3071

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO

DE LA

Etiología de la Rabia

TÉSIS INAUGURAL

PRESENTADA

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ALOIS BACHMANN

GEFE DE TRABAJO

DEL

LABORATORIO DE PATOLOGÍA GENERAL

BUENOS AIRES

—

Imprenta IVALDI & CHECCHI

—

1899

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO

DE LA

Etiología de la Rabia

TÉSIS INAUGURAL

PRESENTADA

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ALOIS BACHMANN

GEFE DE TRABAJO

DEL

LABORATORIO DE PATOLOGÍA GENERAL

BUENOS AIRES

—

Imprenta IVALDI & CHECCHI

—

1899

La Facultad no se hace solidaria de las opiniones manifestadas en esta tésis.

(Art. 162 del Reglamento)

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Decano

DOCTOR D. ENRIQUE E. DEL ARCA

Vice Decano

DOCTOR D. JOSÉ T. BACA.

Académicos Titulares

DOCTOR D. LEOPOLDO MONTES DE OCA.
» » JOSÉ T. BACA.
» » RAFAEL HERRERA VEGAS.
» » JACOB DE TEZANOS PINTO.
» » EUFEMIO UBALLES.
» » JUAN R. FERNANDEZ.
» » ENRIQUE E. DEL ARCA.
» » PEDRO N. ARATA.
» » MANUEL BLANCAS.
» » ROBERTO WERNICKE.
» » PEDRO LAGLEYZE.
» » JOSÉ PENNA.
» » LUIS GÜEMES.
» » ELISEO CANTÓN.
» » GREGORIO N. CHAVES.

Académicos Honorarios

DOCTOR D. ERNESTO ABERG.
» » PABLO MARENGO.
» » EDUARDO WILDE.
» » MARTIN SPUCH.
» » TELÉMACO SUSINI.
» » EDMUNDO NOCARD.
» » EMILIO R. CONI.

Secretario Titular

DOCTOR D. LUIS M. ACUÑA.

Pro-Secretario

» » ZENÓN AGUILAR.

ESCUELA DE MEDICINA

ASIGNATURAS		CATEDRÁTICOS TITULARES
Anatomía descriptiva	*Doctor*	*Juan José Naón*
Anatomía topográfica	»	*Juvencio Z. Arce*
Histología teórico-práctica	»	*Rodolfo de Gainza*
Fisiología general y humana	»	*Pedro J. Coronado*
Patología general y ejercicios clínicos	»	*Roberto Wernicke*
Materia médica y terapéutica	»	*Justiniano Ledesma*
Higiene pública y privada	»	*Melitón G. del Solar*
Patología externa	»	*Obdulio Hernandez*
Patología interna	»	*José Penna*
Anatomía patológica	»	*Telémaco Susini*
Bacteriología	»	*Cárlos Malbrán*
Medicina operatoria	»	*Adalberto Ramaugé*
Enfermedades de mujeres y su clínica	»	*Enrique Bazterrica*
Enfermedades de los niños y su clínica	»	*Manuel Blancas*
Enfermedades de los ojos y su clínica	»	*Pedro Lagleyze*
Enfermedades nerviosas y su clínica	»	*José M. Ramos Mejia*
Enfermedades mentales y su clínica	»	*Domingo Cabred*
Enfermedades génito-urinarias	»	*Federico Texo*
Enfermedades venéreas y dermatología	»	*Baldomero Sommer*
Clínica quirúrgica	*Dres.*	*Julian Aguilar* *Antonio C. Gandolfo* *Alejandro Castro*
Clínica médica	»	*Gregorio N. Chaves* *Abel Ayerza* *Luis Güemes* *Francisco Sicardi*
Laringología, otología, rinología	»	*Eduardo Obejero*
Obstetricia y clínica respectiva	*Doctor*	*Samuel Molina*
Medicina legal	»	*Francisco de Veyga*
Toxicología	»	*Juan B. Señorans*
Química aplicada á la medicina	»	*Pedro N. Arata*
Física médica	»	*Jaime R. Costa*
Zoología médica	»	*Eliseo Cantón*
Botánica médica	»	*Martin Spuch*
Botánica farmacéutica	»	*Adolfo Mujica*
Química médica	»	*Atanasio Quiroga*
Farmacia teórica	»	*Juan A. Boeri*
Farmacia práctica	»	*J. Manuel Irizar*
Obstetricia para alumnas parteras	»	*Juan R. Fernandez*
Odontología	»	*Nicasio Etchepareborda*
Dentistería operatoria	»	*León Pereyra*

