

censo de la respiración de tejidos linfáticos, bazo y timo, sin modificar en cambio la de los cortes de riñón, como ejemplo de órgano no linfático.

Nuestros estudios, como se ha visto, demuestran que las  $N_3H$  tienen una acción inhibitoria en general sobre la respiración de los tejidos, pero mucho más intensa y electiva por los órganos linfáticos, y que asimismo el sistema de glucólisis anaerobia está afectado. Este efecto, según MILLER y cols., es mucho menos intenso cuando se extirpan las suprarrenales, por lo cual cabría pensar que en parte se deba al estímulo que la droga hace sobre estas glándulas, que aumentando su secreción producirían el efecto sobre los órganos linfáticos. No obstante, la acción se da también añadiendo al medio la mostaza sobre cortes de órgano de animales no tratados, por lo que hay que aceptar que también aquella tiene una acción directa. Lo más probable es que la mostaza actúe sobre las estructuras linfoides, la linfolisis libere sustancias que estimulen las suprarrenales y el aumento de secreción de éstas acentúe a su vez la acción sobre los órganos linfoides.

#### SUMARIO.

Las mostazas-N tienen una acción linfolítica, y verosíblemente a su través se excita la secreción suprarrenal, que a su vez actúa sobre los órganos linfoides inhibiendo sus sistemas enzimáticos y activando la linfolisis. El resultado es hiperplasia suprarrenal, con hipersecreción, y linfolisis con reducción del tamaño de las estructuras linfáticas. Estos efectos son los responsables, no totalmente, pero seguramente en parte, de la acción de estas drogas sobre las enfermedades alérgicas, y de su similitud a la acción de la cortisona y ACTH.

#### BIBLIOGRAFIA

1. KARNOFSKY, D. A., GRAEF, I. a. SMITH, H. W.—Am. J. Pathol., 24, 275, 1948.
2. SELYE, H.—Endocrinology, 21, 169, 1937.
3. KINDRED, J.—Arch. Pathol., 43, 253, 1947.
4. LUDEWIG, S. a. CHANUTIN, A.—Endocrinology, 38, 376, 1946.
5. BETZ, H., HEUSCHEM, C. et LECOMTE, J.—Rev. belge de Pathol. et de Med. experim., 19, 251, 1949.
6. JIMÉNEZ DÍAZ, C., MERCHANT, A., PERIANES, J., LÓPEZ GARCÍA, E. y PUIG LEAL, J.—Helvet. med. Acta, 17, 583, 1950.
7. JIMÉNEZ DÍAZ, C.—Ann. Rheum. Dis., 10, 144, 1951.
8. CHANUTIN, A. a. LUDEWIG, S.—J. Biol. Chem., 167, 313, 1947; 176, 999, 1948.
9. DIXON, M. a. NEEDHAM, D. M.—Nature, 158, 432, 1947.
10. GUZMÁN BARRÓN, E. S., BARTLETT, G. R., MILLER, Z. B., MEYER, J. a. SEEGMILLER, J. E.—J. exp. Med., 87, 503, 1948.
11. MILLER, Z. B., DAVISON, C. a. SMITH, P. K.—J. exp. med., 92, 113, 1950.

#### SUMMARY

Nitrogen mustards have a lympholytic action. It is possible that they excite suprarenal secretion which, in turn, acts on lymphoid organs and inhibits their enzymatic systems, thus activating lympholysis. All this process results in suprarenal hyperplasia and hypersecretion and in lympholysis with decrease in size of lymphatic structures. These effects may, in part,

account for the action of Nitrogen mustard on allergic diseases and for the fact that this action is similar to that of cortisone and ACTH.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Stickstoffsenfverbindungen haben eine lympholytische Wirkung; und auf diesen Wege wird wahrscheinlich die Nebennierensekretion angeregt, die ihrerseits wiederum auf die Lymphoidorgane einwirkt. So werden die enzymatischen Systeme gedrosselt und die Lympholyse angeregt. Das Ergebnis ist eine Nebennierenhyperplasie mit Uebersekretion und Lympholyse mit einer Reduzierung der lymphatischen Strukturverhältnisse. Diese Tatsachen sind sicher zum Teil, wenn auch nicht allein verantwortlich für die Wirkung dieser Drogen auf die allergischen Krankheiten und für eine dem Cortison und ACTH ähnlichen Wirkung.

#### RÉSUMÉ

Les moutardes azotées ont une action lympholitique et c'est peut être par leur action que la sécrétion surrénale s'excite et agit à son tour sur les organes lymphoïdes en inhibant ses systèmes enzymatiques et en activant la lympholise. Le résultat c'est: hyperplasie surrénale avec hypersécrétion et lympholise avec réduction de la grosseur des structures lymphatiques. Ces effets sont les responsables, non totalement, mais certainement en partie, de l'action de ces drogues sur les maladies allergiques, et de sa similitude avec l'action de la cortisone et ACTH.

#### INTRADERMORREACCIONES CON FRACCIONES SOLUBLES BACTERIANAS

C. JIMÉNEZ DÍAZ, J. M.<sup>a</sup> SEGOVIA, A. ORTEGA y E. ARJONA.

Instituto de Investigaciones Médicas. Director: Profesor C. JIMÉNEZ DÍAZ.

