

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica  
Sección de Bioquímica. — Madrid

## **Producción experimental de proteidasas específicas**

### **III. Experiencias con "*Corynebacterium diphtheriæ*" vivo.**

por M. ESCRIBANO ARNAL, A. SANTOS RUIZ y J. LUCAS GALLEGO

(Recibido para publicar el 21 de Junio de 1947)

#### INTRODUCCION

En una primera comunicación (1) demostrábamos que el «*Corynebacterium diphtheriæ*» muerto, desprovisto de toxina, posee proteídos que dan lugar en el conejo a la producción de fermentos defensivos específicos capaces de desintegrar al substrato correspondiente.

En una segunda nota (2) dábamos cuenta de las pruebas realizadas con toxina y anatoxina diftéricas y llegábamos a la conclusión de que éstas aisladamente o en conjunto provocan la aparición de enzimas defensivos específicos en la orina de los conejos vacunados o no.

En este trabajo exponemos los resultados conseguidos con «*Corynebacterium diphtheriæ*» vivo y como en nuestros experimentos anteriores seleccionamos el conejo, el cual parece ser más susceptible a las infecciones del bacilo «gravis» o «intermedio» que a las del tipo «mitis». Esta diferencia es más notable si se administran las inyecciones por vía intravenosa en lugar de la vía subcutánea, pero incluso en estas condiciones, la infección no es del mismo orden que la observada en casos mortales, y en las naturales del hombre. [ANDERSON (3), LEFTE (4) y MURRAY (5).]

No se sabe todavía por qué las cepas del bacilo «gravis»

son más fatales para el conejo que las del «mitis». Algunos autores indican que podía ser debido a un aumento de poder de invasión hística, pero este problema no está todavía solucionado.

## PARTE EXPERIMENTAL

Las técnicas empleadas han sido las mismas que en la primera comunicación.

a) DETERMINACIÓN DE LA DOSIS MÍNIMA DE BACILO VIVO. — Tomamos un lote de siete conejos, en los que previamente hemos comprobado la reacción negativa durante dos días consecutivos para los substratos de bacilo, placenta y para los controles de toxina y sedimento acetónico, y los inyectamos con una suspensión de bacilo vivo que corresponde a una concentración de dos mil millones, con dosis progresivamente crecientes a partir de 0,1 c. c. hasta 0,25 c. c., o sea, 0,025 centímetros cúbicos cada conejo más que el anterior. El cuadro número 1, nos permite determinar que los conejos 1 y 2, tienen una eliminación normal de orina y son negativas las reacciones en los tubos de substratos y controles, que a partir del conejo 3, permanecen los dos primeros días con oliguria que impide realizar la reacción y que desde el conejo 5, inyectado con 0,2 c. c. se comprueba la eliminación de fermentos defensivos en la primera determinación, a partir del tercer día, de donde se deduce que la dosis mínima que debe emplearse es de 0,2 centímetros cúbicos.

b) EXPERIENCIAS CON INYECCIÓN DE SUSPENSIÓN DE BACILO VIVO. — Para poder coordinar estas experiencias con las anteriores se procede a realizar determinaciones en tres lotes de conejos distintos. Uno de ellos, se inyecta con bacilo vivo a la dosis de 0,2 c. c. de suspensión de dicho germen. Un segundo lote es tratado por anatoxina después de la inyección de bacilo vivo y un tercer lote, vacunado con anatoxina y en período de inmunidad, se inyecta con suspensión de germen vivo.

a) *Inyección de suspensión de bacilo vivo sin tratamiento.* — Se ha empleado un lote de 54 conejos, que, una vez comprobado que no eliminan fermentos defensivos que desintegren a los substratos de placenta, bacilo y toxina, los inyec-

tamos con 0,2 c. c. de suspensión de bacilo vivo. En las cuarenta y ocho horas que siguen a la inyección, presentan una intensa oliguria que impide practicar la reacción, y ésta sólo es posible verificarla a partir del tercer día. En el cuadro 2, se observa en primer lugar que la reacción es positiva para los substratos de bacilo y toxina en todos los casos. Aparece reacción positiva con el substrato de placenta en los conejos 3, 7, 14, 17, 23, 26, 31, 40, 46, 49, 52 y 54, si bien el resultado positivo en estos casos es aislado, por lo cual carece de valor.