ASIGNATURAS		CATEDRÁTICOS SUBSTITUTOS
Anatomía descriptiva	*Doctor*	*Juan D. Piñero*
Anatomía topográfica	»	*Avelino Gutierrez*
Histología teórico-práctica	»	*Samuel de Madrid*
Fisiología general y humana	»	*Horacio G. Piñero*
Patología general y ejercicios clínicos	»	*Gregorio Araoz Alfaro*
Materia médica y terapéutica	*Dres.*	*Enrique E. del Arca* *Angel M. Centeno*
Higiene pública y privada	»	*Enrique Revilla* *Ricardo Schatz*
Patología externa	»	*Pascual Palma* *Daniel J. Cranwell*
Patología interna	*Doctor*	*Marcial V. Quiroga*
Anatomía patológica	»	*José Badia*
Bacteriología		Vacante.
Medicina operatoria	*Dres.*	*Nicolás Repetto* .....
Enfermedades de mujeres y su clínica	»	*Alfredo Lagarde* *José F. Molinari*
Enfermedades de los niños y su clínica	»	*Antonio F. Piñero* *Facundo Larguia*
Enfermedades de los ojos y su clínica	»	*Francisco Barraza* *Teófilo A. Moret*
Enfermedades nerviosas y su clínica	»	*José A. Esteves* *José R. Semprum*
Enfermedades mentales y su clínica	*Doctor*	*Benjamin T. Solari*
Enfermedades génito urinarias		Vacante.
Enfermedades venéreas y dermatología	»	*Maximiliano Aberastury*
Clínica quirúrgica	*Dres.*	*Juan B. Justo* *Diógenes Decoud* *Alejandro Posadas*
Clínica médica	»	*Julio Mendez* *Ignacio Allende* *Patricio Flemming*
Laringología, otología, rinología	»	*Wenceslao Tello* *Eliseo V. Segura*
Obstetricia y su clínica	»	*Luis F. Vila* *Fanor Velarde*
Medicina legal	»	*Domingo S. Cavia* .....
Toxicología	*Doctor*	*Juan Alba Carreras*
Química aplicada á la medicina	»	*Francisco P. Lavalle*
Física médica	»	*Juan J. Galiano*
Zoología médica		Vacante.
Botánica médica	»	*Lucio Durañona*
Botánica farmacéutica		Vacante
Química médica	»	*Francisco B. Reyes*
Farmacia teórica	*Señor*	*Juan A. Dominguez*
Farmacia práctica		*Miguel Puigari*
Obstetricia para alumnas parteras	*Doctor*	*Enrique Pietranera*
Odontología		Vacante.
Dentistería operatoria		Vacante.

PADRINO DE TÉSIS:

ACADÉMICO TITULAR DR. ROBERTO WERNICKE

La rabia, la más antigua de las zoonosis conocidas, descrita por Aristóteles, relacionada por Demócrito con el tétano, estudiada con singular penetración por Celsio y por Dioscorides, que insiste sobre su profilaxia, llamada por Galeno la peor de las enfermedades, da tema á Cœlius Aurelianus, para un erudito trabajo, donde trata con gran maestría los diferentes puntos que con ella se relacionan.