Sección de Bacteriología, Inmunidad y Alergia

La alergia bacteriana tiene planteados numerosos problemas, algunos de los cuales ofrecen considerable dificultad. Se han entablado discusiones sobre su misma existencia, y aunque en general y en un sentido amplio, es admitida por casi todos, no existe igual acuerdo sobre sus límites precisos y mucho menos hay unanimidad en la interpretación de los fenómenos en los que de una u otra manera interviene la hipersensibilidad bacteriana. La diversidad de opiniones existe no sólo en lo que se refiere al papel que la alergia bacteriana juega en el desencadenamiento de ciertos tipos de asma, urticaria, edema angioneurótico, jaqueca y eczema, sino también en su posible inter-

vención en otras enfermedades, tales como el reumatismo, nefritis, tuberculosis, fiebre de Malta, infecciones focales, etc., etc.

Los numerosos datos experimentales y clínicos que se han acumulado sobre este tema son con frecuencia poco precisos y muchas veces contradictorios, dependiendo esto en parte de las distintas condiciones experimentales en que se ha operado y en parte también de la complejidad y dificultad del tema en sí. Si aún no estamos seguros sobre lo que es la alergia, nada tiene de sorprendente que en el concepto de alergia bacteriana predomine la confusión sobre la claridad.

El punto de partida en el conocimiento no sólo de la alergia bacteriana, sino de la alergia en general, lo constituyen los famosos estudios de KOCH<sup>1</sup> sobre el distinto tipo de reacción frente a la tuberculina, de cobayas previamente infectados de tuberculosis. Más tarde, ROSENAU y ANDERSON<sup>2</sup> produjeron reacciones anafilácticas en cobayas sensibilizados con bacilos tíficos o tuberculosos muertos, reinyectando a dichos animales con los mismos productos. Desde entonces, todos los esfuerzos se encaminaron a la demostración y obtención de antígenos activos de las bacterias para su aplicación diagnóstica y terapéutica, al tiempo que se pretendía demostrar la existencia de anticuerpos específicos en el organismo. La alergia bacteriana no podía sustraerse al rígido esquema de reacción antígeno-anticuerpo que durante tanto tiempo ha presidido todos los estudios sobre la alergia.

ZINSSER y col.<sup>3</sup> demostraron que al efectuar una intradermorreacción con bacterias muertas o con productos de desintegración de las mismas en un organismo afecto espontánea o experimentalmente de alergia bacteriana, pueden aparecer dos tipos de reacción: el anafiláctico o precoz, y el tuberculínico o tardío. Sus principales características son las siguientes:

**RESPUESTA ANAFILÁCTICA.**—Se caracteriza por la reacción precoz, dentro de los quince a treinta primeros minutos, en forma de pápula urticarial, rodeada de una zona de eritema, que persiste poco tiempo. Aunque para la sensibilización se requieren productos proteicos, el desencadenamiento puede conseguirse con haptenos polisacáridos, como demostraron entre otros HEIDELBERG y AVERY<sup>4</sup> y TILLET y FRANCIS<sup>5</sup> con polisacáridos del neumococo. Hay anticuerpos circulantes, reagentes o precipitinas, lo que permite efectuar la transmisión pasiva de la sensibilidad (FORMAN<sup>6</sup> y CAULFEIL<sup>7</sup>). La administración parenteral de dosis suficientemente grandes del antígeno completo o del hapteno puede desencadenar la producción de un auténtico shock anafiláctico en los animales sensibilizados (KRAUS y DOERR<sup>8</sup>, HOLLOBUT, BALWIN y RICH<sup>9</sup>), así como el choque local en la tira uterina sensibilizada (TOMCSICK y KURTOCHKIN<sup>10</sup>). La anafilaxia bacteriana en el hombre es muy rara, por lo menos en sus manifestaciones clínicas.

**RESPUESTA TUBERCULÍNICA.**—Tanto la sensibi-

lización como la reacción cutánea requiere la presencia de nucleoproteínas en el antígeno. La reacción es tardía, pues aparece entre las veinticuatro y cuarenta y ocho horas, de carácter inflamatorio, con manifestaciones focales y generales. No se han demostrado anticuerpos circulantes. La transferencia pasiva de la sensibilidad no se puede conseguir con suero del enfermo o del animal sensibilizado; pero sí en cambio, cuando lo que se emplea son células, ya que los anticuerpos de este tipo de sensibilización son citosésiles. Así, JIMÉNEZ DÍAZ<sup>11</sup> consiguió la transmisión pasiva de la sensibilidad tuberculínica mediante la inyección a un sujeto sano de un exudado pleural con rico contenido celular. Igualmente, CHASE<sup>12-13</sup> y HAXTHAUSEN<sup>14</sup> lograron lo mismo con un exudado peritoneal abundante en células producido por irritación inespecífica. LANDSTEINER y CHASE<sup>15</sup> han conseguido la transferencia con células sensibles a drogas.

Se admitía que este tipo de sensibilización tuberculínica se producía por el contacto repetido con los microorganismos vivos; pero aunque esto es usual, puede también conseguirse de otras formas. DIENES y SCHOENHEIT<sup>16</sup> la obtienen inyectando proteínas en un foco tuberculoso, con lo que el organismo así tratado adquiere una sensibilización tuberculínica tardía frente a tales proteínas. También se consigue alimentando terneros durante varios meses con leche pasteurizada de vacas tuberculosas (SWINEFORD y HOLMAN<sup>17</sup>). BRONFFENBRENNER<sup>18,19</sup> logra también sensibilizaciones tuberculínicas inyectando ovalbúmina adsorbida en colodion. Para este autor, todo dependería del grado de dispersión y lentitud de penetración del antígeno sensibilizante.

Parece por consiguiente bien establecido que las bacterias pueden originar sensibilización alérgica, tanto en la investigación experimental como en la clínica, sensibilización que no difiere fundamentalmente de la que puede conseguirse con cualquier otra proteína.

