su poder antibacteriano.

Los triturados de *M. expansa* formolados, fueron constantemente activos y en grado superior a los triturados simples, respecto al *B. de Eberth*, emitiéndose hipótesis sobre la forma en que actuaría el formol.

Una fracción alcohólica y otra etérea de *Moniezia* carecieron de poder antibacteriano, siendo bastante activa una fracción de los jugos formolados precipitable por el alcohol, después de desecada. Su actividad mostró, frente al *B. de Eberth*, *S. paratyphi A* y *B*, *St. p. aureus* y *E. coli*, las mismas variaciones, aproximadamente, que los triturados simples desecados activos, siendo más potente que éstos respecto al *Vibrión cólico*.

Los resultados obtenidos con el jugo y triturados simples de *Stilesia* (= *Avitellina*) *centripunctata*, no permiten hasta el momento juzgar sus efectos sobre diversos gérmenes patógenos.

#### S U M A R Y

We make here a historical synthesis of the contribution to the knowledge of antibacterial action of helminths, considering especially the utility these investigations can report and giving some hypothesis of work.

We study experimentally —in vitro— the antibacterial action of the juice —simple and formolated mashes, alcoholic-ethereous extracts and the fraction of a formolated juice precipitable by alcohol— of *Moniezia expansa* (Rudolphi 1810), and of the juice and simple desiccated mashes of *Stilesia* (= *Avitellina*) *centripunctata* (Rivolta 1874), with regard to the different pathogenous germs.

The juice of *M. expansa* proved to be active to the *Bacillus Eberth*, *St. p. aureus* and *E. coli*, though in different degrees for each of these germs, in agreement with the observations of James and Mandoul (1904).

Some of the simple desiccated mashes were active and others were not. The active ones were efficient in decreasing order of sensibility in regard to *B. Eberth*, *S. paratyphi B*, *St. p. aureus*, *S. paratyphi A* and *E. coli*. The choleric vibrio, Korin art, was al sensitive. Te inactive ones were contaminated by different bacteriums, from one of them two bacterial species have been isolated (*B. M.*<sub>1</sub> and *B. M.*<sub>2</sub>) which proved to be resistant (the second more so) to a certain degree, to a simple active mash; therefore we suggest the hypothesis that germs from the intestine of ani-

imals hosts of the worms or from the ambient air, resistant to the antibacterial substances of this taenia, by contaminating it, destroy or annul in a certain way its antibacterial power.

The formulated meshes of *M. expansa* were always active and in a degree superior to the simple meshes towards *B. Eberth*, giving an hypothesis of the way formol would act.

An alcoholic fraction and an ethereous one of *Moniezia* lacked in antibacterial power, and a fraction of the formulated juices precipitable by alcohol was rather active after desiccation. Its activity showed against *B. Eberth*, *S. paratyphi* A and B, *St. p. aureus* and *E. coli* almost the same variations as the simple active desiccated meshes, being stronger then the latter against the choleric vibrio.

The results obtained with the juice and simple meshes of *Stilesia* (= *Avitellina*) *centripunctata*, do not permit, up to this moment to judge their effects on the different patogenous germs.

## EXPLICACION DE LAS LAMINAS

### LÁMINA I

Figura 1.—Prueba del M. T. I sobre placa de *B. de Eberth*. Apenas si es visible un estrecho ribete de inhibición junto al montoncito superior, habiéndose iniciado, especialmente en el inferior, el desarrollo de colonias de contaminación.

Figura 2.—Prueba del T. M. II sobre placa de *B. de Eberth*. Amplio halo de inhibición alrededor del triturado (montoncito superior). En la parte inferior, T. M. I.

Figura 3.—Prueba del T. M. III<sub>1</sub> sobre placa de *B. de Eberth*. Halo de inhibición manifiesto.

Figura 4.—Prueba del T. M. III<sub>1F</sub> sobre placa de *B. de Eberth*. Halo de inhibición manifiesto.

Figura 5.—Prueba del T. M. III<sub>2</sub> sobre placa de *B. de Eberth*. Ausencia de inhibición. Se observan colonias de contaminación (Bacilos *Moniezia* 1 y 2).

Figura 6.—Prueba del T. M. III<sub>1</sub> sobre placa de *S. paratyphi* B. Halos de inhibición y anillos blanquecinos periféricos por condensación colonial a este nivel.

### LÁMINA II

Figura 1.—Prueba de T. M. III<sub>1</sub> sobre placa de *St. p. aureus*. Halos de inhibición.

Figura 2.—Prueba del T. M. III<sub>1</sub> sobre placa de *S. paratyphi* A. Halos de inhibición y anillos blanquecinos periféricos.