Por lo que afecta a la relación de la gravedad del proceso, se aprecia que los conejos que padecen el proceso más grave (3, 6, 14, 17, 19, 28, 30, 31, 33, 39, 44, 50 y 51), presentan menos intensidad en la reacción y que la eliminación de los fermentos defensivos alcanza su punto óptimo al estabilizarse el proceso; en aquellos otros en que el proceso es más leve (2, 4, 5, 7, 8, 15, 16, 20, 32, 40, 41, 42, 47, 52 y 54) presentan una acusada reacción desde las primeras determinaciones, observándose también que en estos últimos la eliminación de proteidasas defensivas por la orina cesa en algunos en la séptima determinación (para el substrato de bacilo los conejos 15, 16, 41 y 42, para el substrato de toxina los 16, 42 y 54) mientras que en aquéllos la eliminación suele durar en algunos hasta la novena determinación (para el substrato de bacilo, los conejos 11, 39 y 51, y para el de toxina los conejos 17, 19, 30, 31, 39 y 51).

*β) Inyección de suspensión de bacilo vivo y tratamiento con anatoxina.* — Del cuadro 3 se deduce que la reacción es positiva para los substratos de bacilo y toxina en todos los casos y sólo el de placenta en alguna prueba aislada, en los conejos 3, 11, 21 y 27. Por lo que respecta a la gravedad del proceso y su relación con la intensidad de la reacción en los conejos 11 y 12 que tienen el proceso más grave, la reacción es menos intensa; en los conejos 5, 9, 17, 19, 20 y 23, que tienen el proceso más leve es más intensa y la eliminación de fermentos defensivos cesa en algunos de ellos en la octava determinación, conejos 5, 9, 19 y 23, mientras que en los 11 y 12 con proceso más grave dura en la novena y cesa en la décima determinación.

*γ) Inyección con bacilo vivo en conejos vacunados.* — Un lote de 27 conejos, previa comprobación de que no eliminan

fermentos defensivos, los inyectamos con 0,2 c. c. de suspensión de bacilo vivo. Durante las primeras 48 horas no hay eliminación urinaria suficiente para practicar la reacción y ésta sólo es posible al tercer día. El cuadro 4 nos demuestra la eliminación de fermentos defensivos que hidrolizan los substratos de bacilo y en este lote de animales vemos que los síntomas son leves en todos los casos y que los conejos 3, 5, 11, 12, 15, 16 y 26, dejan de eliminar fermentos en la octava determinación para el substrato de bacilo, así como lo hacen en esta misma determinación para el substrato de toxina los conejos 5, 8, 11, 12, 15, 16, 26 y 27.

Por lo tanto y como consecuencia de los resultados en estos tres lotes de conejos se deduce que desde la primera determinación aparecen fermentos defensivos que desintegran los substratos de bacilo y toxina y que la intensidad del proceso está en razón inversa de su gravedad, pues los fermentos defensivos desaparecen para los no tratados hacia la octava o novena determinación, así como en los tratados y vacunados.

CUADRO 1

Conejos	N.º c. c. iny.	Subs.	DÍAS			
			1	2	3	4
1	0,100	K	—	—	—	—
		P	—	—	—	—
		B	—	—	—	—
		KT	—	—	—	—
		T	—	—	—	—
2	0,125	K	—	—	—	—
		P	—	—	—	—
		B	—	—	—	—
		KT	—	—	—	—
		T	—	—	—	—
3	0,150	K	•	•	—	—
		P	•	•	—	—
		B	•	•	—	—
		KT	•	•	—	—
		T	•	•	—	—
4	0,175	K	•	•	—	—
		P	•	•	—	—
		B	•	•	—	—
		KT	•	•	—	—
		T	•	•	—	—
5	0,200	K	•	•	—	—
		P	•	•	—	—
		B	•	•	++	++
		KT	•	•	—	—
		T	•	•	+	+
6	0,225	K	•	•	—	—
		P	•	•	—	—
		B	•	•	++	++
		KT	•	•	—	—
		T	•	•	++	++



10	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	++	+++	+++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
11	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
12	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
13	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	+++	+++	+++	++	++	++	—
14	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	++	+++	++	++	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	+	+	++	++	+++	+++	++	—
15	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++++	+++	++++	++++	++++	+++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	++++	++++	++++	+++	++	+	—
16	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	++++	++++	++++	+++	+	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—
17	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	++	+++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	+	+	+	+	++	++	++	+
18	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	++	+++	+++	++	+	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	+++	++	++	++	+++	++	+	—
19	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	+++	+++	+++	++	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+
20	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
21	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	—
22	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	+++	+++	+++	++	++	+++	++	—