No parece que los dos tipos de respuesta, precoz o anafiláctica y tardía o tuberculínica, respondan a mecanismos distintos entre sí. Más bien la diferencia hay que buscarla en el modo de hacerse la sensibilización, así como en la forma de provocarse la respuesta cutánea. Antes referíamos cómo BRONFFENBRENNER<sup>18</sup> consigue sensibilizaciones de tipo tuberculínico empleando un antígeno, la ovalbúmina, que normalmente origina sensibilizaciones anafilácticas; pero que al ser adsorbida en partículas de colodion, efectúa más lentamente su penetración en el organismo. Es lo mismo que ocurre en los animales a los que llegan bacilos tuberculosos muertos, bien por ingesta o por inyecciones parenterales repetidas. Tal vez no sean muy distintas las condiciones por las que las bacterias vivas, acantonadas en un foco del organismo, produzcan la sensibilización bacteriana a distancia, a través de sus productos de desintegración de escaso poder antigénico y



desprovistos de virulencia por las fuerzas defensivas del organismo.

Tampoco hay diferencias esenciales en el desencadenamiento de la reacción cutánea. El que aparezca uno u otro tipo de respuesta, dependería sobre todo del estado físico, composición y potencia de los antígenos bacterianos empleados (BRONFFENBRENNER<sup>19</sup>). Los bacilos tuberculosos muertos por el calor, al ser inyectados a cobayas tuberculosas, producen un tipo tardío de respuesta; en cambio, bacilos tuberculosos menos modificados, inyectados a esos mismos animales, originan una reacción pápuloeritematosa precoz, según demostró WELLS<sup>20</sup>. Este mismo autor, con ZINSSER<sup>3</sup>, VAUGHAN<sup>21</sup> y otros explican la menor frecuencia de respuestas cutáneas inmediatas frente a las pruebas con bacterias por el hecho de que durante la preparación de los extractos bacterianos, el calor o las sustancias químicas desnaturalizan las proteínas. Por otra parte, en las intradermorreacciones hechas con las bacterias completas, es preciso que pase un cierto tiempo hasta que el soma bacteriano sea desintegrado y deje en libertad las sustancias antigénicas. Resulta sorprendente, como señalan SWINEFORD y HOLMAN<sup>17</sup>, que hasta hace poco tiempo no se haya caído en la cuenta de este hecho, y de que sea preciso emplear antígenos bacterianos solubles para juzgar acertadamente del tipo de respuesta, precoz o tardía, de la alergia bacteriana. Cuando esto se ha hecho, se ha podido ver que en ciertos casos, la fracción polisacárida daba reacción precoz, y que con mayor frecuencia, la reacción tardía de tipo tuberculínico se conseguía con la fracción proteica bacteriana. Pero esto no es, ni mucho menos, absoluto, como más adelante veremos.

La respuesta tardía, inflamatoria, de tipo tuberculínico, es la que aparece más frecuentemente. Su especificidad es defendida por numerosos autores (FAMULENER<sup>22</sup>, THOMAS y TOUART<sup>23</sup>, BROWN<sup>24</sup>, etc.), fundándose en que muchas veces aparecen fenómenos locales y generales de exacerbación de los síntomas al efectuar tales pruebas, y que por otra parte, la positividad de las mismas se atenúa o desaparece con el tratamiento desensibilizante. Los buenos resultados terapéuticos logrados con las vacunas bacterianas, serían otro argumento favorable sobre la especificidad.

Sin embargo, es indudable que las intradermorreacciones, tal como actualmente se efectúan, no resuelven el problema diagnóstico de la alergia bacteriana. Hay muchos individuos normales que dan reacción cutánea positiva frente a numerosas bacterias, y al contrario, sujetos con un asma infeccioso, por ejemplo, que no muestran reacción alguna. En el primer caso, cabe esgrimir el argumento de que nada tiene de extraño la positividad en sujetos normales, ya que están en contacto repetido con los gérmenes saprofitos del organismo. En ellos existiría un estado alérgico larvado o equilibrado (JIMÉNEZ DÍAZ<sup>11</sup>, VAUGHAN<sup>21</sup>) o sensibilización

asintomática, que en cualquier momento podría ponerse de manifiesto. No sería distinto de lo que ocurre en otros tipos de alergia, en los que pueden existir anticuerpos (reaginas, microprecipitinas), como han demostrado TUFT<sup>25</sup>, COLMES, GUILD RACKEMAN<sup>26</sup>, nosotros<sup>27 a 32</sup>, sin traducción clínica. Pero no siempre es este el caso; con más frecuencia, tales positividades son debidas a la acción irritante sobre las células dérmicas de los extractos bacterianos empleados en las pruebas. En cuanto a la negatividad de la respuesta cutánea en indudables casos de alergia bacteriana, la explicación puede estar en una falta o dificultad de desintegración de las bacterias empleadas, que al no dejar en libertad sus fracciones antigénicas, fracasarían en la producción de respuesta.

Por estas razones se ha planteado la conveniencia de encontrar algún método más eficaz y sensible para el diagnóstico de la alergia bacteriana. En este sentido hemos iniciado una serie de trabajos, cuyos primeros resultados queremos comunicar ahora.

Hemos querido ver, en primer lugar, el tipo de reacción cutánea que obteníamos con fracciones solubles de diferentes bacterias estudiando el tipo de respuesta, precoz o tardía, que pudiera aparecer. Simultáneamente investigamos la presencia de anticuerpos circulantes frente a esas mismas fracciones.