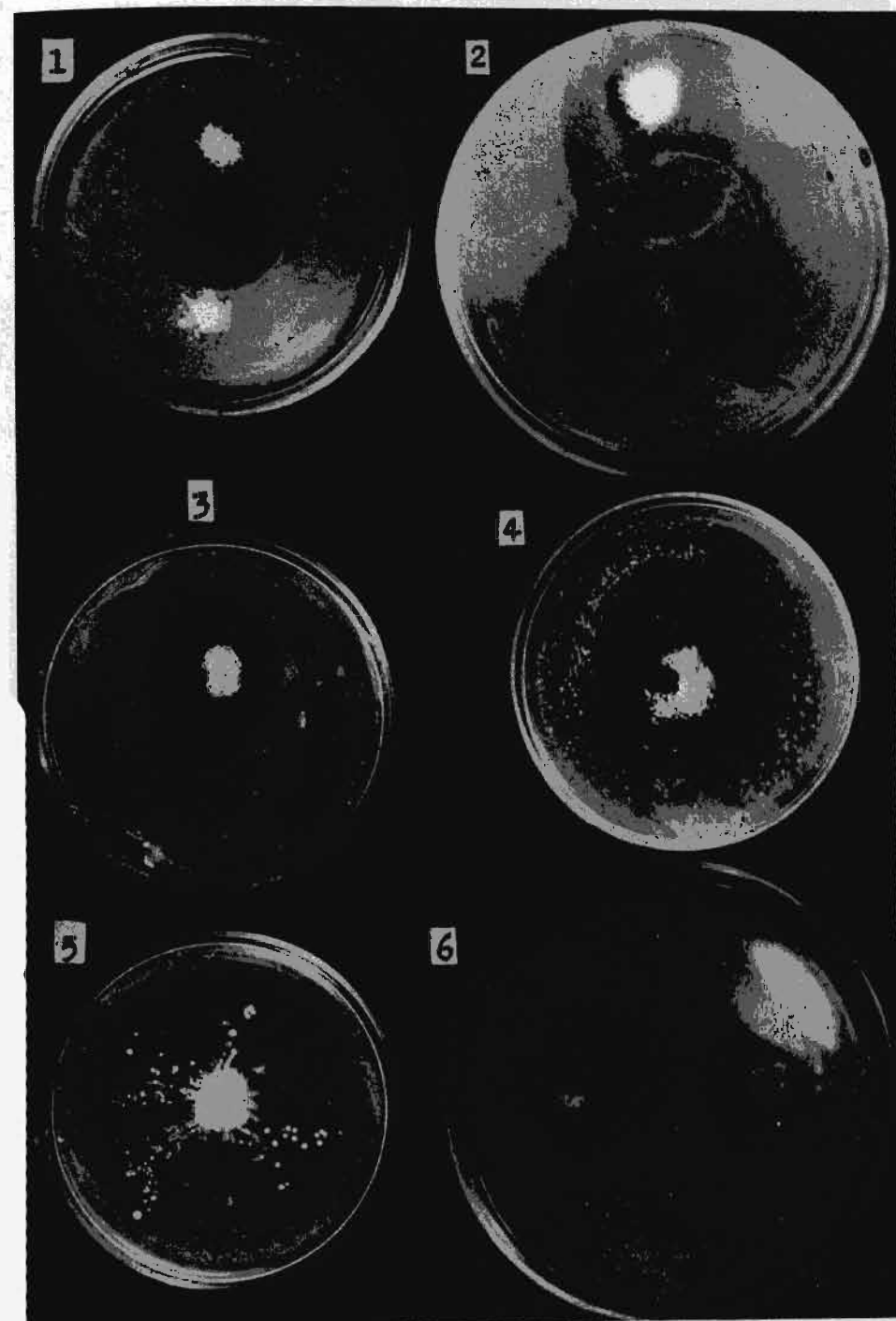


Lámina I

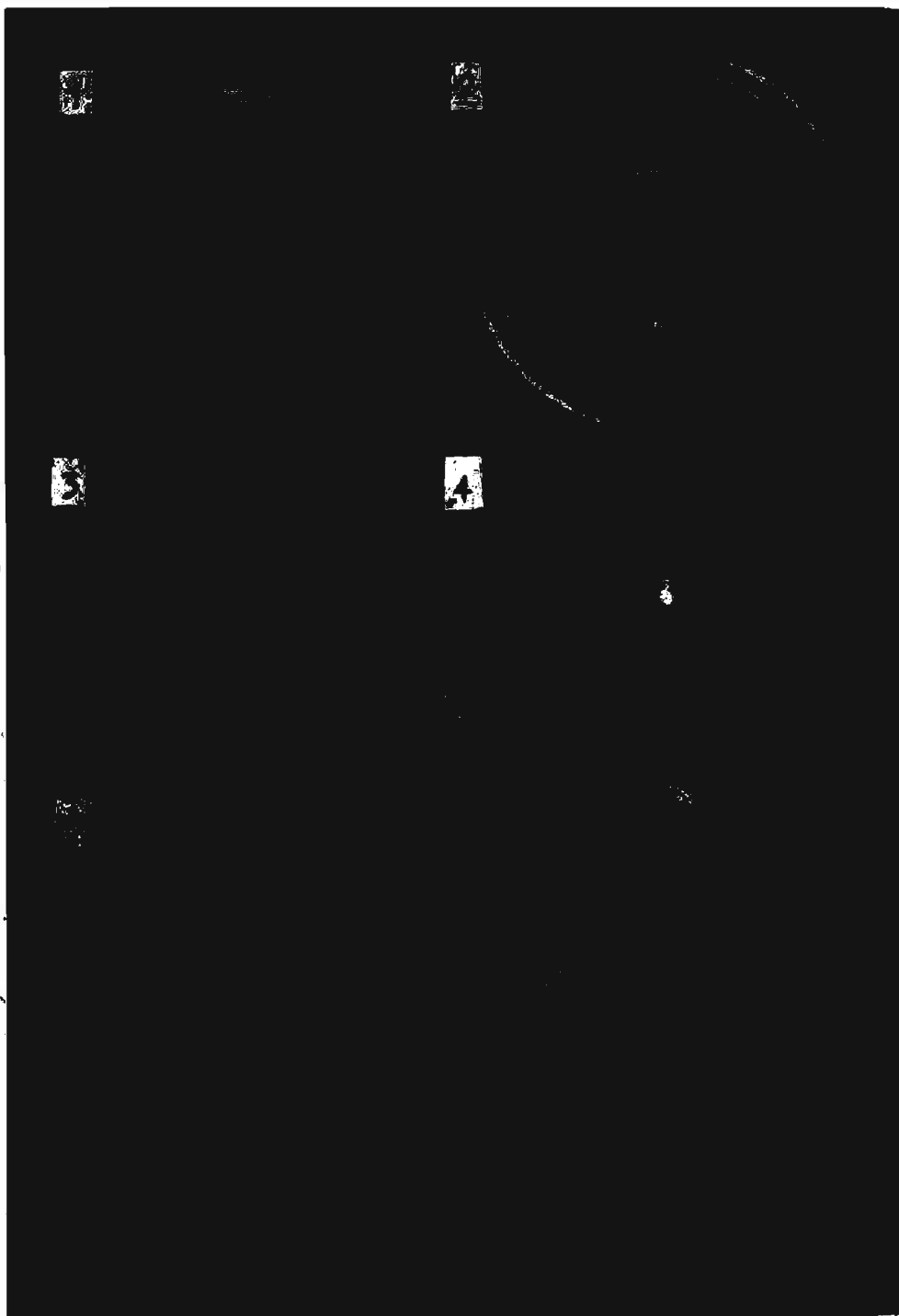


Lámina II

Figura 3.—Prueba del T. M. III<sub>1</sub> sobre placa de *E. coli*. Halos de inhibición.

Figura 4.—Prueba del E. M. II<sub>1</sub> sobre placa de *B. de Eberth*. Amplios halos de inhibición.

Figura 5.—Placa de *B. de Eberth* con dos montoncitos de T. M. III<sub>1</sub>; uno testigo, el de la derecha, que determina un amplio halo de inhibición, y otro problema, el de la izquierda, junto a cuya semicircunferencia externa se sembró *Bacilo Moniezia* 2, que, como puede observarse, no fué inhibido por el triturado, siendo reducido a este nivel el poder inhibidor del triturado frente al *B. de Eberth*, aunque en escasa proporción. Por dentro de este montoncito se ve una zona de inhibición, correspondiente al *B. de Eberth*.

Figura 6.—Placa de *B. de Eberth*, con tres montoncitos de T. M. III<sub>1</sub>; uno testigo (el de la derecha) y los otros dos problemas. Por dentro del de la izquierda, se sembró en trazo semicircular y en inmediato contacto con el triturado, con *Bacilo Moniezia* 1, e igual se hizo en su semicircunferencia externa y a alguna más distancia con el montoncito superior. La zona de inhibición para el *B. de Eberth*, por confluencia hacia el centro de la placa de la de los tres montoncitos, tiene forma triangular. El *Bacilo Moniezia* 1 fué inhibido en el montoncito de la izquierda, donde la siembra fué en inmediato contacto con él, pero no fué inhibido en el montoncito superior donde la siembra se hizo a más distancia y donde este germen ha crecido dentro del área de inhibición para el *B. de Eberth*.

## BIBLIOGRAFIA

ANDRÉ (G.), 1878.—Contribution a l'étude de la contre-fluxion dans la phtisie pulmonaire. De l'utilité du tenia dans cette maladie. Masson.

BERNY (P.), 1936.—Tuberculose y ankilostomiase. Bull. de la Soc. de Pat. Exot. T. XXIX, núm. 5, págs. 471-473.