Pero no sólo llama la atención de los hombres de ciencia, sinó que el pavoroso cuadro que el hombre provoca, inspira á los poetas y arranca á Virgilio, Ovidio y Horacio bellas y poéticas páginas, llenando al mismo tiempo á esta enfermedad de prejuicios, que nos llegan hasta hoy, sostenidos por el misterio que rodea á la causa que la produce, la que escapa con singular constancia á los esfuerzos que en la época moderna hacen pléyades de investigadores alucinados por la esperanza de un triunfo difícil, pero brillante.

La importancia del tema, las dificultades del problema, me alucinaron, é instigado por el Dr. Guiraldes, decidí abordarlo y presentarlo como prueba final.

Los resultados que á continuación publíco, son el fruto de seiscientas y tantas observaciones experimentales que he efectuado en el laboratorio del Dr. Wernicke, cuyas sábias lecciones y sanos consejos me han dado una recta idea de la medicina experimental y ofreciéndome expontáneo y generosamente los elementos de su laboratorio, me permiten coronar mis estudios con el presente trabajo; á él y al Dr. Guiraldez mi más profundo agradecimiento.

Desde los albores de la bacteriologia, la rabia fué tema predilecto para aquellos que se dedicaban al estudio de esta bella ciencia.

Gramer, inoculando con exito la saliva de los animales rabiosos, demuestra como *Villemin* para la tuberculosis, la naturaleza infecciosa de la enfermedad. Esta idea fué luego confirmada por *Brechet* y *Magendie*, quienes en Francia se elevan contra la opinion de la espontaneidad de la rabia, idea que tomaba, por esa época, cada dia mas vuelo en ese país. Demuestras que no solo se trasmite de perro á perro, sinó que también es posible inocular con exito á los herbívoros.

Rossi, médico italiano, fundándose en las ideas de *Warner*, que colocaba el asiento de la hidrofobia, en el sistema nervioso, trata de provocarla, inoculando trozos de nervios; pero no consigue su fin, porque

el punto de inoculación supuraba siempre, eliminando el ajente destinado á producir la enfermedad.

Por fin en 1881 *Pasteur*, mas feliz que *Galtier* de Lyon, que se ocupa del mismo tema el año anterior, produce la rabia inoculando el bulbo de los animales rabiosos.

Quedaba demostrado así, despues de una serie de largos trabajos, la infecciosidad de la rabia y el asiento de su virus, faltaba encontrar el ajente patógeno que la causaba.

Pasteur en 1881 inoculando á conejos la saliva de un niño muerto de hidrofobia, les mata en 24 á 28 horas; aisla de la sangre de ellos un microorganismo y comprueba, bien pronto, que no es el ajente apatógeno de la rabia, sinó un bacterio que frecuentemente se encuentra en la cavidad bucal, llamado poco despues Micrococcus Pasteur por *Sternberg*.

En 1884 *Pasteur* y *Gibier* creen ver en la presencia de pequeñas granulaciones, encontradas en la sustancia nerviosa de los animales rabiosos, la causa de la enfermedad.

El primero de estos autores, abandonando bien pronto, el terreno puramente científico de la parasitologia de esta enfermedad, nos dió, por intermedio de sus geniales investigaciones, el ejemplo mas completo de la atenuación de un virus por el calor y el tiempo, para aplicarle, con completo exito, como tratamiento preventivo de la infección que provoca.

Herman Fol (1885-1886) observa en cortes de médula lísica, coloreados por el método de *Weigert*, cor-

púrculos de 0,3 micromilímetros de diámetro, á los que considera como los microbios de la rabia.

Hace ensayos de cultivos, en jugo de cerebro mesclado con agua esterilizada, y obtiene un coco que enturbia el medio al cabo de 24 horas, formando sedimento al cuarto dia, que inoculado á los animales reproduce á veces la hidrofobia, despues de una incubación mas larga que la que se provocaría con la infección de la médula que sirvió para obtener el cultivo.

Este trabajo no ha sido confirmado despues, muy al contrario, algunos autores usando el mismo método de tinción que sirvió á *Fol* no han podido ver los microorganismos por él señalados.