**MÉTODO.**—Obtenemos una fracción polisacárido y otra nucleoproteica de seis bacterias, elegidas entre las que dan con más frecuencia reacción cutánea positiva. Tales bacterias son: neumococo, estafilococo, estreptococo hemolítico, estreptococo viridians, friedländer y catarralis. Aunque en un principio seguimos la técnica de LANCEFIELD<sup>28</sup> para la obtención de las fracciones de los estreptococos, posteriormente adoptamos un método distinto, aunque el fundamento es el mismo, esto es, la precipitación en medio ácido de la nucleoproteína y la precipitación por el alcohol de la fracción polisacárido, cuidando de no desnaturalizar tales fracciones para que no perdiesen su propiedad antigénica. En este mismo se basan las técnicas de ZINSSER y PARKER<sup>34</sup>, JULIANELLE y HARTMANN<sup>35</sup>, HEIDELBERG y AVERY<sup>4</sup>, TOMCZICK<sup>36</sup>, HOLMAN y SWINEFORD<sup>37</sup>, etc.

**Preparación de las fracciones.**—Una vez crecido el germen en un medio de cultivo líquido, se le mata sumergiendo el matraz durante dos horas en un baño a 56°. Seguidamente se centrifuga durante media hora a 3.000 r. p. m. para separar los gérmenes del medio de cultivo. Se lavan tres veces con suero salino isotónico. Obtenido el sedimento puro de las bacterias y colocado en un tubo de vidrio pirex, de boca ancha, se sumerge en un termo que contiene acetona y nieve carbónica, con lo que se consiguen temperaturas de -30° C. Rápidamente la masa bacteriana se congela, y entonces se lleva a un baño de 37°, con el fin de deshacerla. Esta maniobra se repite hasta cinco veces con el objeto de que los bruscos cambios de temperatura rompan el cuerpo bacteriano. A continuación se desecan las bacterias en un matraz en cuyo interior se hace el vacío y está rodeado por un baño María a 37°. Las bacterias desecadas quedan adheridas a las paredes del matraz. En ese momento se añaden 200 centímetros cúbicos de una solución de NaOH N/100. Se agita fuertemente hasta que todas las bacterias se han despegado de las paredes. Se deja en la nevera durante veinticuatro horas. Se centrifuga para separar los cuerpos bacterianos y se opera con el líquido sobrenadante.

**1. Fracción nucleoproteica.**—Del extracto bacteriano en sosa centinormal así conseguido, se obtiene la

fracción nucleoproteica, mediante la adición de ácido acético diluido, hasta pH 2 a 4. Se centrifuga para separar el precipitado que se disuelve en NaOH N/100. Nuevas precipitaciones con ácido acético diluido, centrifugación y redisoluciones en sosa centinormal son necesarias para sucesivas purificaciones. En total lo hacemos tres veces. Finalmente, el precipitado obtenido de la última centrifugación se coloca en un desecador o bien en la estufa a 37°. Cuando ha perdido el agua, se pesa y se disuelve en suero fisiológico a la dilución de 1:10.000. Como conservador añadimos merthiolato al 1:30.000. Se envasan en ampollas de 1 c. c., que se conservan en la nevera hasta su uso.

2. *Fracción polisacárido.*—El sobrenadante que queda en 1, después de la precipitación de la nucleoproteína, se evapora en baño María hasta dejarlo reducido a unos 15 a 20 c. c. Se precipita en frío con 10 volúmenes de alcohol al 95 por 100. A veces es necesario añadir unos cristales de cloruro sódico. A las veinticuatro horas se separa por centrifugación el precipitado, que se redissuelve en agua destilada ajustada a pH 4 con ácido acético diluido. Sucesivas purificaciones se obtienen por precipitado con alcohol y redisolución en agua destilada a pH 4. El último precipitado se deseca en la estufa a 37°, se pesa y se disuelve en suero fisiológico, a la concentración de 1:10.000. Se añade también merthiolato como conservador y se envasa en ampollas de 1 c. c.

*Determinación de anticuerpos circulantes.*—Hemos empleado la técnica de adsorción del antígeno en partículas de colodion, ya descrita por nosotros anteriormente<sup>25</sup>.

\*\*\*

En un primer grupo de enfermos probamos cada una de las fracciones de todas las bacterias mencionadas o de parte de las mismas. Se hizo la inyección intradérmica de 0,1 c. c. de la fracción, a la dilución de 1:10.000. Las lecturas se efectuaron a los treinta minutos y a las veinticuatro horas. Al mismo tiempo se tomó sangre para la determinación de microprecipitinas en el suero frente a las fracciones antigénicas de cada bacteria.

**RESULTADOS.** — Damos como positivas las reacciones precoces con formación de pápula o simplemente de eritema, con un diámetro superior a un centímetro (+). Con frecuencia, las reacciones han sido de diámetro superior a los cuatro cm. (+++). En las reacciones tardías seguimos igual criterio sobre el tamaño de la zona indurada y eritematosa.

En el cuadro número 1 puede verse el número de positividades, precoces y tardías, frente a las fracciones antigénicas de las bacterias probadas en un primer grupo de enfermos alérgicos.

Cuadro núm. 1.—Frecuencia de positividades de la respuesta cutánea frente a fracciones solubles bacterianas en sujetos alérgicos.

Bacterias	R. precoz		R. tardía		Microp.		N.º de veces
	Poli-sac.	F. Prot.	Poli-sac.	F. Prot.	Poli-sac.	F. Prot.	
Riedländer ...	2	1	13	0	8	4	70
Est. virid. ....	8	4	34	8	3	7	70
Est. hemolit. ...	5	3	36	20	6	8	70
Estafilococo ...		13		27		7	70
Neumococo ...			8	10			14

*Nota.*—No pudimos probar, por accidente, la fracción polisacárido del estafilococo en estos primeros 70 casos. Las fracciones del neumococo fueron obtenidas cuando ya habíamos comenzado el estudio, razón por la que sólo se probó 14 veces.