BLACK (T.), 1946.—Coexistent hookworm and tuberculosis. Southern Med. J. T. 39, pág. 881 (15 ref.).

CADE, MORENAS y RAVAUULT, 1925.—Parasitisme intestinale et tuberculose. Arch. Mal. Apar. Disg., núm. 15.

CANTAZENE (J.), 1922.—Reactions d'immunité chez *Sipunculus nudus*, vacciné contre une Bactérie. C. S. Soc. Biol. T. 87, págs. 264-267.

CANTACUZENE (J.), 1922.—Sur le sort ulterieur des urnes chez *Sipunculus nudus* au cours de l'infection et de l'immunisation. C. R. Soc. Biol. T. 87, págs. 283-285.

CHARLES (M.), 1940.—These de doctorat en Medecine. París.

DE LEOBARDY, 1940.—Rev. Tub., 5, núm. 10.

DE LEOBARDY, 1940.—C. R. Soc. Et. Sc. Tub. (Sesión del 17 de Febrero de 1940).

DELANOE (E.), 1948.—Influence possible d'infestation vermineuse sur la resistance des indigènes marocains a la tuberculose. Bull. Soc. Pat. Exot. T. XLII, núms. 5-6, pág. 377.

GRANCHER, 1897.—Le traitement de la tuberculose. Bull. Med.

HEISER, 1908.—The tuberculosis problem in the Philippines and the elimination of intestinal parasites as the first step in its solution. Medical Record, núm. 24.

JAMES (L.) et MANDOUL (H.), 1904.—Quelques propriétés des sucs helminthiques. Soc. Hist. Nat. de Toulouse.

JAMES (L.) et MANDOUL (H.), 1904.—Sur les propriétés bactéricides des sucs helminthiques. C. R. Acad. Sc. T. CXXXIX, págs. 329-331.

JAMES (L.) et MANDOUL (H.), 1905.—Sur la biologie des Cestodes. C. R. Acad. Sc. T. CXL, págs. 271-273.

JAMES (L.) et MANDOUL (H.), 1906.—Tenias et flore intestinale. C. R. Soc. Biol. T. I, págs. 229-230.

JOYEUX (Ch.) et BAER (J. G.), 1929.—Études sur le réencapsulement du *Sparganum ranarum*. C. R. Soc. Biol. T. CII, págs. 305-307.

KAWANISHI (K.), 1929.—Experimental studies, on the entrance of pathogenic bacilli incidental to percutaneous infection with hookworm. Ygakway Zasshi J. Med. Assoc. Formosa, núm. 294, pág. 50.

KOIDZUMI (M.), 1927.—A résumé of works on *Ascaris* recently published from the Parasitology Laboratory, Keio University Medical College. Japan. Med. World. T. 7, págs. 12-16.

LEMAY (P.), 1947.—Sur la sécrétion possible d'antibiotiques par certains Insectes. Rev. Pat. Comp. T. 47, págs. 372-374.

MANDOUL (H.), 1931.—A propos de l'action de quelques helminthes sur l'évolution de la tuberculose. Ann. de Parasit. Hum. Comp. T. IX, numéro 4, págs. 323-324.

POISSON (H.), 1936.—Helminthiases et tuberculose. Bull. Soc. Pat. Exot. T. XIX, núm. 8, págs. 931-933.

PULVERTAFT (R.), GREENING (J.) y HAYNES (J.), 1947.—Liesegang rings and antiseptics. J. Pathol. Bact. T. 59, págs. 293-299, 2 pl. h. t.

ROMERO CALATAYUD (A.), 1931-32.—El parasitismo intestinal por vermes en sus relaciones con la infección tuberculosa. Tesis doctoral. Madrid, 52 páginas.

SAKEB (M.), 1947.—Resistance apparente des porteurs de parasites à l'égard de la tuberculose. Bull. Soc. Path. Exot. T. XLI, núms. 3-4, páginas 244-249.

SOROUR (M.), 1930.—Rôle de la cellule polynucléaire à granulations éosinophiles dans l'association de la bilharziose avec la tuberculose. Ann. de Anat. Pathol. T. VII.

TAYLOR (E.) and PURCHASE (H.), 1931.—Do penetrating nematode larvae assist bacterial invasion from the bowel? Parasitology. Vol. XXIII, núm. 3, págs. 301-309.

TAYLOR (E.), 1935.—Do nematodes assist bacterial invasion of the host by wounding the wall of the intestinal tract? Parasitology. Vol. XXVII, núm. 2, págs. 145-151.

VON BÖLOW (T.), 1929.—Tuberculose latente réactivée par le passage des larves d'*Ankylostomes* à travers le parenchyme pulmonaire. Bull. Soc. Path. Exot. T. 22, pág. 26.