Dowdeswell encuentra un coco difícilmente coloreable, alojado en la médula, bulbo y sangre. Limita este autor sus investigaciones á los métodos tintoreos, sin ensayar cultivos, por lo cual no puede afirmar de ningun modo, que lo por él visto, sean microorganismos ó granulaciones de cualquier otra naturaleza.

Rivolta, empleando complicados métodos de coloración, consigue ver en los órganos de los animales rabiosos, especialmente en el sistema nervioso central, bacilos que aparecen como cocos, agrupados, formando cortas cadenas, constituídas por la reunión de dos á cinco elementos. Les llama Coccobacterium Lyssae.

Desgraciadamente empleando el mismo método, encuentra formaciones semejantes en la tuberculosis y

en el cancer, hecho que basta para quitar toda importancia á lo observado en la rabia.

Babes aisla del bulbo de los conejos rabiosos, un coco, que mide 0,5 á 0,8 micromilímetros, cuyas colonias en agar son de color gris á veces amarillas, que liquida lentamente la gelatina, queda coloreado por el método de *Gram*. Estos cultivos reproducen á veces la enfermedad.

Mottet y Protopopow encuentran un bacilo, en el liquido cefalo raquideo de un lobo muerto de rabia, al que consideran al principio de sus investigaciones como el causante de la enfermedad; pero constatan despues que solo se trata de un bacterio que produce una enfermedad, de marcha clínica semejante á la rabia paralítica, peró diferente por sus lesiones anatomo-patológicas, pues estas responden á las de una septicemia, encontrándose abundantemente el bacilo en la sangre, la que es virulenta.

Bareggi consigue aislar de la médula, sangre, riñones y humor acuoso, de los animales hidrofóbicos un bacilo, microorganismo que segun este autor se encuentra en la sangre durante el período de incubación de la enfermedad; tiempo en el cual es eficaz el tratamiento preventivo de *Pasteur*, no siéndolo una vez que desaparece de los vasos.

Bareggi no ha podido jamas reproducir la rabia por la inoculacion de su microbio. Este no es sinó el producto de la mala técnica y del poco control con que ha procedido, confesado esto por él mismo y comprobado por *Bordoni Uffreduzzi.*

En el año 1896 se producen tres trabajos sobre la etiologia de la rabia.

Grigoriew aisla cuatro variedades de microorganismos en esta enfermedad, dos para el virus fijo y otras dos para la rabia de la calle.

En esta última encuentra un microorganismo que crece rápidamente en agar dando cultivos de color gris, que liquida lentamente la gelatina, enturbia el caldo, formando despues un depósito en copas y otro que se desarolla lentamente dando cultivos amarillos.

En el virus fijo consigue aislar cuerpos elípticos que crecen rápidamente en agar, no liquidan la gelatina, enturbian el caldo y dan cultivos amarillos en papas; ademas obtiene corpúsculos redondos que crecen lentamente en agar no desarollándose en papas.

Las inoculaciones dan un cuadro idéntico al de una septicemia hemorrágica, ninguno de estos microorganismos reproducen la rabia.

Memmo despues de una serie de infructuosos trabajos, obtiene una levadura, que la encuentra en el sistema nervioso central y saliva de perros y conejos rabiosos, á la que considera como el ajente ocasional de la rabia.

Crece este microorganismo bastante bien en todos los medios de cultivo, salvo en la leche.

Las inoculaciones peritoneales efectuadas con cultivo puro en la cavidad peritoneal de chanchitos, les mata el cabo de 11 á 12 días, despues de presentar síntomas de paresia.

Las inoculaciones en los conejos, á pesar de depositarse el cultivo, debajo de la dura-madre, no siempre dan resultado, solo algunos de los animales así inoculados mueren, á los 7 ú 8 días, despues de uno ó dos de enfermedad, durante la cual tienen síntomas de rabia paralítica.

Los perros mueren á los 37 ó 68 días de la inoculación, despues de una semana de enfermedad.