En el examen de estos datos resaltan algunos puntos importantes. Uno de ellos es la escasez de reacciones precoces que hemos obtenido, tanto con la fracción polisacárido como con la proteica. Únicamente el estafilococo mostró 13 veces reacción precoz con la fracción proteica (no pudimos disponer del polisacárido en un principio). En cambio, las reacciones tardías han sido muy frecuentes, hasta del 50 por 100 con los polisacáridos del estreptococo viridans y del hemolítico. Resulta un poco sorprendente esta mayor frecuencia de reacciones de tipo tuberculínico con fracciones polisacárido, cuando lo que habría de esperarse es que esto ocurriera con la fracción proteica. Acaso la explicación esté en que las fracciones obtenidas por nosotros no son puras, y la que llamamos polisacárido lleva partes proteicas, cuyo valor antigénico puede ser muy grande, y al contrario, la fracción proteica va unida a una porción hidrocarbónica. El método de obtención que empleamos se limita a separar las proteínas ácidosolubles de los polisacáridos ácidosolubles, y es conocido que existen antígenos proteicos insolubles en alcohol y solubles en ácido, como la proteína "B" del estafilococo dorado (VERWEY<sup>26</sup>). La existencia de microprecipitinas frente a las dos fracciones hemos podido demostrarla en 26 ocasiones, con un total de 42 positividades, indicando la existencia de anticuerpos circulantes frente a las fracciones solubles bacterianas. Pero la falta de correlación entre las pruebas cutáneas y estos hallazgos serológicos ha sido completa, por lo que no nos hemos decidido a darles ningún valor diagnóstico.

Para poder comparar la posible especificidad de tales pruebas, hicimos simultáneamente el mismo estudio en 30 sujetos no alérgicos. Los resultados obtenidos se agrupan en el cuadro número 2.

Cuadro núm. 2.—Frecuencia de positividades de la respuesta cutánea frente a fracciones solubles bacterianas en sujetos no alérgicos.

Bacterias	R. precoz		R. tardía		Microp.		N.º de veces
	Poli-sac.	F. Prot.	Poli-sac.	F. Prot.	Poli-sac.	F. Prot.	
Friedländer ...	0	0	13	0	3	1	30
Est. virid. ....	3	1	10	2	0	1	30
Est. hemol. ....	2	1	8	6	0	2	30
Estafilococo ...		5		6		2	30
Neumococo ...	1	3	5	6			20

Como vemos, también en los sujetos no afectados de alergia bacteriana se obtienen porcentajes bastante elevados de positividad (33,3 por 100 de reacciones tardías frente al polisacárido del estreptococo viridans y 29,9 por 100 para la del estreptococo hemolítico, 25 por 100 para el neumococo, etc.). Estos datos por sí solos invalidan la posible especificidad de las pruebas tal como las hemos realizado. A conclusiones semejantes llegan SWINEFORD y HOLMAN en una serie de exploraciones efectuadas con frac-



ciones bacterianas y en las que encuentran también un elevado porcentaje de reacciones precoces y tardías, tanto en sujetos alérgicos como en los que no lo son. Los "tests" con fracciones bacterianas—dicen estos autores—están sujetos a las mismas dificultades de interpretación y aplicación clínica que otras pruebas cutáneas con alimentos o inhalantes. La significación etiológica de una reacción cutánea positiva debe ser constatada por medios clínicos.

\* \* \*

Llegados a este punto pensamos que acaso existiría una diferencia de grado en la respuesta cutánea frente a las fracciones bacterianas de los sujetos alérgicos y los que no lo son. Tenemos la impresión de que empleamos en esta primera serie de pruebas concentraciones altas de los antígenos bacterianos, y que acaso trabajando con diluciones mayores que las de 1:10.000 pudiésemos establecer diferencias significativas entre uno y otro grupo de sujetos. Si en lugar de efectuar las pruebas con concentraciones constantes las realizamos en una serie de diluciones progresivas, podríamos establecer un umbral o dintel de reacción pare-

cido al que se obtiene con la tuberculina. Con esta idea base hemos proseguido nuestro trabajo con un segundo grupo de observaciones en individuos alérgicos, principalmente bacterianos y en un grupo control de sujetos normales. En lugar de probar cada fracción bacteriana por separado, hemos hecho la mezcla por una parte de los polisacáridos y por otra de las fracciones proteicas de estafilococo, estreptococo viridans, est. hemolítico, neumococo, Friedlander y catarralis. De estas mezclas se hacen diluciones sucesivas, partiendo de la concentración 1:10.000 y llegando hasta 1:100.000.000. Las pruebas se hacen por inyección intradérmica de 0,1 c. c. de cada concentración. La lectura se verifica a los treinta minutos y veinticuatro horas, anotando las positivities mediante el calor de la zona cutánea de reacción, tanto precoz como tardía. Consideramos positiva la reacción superior a un centímetro de diámetro.

En el cuadro número 3 recogemos no sólo los resultados obtenidos con esta nueva modalidad de exploración, sino también una serie de datos obtenidos de cada enfermo estudiado, con el fin de poder ver si hay concordancia o no entre lo que las pruebas arrojan y los datos clínicos.

Cuadro núm. 3.—Umbrales de reacción cutánea frente a mezclas de fracciones solubles bacterianas en individuos alérgicos.