23	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	+	—	—	—	+	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
	KT	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
24	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—
	KT	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
25	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	++	+++	+++	++	+	+	—
	KT	++	+++	++	++	++	+++	++	++	—
26	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	+	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—
	KT	++	++	++	+++	+++	+++	++	+	—
27	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—
	KT	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
28	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	++	+++	+++	++	++	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—
	KT	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
30	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—
	KT	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
33	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	++	+++	+++	+++	++	+	—
	KT	++	++	++	++	++	+++	++	++	—
34	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—
	KT	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
35	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
	KT	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	—

36	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
37	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
38	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
39	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	++	++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+	—
40	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+	—	—
41	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	++	+++	++	++	+	—	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
42	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++++	++++	++++	++++	++++	++	+	—	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—
43	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	—	—
44	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	++	+++	++	++	++	++	+	—	—
45	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
46	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	++	++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
47	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
48	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—

PROTEIDASAS ESPECÍFICAS

325

49	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	+	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	++	++	+++	++	++	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	T	++	++	+++	++	+++	+++	+	+	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	+++	+++	++	++	+
51	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+	+	+	++	++	+++	+++	++	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
52	B	+	+	+	+	++	++	+++	++	+
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
53	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
54	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+	+	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—

CUADRO 3

Conejos	Subs.	DETERMINACIONES									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	T	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
3	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	B	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	++	++	+++	+++	+++	++	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+	—	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—

K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7 B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8 B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9 B	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+	—	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 B	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11 B	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+	+	+	+	++	++	+++	+++	+	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12 B	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+	+	+	+	+	++	++	++	+	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13 B	+++	+++	+++	++	+++	+++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14 B	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 B	+++	+++	+++	++++	+++	+++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16 B	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17 B	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18 B	++	++	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—



K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 B	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4 B	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 B	++++	++++	++++	+++	+++	++	+	—	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 B	++	++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7 B	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8 B	++	++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	++++	++++	++++	++++	+++	+	—	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9 B	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	+++	++++	++++	++++	+++	+++	++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 B	++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11 B	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	—	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12 B	++	++	+++	+++	++	++	+	—	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	++++	++++	+++	+++	++	++	—	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13 B	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	+++	+++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14 B	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 B	+++	++++	++++	+++	+++	++	+	—	—	—
KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—

PROTEIDASAS ESPECÍFICAS

329

16	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	++++	++++	++++	++	+	—	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—
18	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	B	+++	+++	++++	++++	+++	+++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+	+	++	+	+++	+++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
21	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
23	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++	+	—	—
26	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—
	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	KT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—

## COMENTARIO GENERAL

Hemos realizado un total de 397 experiencias distribuidas en la forma siguiente: 24, con suspensión de substrato de bacilo; 114 con suspensión de bacilo muerto; 104 con toxina; 110 con suspensión de vacilo vivo y 45 con anatoxina. El número de pruebas se eleva a unas 18.000, por lo que incluimos un cuadro resumen.

En los ensayos verificados con las suspensiones de substrato de bacilo, de bacilo muerto, de bacilo vivo, toxina y anatoxina, observamos en el cuadro V, que los resultados son positivos y específicos en el 100 % de los casos, y esto confirma las experiencias del profesor ABDERHALDEN, sobre la eliminación de los fermentos defensivos en las enfermedades infecciosas.

CUADRO 5

Productos	Substrato que digieren			Tiempo de duración de la eliminación en días
	B	T	P	
Sustrato de bacilo	100 %	0 %	0 %	9
Bacilo muerto	100 %	0 %	0 %	9
Bacilo muerto más anatoxina	100 %	100 %	0 %	9
Vacunación y bacilo muerto	100 %	0 %	0 %	9
Bacilo vivo	100 %	100 %	0 %	10
Bacilo vivo y anatoxina	100 %	100 %	0 %	10
Bacilo vivo y vacunación	100 %	100 %	0 %	10
Toxina	0 %	100 %	0 %	9
Toxina y anatoxina	0 %	100 %	0 %	9
Toxina y vacunación	0 %	100 %	0 %	9
Anatoxina 0,15 c. c.	0 %	100 %	0 %	9
Anatoxina 1,00 c. c.	0 %	100 %	0 %	14

Las pruebas realizadas con toxina o anatoxina, aisladamente o en conjunto, demuestran también la aparición de fermentos defensivos específicos para las albúminas constitutivas de estas sustancias; en particular, los inoculados con anato-

xina, nos demuestran que la presencia del formaldehído, no impide la aparición de los fermentos.