En las autopsias no encuentran nunca lesiones anatomo-patológicas.

Obtiene á menudo cultivos del microorganismo inoculado, haciendo siembras con el sistema nervioso, de la sangre no le aisla nunca.

A pesar de que los cultivos parecen indicar la virulencia del sistema nervioso central, *Memmo* no consigue obtener series de conejos, inoculando el bulbo de los muertos ó animales sanos. Puede obtener serie de perros, pero la sustancia nerviosa de los perros muertos por la enfermedad experimental no es virulenta para los conejos.

El solo hecho de no poder trasmitir la enfermedad de conejo á conejo, hace creer que la infección que con sus cultivos provoca *Memmo* no es rabia, puesto que en la historia de la hidrofobia la obtención de series de conejos es un hecho clásico, que sirve en todos los laboratorios para perpetuar el virus.

Braschettini aisla, empleando medios de cultivos confeccionados con lecitina y cerebrina, un bacilo que se agrupa como el de *Loefler*, no desarrollándose en los medios ordinarios, muere á los diez dias en los

cultivos. Inoculando debajo de la dura madre á conejos les mata en 3 á 8 dias, despues de presentar síntomas de paralisis, el bulbo de estos animales es virulento. *Braschettini* limita su esperimentación á esta especie de animales.

Grigoriew vuelve á ocuparse el 98 de la etiología de la rabia, sosteniendo que el agente patógeno de esta enfermedad es un protozoario.

Para examinar este parásito, toma emulsión de bulbo lísico y le inocula en la cámara anterior de perros. Examina el humor acuoso, al cabo de dos ó tres días, y encuentra al lado de glóbulos blancos y detritus, cuerpos protoplasmáticos, de forma y tamaño diferente, dotados de movimientos amibóideos. Están constituídos por una masa mucosa de estructura reticular en el centro, hialinos en la perifería; su tamaño oscila entre 2 á 4 micromilímetros, siendo posible observar en algunos un nucleo de 0.5 á 1 milésimo de diámetro.

Grigoriew no ha podido verlos en el tejido nervioso, ni ha efectuado cultivos, de modo pues que este autor tiene muy pocos elementos de prueba para afirmar, que el protozoario observado por él sea el causante de la rabia.

En la República Argentina, *Darnet* en 1889, en su notable y erudita tesis se ocupa de la rabia, de su parasito solo accidentalmente. Esforzándose en probar, que los bacterios que comunmente se encuentran en la saliva, no son los ajentes de la hidrofobia, sinó que solo producen septicemias. Sobre todo el

Micrococus Pasteuri (*Pneumococcus-Fraenkel*). Consigue esto y comprueba además que la virulencia de este microorganismo se exalta en la cavidad bucal de los animales rabiosos. *Darnet* se ocupa luego del estudio esperimental de la rabia, siendo á este respecto, su trabajo el más completo que en su época se publicara.

En Mayo de 1898, tuve ocasión de practicar la autopsia de un perro rabioso, é inocular con su bulbo dos conejos; nació desde entónces en mí la idea de estudiar la bacteriología de esta enfermedad.

Ante todo, traté de comprobar si en las preparaciones de emulsión de bulbo se veían ó no microorganismos.

La coloración que entónces usé, después de algunos ensayos, fué la siguiente: Ziehl en caliente, decoloración con aceite de anilina, al que agregaba algunas gotas de una solución saturada en alcohol de fluorescina, eliminación del decolorante en xylol, bálsamo.

Después de revisar numerosas preparaciones, comprobé que en ellas quedaban coloreadas unas pequeñas granulaciones de 0.5 micromilímetros de espesor.

Traté de obtener dobles coloraciones, con Ziehl y azul de metilo, pero el fondo apenas se teñía con este último color. Para obviar este inconveniente, hice un colorante semejante á Ziehl, solo que en vez de agregar al agua fenicada, fuchsina, le añadía violeta de metilo. Seguía el mismo procedimiento de tinción y coloreaba el fondo con una solución acuosa diluida de fuchsina.