N.º H.º	Nombre	Edad de aparición	Ant. alérgicos	Cat. hab. de esc.	Predominio	Intrad.-reacción		Diagnóstico	Concordancia
						Polis.	F. Prot.		
435	A. G.	14	No.	Sí.	Asma	100.000	Φ	Asma complejo.	?
784	D. H. B.	20	No.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
1.272	A. H. G.	8	Sí.	Sí.	Catarro	10 M.	100.000	Asma infantil.	C.
1.380	M. P.	15	No.	Sí.	Catarro	100 M.	1 M.	Asm. bact.	C.
1.527	A. P.	49	No.	Sí.	Catarro	Φ	Φ	Tub. pul.	C.
1.719	J. M.	33	No.	Sí.	Catarro	10.000	Φ	Asma bact.	D.
2.235	S. G. F.	1	No.	Sí.	Catarro	1 M.	1 M.	Asma infantil.	C.
2.321	L. M. V.	23	No.	No.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
2.448	A. M. G.	47	Sí.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
2.458	A. C. T.	36	No.	Sí.	Catarro	Φ	10.000	Asma. bact.	D.
2.591	M. M.	1	No.	Sí.	Sin asma	Φ	Φ	Asma alérgén.	C.
2.779	E. L.	54	Sí.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
2.856	J. M.	12	No.	No.	Asma	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.
2.879	I. T. U.	30	Sí.	No.	Asma	100.000	10.000	Asm. bact.	C.
2.972	S. D. S.	14	No.	Sí.	Catarro	1 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
3.152	T. U.	23	No.	Sí.	Asma	Φ	100 M.	Asma mixto	C.
3.186	I. P. B.	10	Sí.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
3.253	L. M. L.	8	No.	Sí.	Catarro	10.000	10.000	Asma infantil	?
3.309	I. G. P.	1	Sí.	Sí.	Asma	100 M.	100 M.	Asma infantil.	?
3.352	C. R.	34	Sí.	Sí.	Catarro	10.000	10 M.	Asm. bact.	C.
3.497	A. S. G.	46	No.	No.	Asma	Φ	Φ	Asma alérgén.	C.
3.563	F. C.	32	No.	No.	Asma	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.
3.576	J. S. C.	51	No.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
3.664	C. M. F.	10	No.	Sí.	Asma	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.
3.672	A. M.	40	No.	Sí.	Catarro	100.000	1 M.	Asm. bact.	C.
3.702	B. S. V.	43	No.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
3.721	A. R.	46	Sí.	Sí.	Catarro	10 M.	100.000	Asm. bact.	C.
3.751	R. N.	37	No.	Sí.	Catarro	Φ	Φ	Asma. bact.	D.
3.828	A. L. A.	58	Sí.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
3.851	A. S.	26	Sí.	No.	Asma	100.000	1 M.	Asma alérgén.	D.
3.904	J. L. J.	58	Sí.	Sí.	Catarro	Φ	Φ	Asma. bact.	D.
4.006	J. B. B.	37	No.	No.	Asma	1 M.	100.000	Asma alérgén.	D.
3.989	A. V.	22	No.	Sí.	Catarro	1 M.	100.000	Catarros repet.	D.
4.020	F. S. S.	30	Sí.	No.	Asma	100 M.	100 M.	Asma complejo.	C.
4.044	A. B.	28	No.	Sí.	Catarro	1 M.	100.000	Asma alérgén.	D.
4.045	E. R.	20	No.	Sí.	Catarro	10 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.051	E. G. D.	58	Sí.	Sí.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.053	J. P. F.	44	Sí.	Sí.	Asma	100 M.	10 M.	Asm. bact.	C.

N.º H.º	Nombre	Edad de aparición	Ant. alérgicos	Cat. hab. desc.	Predominio	Intrad.-reacción		Diagnóstico	Concordancia
						Polis.	F. Prot.		
4.059	F. S. G.	25	No.	No.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.061	L. S. L.	36	No.	Si.	Catarro	100.000	Φ	Asm. bact.	C.
4.062	M. R. H.	4	No.	Si.	Catarro	Φ	Φ	Bronq. y asm.	?
4.065	A. P. G.	33	Si.	Si.	Asma	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.063	F. B.	54	Si.	Si.	Asma	100.000	10.000	Asma bact.	?
4.068	P. A. L.	38	No.	No.	Catarro	10.000	Φ	Asma urticaria.	?
4.069	E. L.	47	No.	Si.	Catarro	1 M.	Φ	Asm. bact.	C.
4.070	M. A. M.	30	No.	Si.	Asma	10.000	Φ	Asma. bact.	D.
4.072	C. C. C.	23	No.	Si.	Asma	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.075	F. C.	44	Si.	Si.	Catarro	10.000	10.000	Asma. bact.	D.
4.077	M. Ll.	6	Si.	Si.	Catarro	Φ	Φ	Cat. hab. d.	C.
4.079	M. L.	29	Si.	Si.	Catarro	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.
4.085	M. S. G.	31	Si.	Si.	Catarro	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.
4.086	M. S. P.	21	Si.	Si.	Catarro	100.000	Φ	Cat. hab. d.	?
4.089	J. H.	50	Si.	Si.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.098	M. S. G.	30	Si.	Si.	Catarro	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.
4.101	D. Z. M.	46	No.	Si.	Catarro	Φ	Φ	Asma. bact.	D.
4.105	R. M. P.	18	No.	Si.	Asma	Φ	Φ	Asma bact.	D.
4.106	C. P.	24	No.	No.	Coriza	10 M.	100 M.	Polinosis	D.
4.126	T. A. S.	30	Si.	No.	Asma	100 M.	100.000	Asm. bact.	C.
4.127	J. A.	23	No.	Si.	Catarro	Φ	Φ	Asma. bact.	D.
4.128	A. G. C.	49	Si.	Si.	Catarro	100 M.	100 M.	Asm. bact.	C.
4.135	J. E. G.	13	Si.	Si.	Ambas	Φ	Φ	Asma alérgico	C.
4.139	M. D. A.	30	No.	No.	Asma	10 M.	10 M.	Asm. bact.	C.