En los experimentos que se refieren a inyectar los animales con bacilo vivo, es de notar que eliminan enzimas defensivas para los substratos de bacilo y de toxina, en tanto que los inyectados con toxina, eliminan sólo fermentos para la toxina y no para el bacilo; estos resultados nos señalan que la administración de bacilo vivo, produce dos clases de fermentos defensivos, uno para las albúminas del bacilo y otro para la de toxina. Ahora bien, es notable observar que en las experiencias con bacilo muerto no se producen fermentos defensivos para la toxina y estos resultados negativos nos hacen pensar que tales toxinas no existen en el bacilo vivo, sino que se producen en el organismo o en los medios de cultivo.

Los fermentos dejan de eliminarse transcurridos nueve días a partir de la inoculación para la toxina, anatoxina, bacilo muerto y substrato de bacilo, y de diez días para las realizadas con el bacilo vivo, cuando como en nuestros experimentos, se emplean dosis mínimas; ahora bien, si las dosis administradas son superiores, los fermentos continúan produciéndose en días sucesivos, por lo que creemos que la formación de fermentos defensivos y su eliminación en función del tiempo es proporcional a la dosis de albúmina administrada.

Observamos que los conejos inyectados con bacilo vivo o muerto, a pesar del tratamiento con la anatoxina, o de la vacunación previa, continúan eliminando fermentos para el substrato de bacilo en igual forma que los no tratados y en consecuencia opinamos que la eliminación de los fermentos defensivos se mantiene en los procesos infecciosos hasta su curación, no obstante el tratamiento efectuado.

Que la intensidad de la reacción está en razón inversa con la gravedad del proceso se demuestra por cuanto mayor es ésta, corresponde en todos los casos menos intensidad en aquélla y viceversa.

En la prueba con bacilo vivo, se encuentra la intensidad de la reacción más precoz con el substrato de bacilo que con el de toxina, en tanto que desaparece la intensidad más pronto para el bacilo que para la toxina. Estos mismos resultados se confirman en los experimentos con tratamiento de anatoxina, de donde consideramos que la formación de los fermentos defensivos

es más rápida para las albúminas del bacilo que para las de la toxina.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> La inyección a conejos, no tratados, de suspensión de bacilo vivo da lugar a la eliminación por orina de proteidasas específicas para los substratos de bacilo y de toxina.

2.<sup>a</sup> La inyección a conejos, tratados con anatoxina, de suspensión de bacilo vivo, origina también la producción de proteidasas específicas para los substratos de bacilo y de toxina.

3.<sup>a</sup> La inyección de bacilo vivo a conejos vacunados provoca igualmente, la formación de ambas enzimas defensivas.

4.<sup>a</sup> La formación de fermentos defensivos es más rápida para los prótidos del bacilo que para los de la toxina.

5.<sup>a</sup> La intensidad de la reacción está en razón inversa de la gravedad del proceso.

6.<sup>a</sup> Las pruebas con bacilo vivo demuestran la producción de fermentos defensivos para los substratos de bacilo y toxina; las verificadas con bacilo muerto, sólo para el substrato de bacilo y las realizadas con toxina, únicamente para el substrato de toxina. Estos hechos apoyan la hipótesis de que la toxina se forma por el metabolismo del bacilo en el cultivo o en el medio apropiado del organismo animal.

## Summary

The injection of the live bacillus suspension to untreated rabbits causes the elimination through urine of protease specific for the bacillus and toxin substratum.

The injection of live bacillus suspension to rabbits treated with anatoxin causes also the production of proteases, specific for the bacillus and toxin substratum.

The injection of live bacillus to vaccinated rabbits causes also the formation of both defensive enzymes.

The formation of defensive ferments is quicker for the bacillus protids than for those of the toxine.

The intensity of the reaction stands in inverse ratio to the gravity of the process.

The tests with live bacillus demonstrate the production of defensive ferments for the bacillus and toxin substratum; those effected with dead bacillus, only for bacillus substratum. These facts sustain the hypothesis that the toxin is formed by the bacillus metabolism in the culture or in the appropriate medium in the animal organism.

**Bibliografía**

1. Esta Revista, 3, 109 (1947).
2. Esta Revista, 3, 257 (1947).
3. ANDERSON, J. S., EISNER, M. y JACKSON, E., I. Infect. Dis., 52, 246, 1933.
4. LEFTE, H. M., MACLOD, J. W. y MORRISON A. C. : Lancet, 2, 1.141, 1933.
5. MURRAY J. F. : Brit. J. exp. Path., 16, 384, 1935 y J. Path., 41, 97, 1935.