Obtenía preparaciones en las cuales los pequeños cuerpos esféricos se veían violeta sobre un fondo ligeramente rosado.

Temía que estos cuerpos fuesen estraños á la emulción productos de impuresa; para eliminar esta posibilidad, tomé pequeñas porciones de médula ó de bulbo, de sus partes centrales, con hilo de platino esterilizado, y les apretaba entre dos cubres, obligándoles á estenderse en delgada lámina sobre la superficie del vidrio.

Siguiendo los procedimientos tintóreos antes indicados, obtuve idénticos resultados, viendo además de vez en cuando, dos de los pequeños corpúsculos reunidos simulando diplococos.

Estos cuerpos pudieran tener origen en la brusca disgregación del tejido, sobre todo de la mielina. Ya el pequeño número que de ellos existen en mis preparaciones no corroboraba esta opinión, el hecho de no teñirse con el ácido ósmico no acentuaba esta idea y su ausencia, en las preparaciones de médula sana, obtenidas siguiendo la misma técnica, la eliminaba por completo.

Llegaba de esta manera á las siguientes conclusiones: 1° En las preparaciones de disociación de médula rábica existen cuerpos esféricos, poco numerosos reunidos á veces de á dos, capaces de adquirir una tinción diferencial; 2° En las preparaciones de médula sana no se les encuentra.

Dada la forma y disposición de estos cuerpos, creí que fuesen micrococos.

Para tratar de confirmar esta idea hice cultivos, y viendo cuan pocos eran los cocos que en mis preparaciones existían, resolví infestar los balones con grandes cantidades de emulsión.

Como medio de cultivo, adopté al iniciar mis investigaciones, caldo de cerebro de carnero, neutralizado y no peptonizado, hoy uso esclusivamente caldo de carne peptonizado, que me dá mejores resultados.

Fuí gratamente sorprendido, cuando en algunos de los balones, infectados con emulsión lísica, mantenido durante 24 á 48 horas en la estufa á 37° encontré pequeños diplococos, cuyos caractéres morfológicos y tintóreos correspondían al de los cuerpos esféricos que en las preparaciones veía.

La obtención de este microorganismo no es del todo fácil, puesto que solo aparecía, en un reducido número de los balones infectados, quedando los demás estériles. Pero su transplantación á los diferentes medios de cultivo es muy fácil.

En estos ensayos, debía eliminar una gran causa

de error; la infección de la emulsión por los bacterios del aire.

Me he valido para ello de varios métodos. Sacaba la médula lo más rápidamente posible, cauterizando su superficie con una varilla de vidrio calentada al rojo y aun así obtenía el mismo microorganismo.

Por fin hice la emulsión en el mismo balón que debía servirme para el cultivo. Lo que efectuaba del siguiente modo: Colocaba en balones de *Erlenmeyer* una capa de arena gruesa, previamente lavada y mantenida durante dos horas á 200° de temperatura; á estas vasijas les agregaba cantidades variables, según el tamaño de ellas, de caldo esterilizado. Sometía este heterogéneo conjunto durante 15 á 20 minutos en el autoclave á 130°.

Seguro, pues, que en estos balones no quedaban vivos microorganismos ni sus esporos, introducía en ellos pequeños trozos de bulbo ó médula, cuya superficie había sido previamente cauterizado; agitaba fuertemente el balón y obtenía la disociación de gran parte de la sustancia nerviosa, les colocaba en la estufa á 37° y al cabo de 24 á 48 horas encontraba en ellos cocos.

Estudiando esto me convencí que no era ninguno de los que comunmente se describen como perteneciente á la flora del aire.