M. = Millones.

C. = Concordancia.

D. = Discordancia.

El resumen de los enfermos contenidos en el anterior cuadro, es como sigue:

Numero total de enfermos	62
Concordancia entre el diagnóstico clínico y las pruebas	42 = 67,7 %
Discordancia entre el diagnóstico clínico y las pruebas	14 = 22,5 %
Pendientes de interpretación	6
Analizándolos por grupos tenemos:	
Asma bacteriano	48
Concordantes (umbral de reac. superior a 1 : 10.000)	39 = 81,2 %
Discordantes (umbral no superior a 1 : 10.000)	9 = 18,7 %
Asma alérgico	4
Concordantes (umbral negativo, inferior a 1 : 10.000)	2
Discordantes (umbral superior a 1 : 10.000)	2
Catarros hab. descendentes	2
Concordante (umbral inferior a 1 : 10.000)	1
Discordante (umbral superior a 1 : 10.000)	1
Polinosis.—Un caso discordante (umbral superior a 1 : 10.000)	1
Un enfermo orgánico (tub. pulmonar con reacción asmática), concordante (reacción cutánea negativa)	1
Pendientes de interpretación	6

Como se puede observar, la determinación del umbral de respuesta cutánea a las mezclas de fracciones bacterianas da resultados concordantes con el diagnóstico clínico en un elevado porcentaje de casos, que llega hasta el 67,7 por 100 del número total. Si eliminásemos los seis enfermos en que por insuficiencia de exploración no se llegó a un diagnóstico preciso, el procentaje de concordancia se elevaría a un 74,1 por 100. En el grupo de los asmás bacterianos hemos obtenido respuesta cutánea positiva por encima de 1 : 10.000 en el 81,2 por 100, siendo muchas veces evidente la reacción hasta con diluciones del antígeno del orden de 1 : 100 millones. Esto contrasta notablemente con lo que se obtiene en sujetos normales en los que la positividad rara vez es superior al 1 : 10.000 para ambas fracciones. En 32 sujetos probados sólo encontramos cuatro veces umbrales de reacción por encima de la referida dilución.

Es aún prematuro hablar del valor que este método puede tener en el diagnóstico de un estado alérgico bacteriano. Se requiere una experiencia más prolongada y numerosa para llegar a conclusiones firmes. Sin embargo, no deja de ser alentador el elevado porcentaje de concordancia entre los datos clínicos del enfermo y el resultado de las pruebas.

No tenemos duda de que trabajamos con fracciones bacterianas activas. Muchos enfermos presentaban en las horas que siguieron a las pruebas una exarcebación de sus molestias en forma de ahogo, opresión torácica, apareciendo en algunos casos auténticas crisis de asma. En un enfermo observamos un fenómeno interesante: a los pocos días de efectuadas las



pruebas cutáneas hechas con las fracciones aisladas de cada bacteria y a la concentración de 1:10.000, le aparecieron unas lesiones eritematosas y escamosas, redondeadas, de diámetro variable entre medio y tres centímetros, localizadas principalmente en el cuello y en el antebrazo donde se le había inyectado para efectuar las intradermorreacciones. Eran micróbios, semejantes a las que espontáneamente presentan algunos sujetos afectados de procesos infecciosos crónicos de la piel. Este hecho, que tiene todo el valor de una experiencia de laboratorio, prueba la actividad de las fracciones bacterianas empleadas. En la actualidad estamos tratando a varios enfermos con vacunas hechas con la mezcla de la fracción proteica por una parte y de la fracción polisacárido por otra. Los resultados que se obtengan serán comunicados en su día.

En resumen, creemos que la determinación del umbral de reacción cutánea frente a una mezcla de fracciones solubles de diversas bacterias puede representar un avance importante en el diagnóstico de la alergia bacteriana. Los resultados previos que comunicamos son alentadores en este sentido, aunque se requiere una mayor experiencia.