Me faltaba averiguar sino existían en la atmósfera del laboratorio algún bacterio no descrito. Para ello dejé expuesto durante cinco á diez minutos placas de agar, en el cuarto en el cual hacía mis

trabajos, que luego colocaba en la estufa. De estas placas aislé el micrococus y bacilus leuteus, el aurantiacus, latericium, rosa hefe, algunas veces el candicans, muy á menudo el mycoides, raramente aparecía el mesentérico y algunos mohos, pero nunca alguno cuyos caractéres respondieran á los del microorganismo que aislaba de los balones infectados con emulsión de bulbo rabioso.

Probaba de este modo que el microco que en mis balones se cultivaba no provenía del aire.

Sin embargo, con ello no demostraba relación de causa ó efecto con la rabia. Los animales rabiosos tienen una larga agonía, durante la cual, merced á la disminución gradual y creciente de las funciones orgánicas, pueden muy bien introducirse en el organismo vulgares saprofitos y bacilos patógenos comunes y producir una infección secundaria.

Faltábame demostrar que el coco que aislaba no debía su orígen á esta última complicación.

Para salir de dudas, maté algunos conejos, al iniciarse la enfermedad, es decir dos ó tres días antes de morirse los animales testigos. Hice cultivos siguiendo los mismos procedimientos antes mencionados y obtuve el mismo microorganismo. Por otra parte si hubiesen infecciones secundarias, obtendría á veces cultivos de la sangre y esta se ha manifestado siempre estéril.

Después de eliminada la posibilidad de que el microorganismo aislado tuviese su orígen en impurezas caídas del aire ó en una intección secundaria,

ensayé la experimentación en los animales, no sin cierto temor de fracaso, pues el micrococo por mí obtenido, tiene caractéres semejantes á los estafilococos piogenos. Pero los resultados de las inoculaciones me convencieron bien pronto que con ellos no tenía nada de común en sus propiedades patogénicas. Nunca produce lesiones locales, cualesquiera que sea el punto del organismo en el cual se le deposite, ni por grande que sea la cantidad inoculada. En cambio los animales mueren después de presentar síntomas de rabia paralítica, que más adelante detallaré, y en la autopsia no se encuentran jamás lesiones anatomo-patológicas, y es siempre posible aislar del sistema nervioso central el microorganismo inoculado.

Los cultivos filtrados son igualmente patógenos, demostrando que este micrococo debe su acción á productos solubles que segrega, que pueden obtenerse *in vitro*.

Por fin, para probar que solo en la rabia existe este coco, hice cultivos con médula de animales sanos ó muertos de otra enfermedad y aun de los inoculados con toxina, y en ningun caso pude aislar el mismo microorganismo.

Este, lo obtuve por primera vez como ya ha podido verse, de la sustancia nerviosa de conejos inoculados con virus de rabia de la calle. Después lo he obtenido de animales muertos con virus fijo (conejos, chanchitos, perros y gatos), además le he aislado de la médula de conejos de otras tres series,

de virus de rabia de la calle, obtenidas por la inoculación de bulbo de perros, muerto uno, en este laboratorio, y los demás en el Instituto Pasteur de esta ciudad.

Me ha sido posible también aislarle de la saliva de los conejos hidrofóbicos y una vez de las cápsulas soprarenales.

Durante el curso de mis investigaciones, para obtener material, he recurrido muy á menudo al Instituto Pasteur, de cuyo personal los Dres. Davel, Naveiro y el Sr. Ramón Aranguren, he recibido todo género de atentas y amables atenciones, á todos ellos mi más sincero agradecimiento.

El micrococo que he aislado en los animales rabiosos, tienen 0.4 á 0.5 milésimos de milímetro de diámetro; se presenta por regla general en agrupaciones de dos elementos, que por lo comun se corresponden por una cara plana, suele formar, raras veces, pequeñas agrupaciones; no es movible. Se tiñe fácilmente con todos los colores de anilina, quedando debilmente coloreada por el método de *Gram*; queda fuertemente teñido cuando se le colorea en caliente con líquido de *Ziehl* y se quita el exceso de colorante con una solución al 10 °/₀ de anilina en alcohol.