## BIBLIOGRAFIA

1. KOCH, R.—Deutsch. Med. Wschr., 16, 1029, 1890.
2. ROSENAU, M. J. y ANDERSON, J. F.—Bull. Hyg. Lab. U. S. P. H. S., 36, 1907.
3. ZINSSER, H., ENDERS, J. F. y FOTERGIL, I. R. D.—Immunity. Principles and application in Medicine. Nueva York, 1939.
4. HEIDELBERGER, M. y AVERY, O. T.—Jour. Exp. Med., 38, 73, 1923; ídem, 40, 301, 1924.
5. TILLET, W. S. y FRANCIS, T.—Jour. Exp. Med., 52, 573, 1930.
6. FORMAN, J.—Ohio State Med. Jour., 31, 200, 1935.
7. CAULFIELD, A. H. W.—Jour. Allergy., 2, 373, 1931.
8. KRAUS, R. y DOERR, W.—Wien. Med. Wschr., 21, 1008, 1908.
9. BALDWIN, E. R.—Jour. Med. Research, 22, 189, 1910.
10. TOMCSICK y KUROTCHKIN.—Jour. Exp. Med., 47, 379, 1928.
11. JIMÉNEZ DÍAZ, C.—El asma y otras enfermedades alérgicas. Madrid, 1932.
12. CHASE, M. W.—Jour. Exp. Med., 86, 479, 1947.
13. CHASE, M. W.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 59, 134, 1945.
14. HAXTHAUSEN, H.—Act. derm. venereol., 27, 275, 1947.
15. LANDSTEINER, K. y CHASE, M. W.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 49, 688, 1942.
16. DIENES, L. y SCHOENHEIT, E. W.—Jour. Immunol., 19, 41, 1930.
17. SWINEFORD, O. y HOLMAN, J.—Jour. Allergy., 20, 292, 1949.
18. BRONFFENBRENNER, J.—Jour. Allergy., 19, 71, 1948.
19. BRONFFENBRENNER, J.—Jour. Allergy., 19, 71, 1948.
20. WEELS, H. G.—Chemical Aspects of Immunity. Nueva York, 1929.
21. VAUGHAN, W. T.—Practice of Allergy. St. Louis, 1939.
22. FAMULENER, L. W.—Jour. Allergy., 1, 84, 1929.
23. THOMAS, W. S. y TOUART, M. D.—Jour. Allergy., 4, 242, 1933.
24. BROWN, G. T.—South Med. Jour., 27, 856, 1934.
25. TUFT, L.—Jour. Allergy., 14, 355, 1943.
26. COLMES, GUILD y RACKEMAN.—Cit. JIMÉNEZ DÍAZ (27).
27. JIMÉNEZ DÍAZ, C.—Algunos problemas de la Patología Interna. Madrid, 1944.
28. ARJONA, E., ALES, J. M. y JIMÉNEZ DÍAZ, C.—Rev. Clin. Esp., 15, 192, 1944.
29. ALES, J. M., ARJONA, E., JIMÉNEZ DÍAZ, C. y SEGOVIA, J. M.—Rev. Clin. Esp., 19, 238, 1945.
30. JIMÉNEZ DÍAZ, C., SEGOVIA, J. M., ARJONA, E. y ALES, J. M.—Rev. Clin. Esp., 23, 13, 1946.
31. SEGOVIA, J. M., JIMÉNEZ DÍAZ, C., ARJONA, E. y ALES, J. M.—Rev. Clin. Esp., 33, 97, 1949; Bull. Inst. Med. Res. Madrid, 2, 57, 1949.
32. ARJONA, E. y ALES, J. M.—Anafilaxia y Alergia. Ponencia al Primer Congreso Nacional de Alergia. Madrid, 1949.
33. LANCHEFIELD, R. C.—Jour. Exp. Med., 42, 377, 1945.
34. ZINSSER, H. y PARKER, J. T.—Jour. Exp. Med., 37, 275, 1923.
35. JULIANELLE, L. A. y HARTMANN, A. F.—Jour. Exp. Med., 64, 149, 1936.
36. TOMCZIK, J.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 24, 810, 1926; ídem, 24, 812, 1922.

37. HOLMAN y SWINEFORD, O.—Jour. Allergy., 20, 418, 1949.
38. JIMÉNEZ DÍAZ, C., ARJONA, E., ALES, J. M. y SEGOVIA, J. M.—Rev. Clin. Esp., 38, 356, 1950.
39. VERWEY, W. F.—Jour. Exp. Med., 71, 635, 1940.
40. SWINEFORD, O. y HOLMAN, J.—Jour. Allergy., 20, 420, 1949.

## SUMMARY

The determination of the threshold of the skin reaction to a mixture of different soluble bacteria fractions may prove most effective in aiding diagnosis of bacterial allergy. The results reported here are encouraging but the method must be given adequate trial.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Feststellung der Schwelle der Hautreaktion einer Mischung von verschiedenen Bakterienfraktionen gegenüber kann vielleicht bei der Diagnose der Bakterienallergie einen bedeutenden Fortschritt abgeben. Die frühzeitig mitgeteilten Ergebnisse sind in diesem Sinne vielversprechend, wenn sie auch noch einer grösseren Anzahl von Experimenten bedürfen.

## RÉSUMÉ

La détermination du seuil de réaction cutanée vis à vis d'un mélange de fractions solubles de différents bactéries, peut représenter une avance importante dans le diagnostic de l'allergie bactérienne. Les résultats que les auteurs communiquent sont encourageants dans ce sens, quoique il soit nécessaire une plus grande expérience.

HIPERTENSION ARTERIAL POR LIQUIDOS  
INTRAPERITONEALES

## I. COMUNICACIÓN.

*Efecto a frigore.*

J. MARTOS, J. NÚÑEZ DEL CARRIL, R. J. MORA  
y E. ORTIZ DE LANDÁZURI.

Clinica de Patología General. Instituto Nacional de Ciencias Médicas (C. S. I. C.). Sección de Granada.

La hipertensión arterial, salvo la de origen netamente cardiovascular, es la consecuencia de múltiples circunstancias desencadenantes, siendo las neurógenas y humorales las dos grandes constelaciones que se debaten en su patogenia<sup>1</sup>. Así, unas veces por un mecanismo inicialmente neurógeno, se puede provocar experimentalmente una hipertensión, como sucede con la excitación del cabo central del vago; y otras, por mecanismo humoral, como el pinzamiento del pedículo renal, que lleva consigo en último término la formación de angiotonina.

En la clínica humana la hipertensión esencial es principalmente neurógena, y de ahí el buen efecto de los bloqueantes ganglionares del tipo del tetraetil-amonio<sup>2</sup> o la escisión quirúrgica de la cadena simpática; y, por el contrario, las hipertensiones endocrinas, como el Cushing o