Este microorganismo es semejante, como ya lo dije en la introducción, á los estofilococos piógenos, por el aspecto de sus cultivos, diferenciándose por completo por su papel patogénico; pero además de esto existe un facil y rápido diagnóstico diferencial entre ellos. Este es el enérgico poder aglutinante

que tiene el suero de sangre de conejo sano, para el microco que he aislado. En diluciones de uno por ciento la aglutinación es completa á los 20 minutos y en la proporción de una en quinientos es ya muy manifiesta á las dos horas; en cambio con el estafilococo piógeno aureo ni en la proporción de uno por diez tiene poder aglutinante este suero.

Cultivos. — En *caldo* de carne peptonizada, crece rápidamente en la estufa á 37° enturbiándolo á las 24 ó 48 horas, formando después sedimento, esto es mucoso adherente, se estira en filamentos cuando se sacude el balón. A pesar del sedimento el caldo queda turbio; á veces suele formarse una delicada película que es irizada.

Estos cultivos tienen un olor ligeramente aromático, que muy pronto aparece en ellos, siendo más marcado en los caldos á los cuales se les agrega suero ascítico.

No he observado nunca reacción del indol.

En caldos con sacarosa y glucosa, ó lactosa al 2 °/₀ no se observa señales de fermentación.

Cultivos en gelatina. — Este medio es fluidificado. El poder licuante de este micrococo es sumamente variable. Cultivos hay en los cuales la fluidificación principia á las 24 horas, siendo ya completa á las 48, tiene entónces el aspecto de un tubo cilíndrico de gelatina licuada, muy turbia, con depósito en el fondo, sin película en la superficie; los bordes del tubo parecen cortados por sacabocados, son lisos y netos. Con el tiempo la liquefacción

aumenta, aclarándose mucho la gelatina en sus capas superiores, aumentando el depósito en el fondo del tubo.

No todas las razas de este microorganismo liquidan tan rápidamente la gelatina; algunas lo hacen muy lentamente y sólo en la superficie, y eso después de 7 á 8 días. Aparece el cultivo deprimido superficialmente, punto en la cual hay una capa de gelatina líquida ó resblandecida y de donde parte el cultivo del canal de picadura, homogéneo, blanco, cilíndrico en su parte superior, constituído por colonias aisladas, pequeñas esféricos en su porción más inferior; reunidas entre sí por una zona de transición.

En grados más avanzados de fluidificación, aparece el cultivo en forma de cúpula invertida, luego simulando un embudo más ó menos alargado, hasta llegar insensiblemente á la forma en dedo de guante.

Si es variable la forma que toma el tubo de fluidificación no lo es menos el aspecto que presenta la gelatina líquida. En aquellos cultivos en que la gelatina es rápidamente liquidada, esta aparece siempre muy turbia, finamente granulosa, en otros casos el cultivo es gruesamente granuloso quedando la gelatina intermedio clara, este estado suele exagerarse tanto que sólo se ven en el trayecto del cultivo, una muy pequeña série de gránulos y un depósito más ó menos abundante en el fondo, quedando transparente el medio, por lo general semi-licuado en estos casos.

Cuando la fluidificación es lenta, suele formarse en la parte superior del cultivo una burbuja de aire.

Por cultivos sucesivos, sobre todo haciendo séries en agar, es posible de una forma de debil poder fluidificante, obtener razas que liquidan rápidamente la gelatina.

Estos cultivos muy á menudo son amarillos, demostrando que este microorganismo tiene acción cromógeno, cuyo detalle daré al hablar de las colonias en agar.

En placa de gelatina el aspecto que presenta este micrococo es muy variable, depende la forma que toman, como es lógico pensar, del poder fluidificante que tenga la raza en estudio.

En las que liquidan poco se ven las colonias, al cabo de 48 horas, como puntos redondos, blancos. Examinados con pequeño aumento se ven finamente granulosas, oscuras en el centro, claras en la periferia, generalmente con núcleo, de bordes regulares. En los días subsiguientes la colonia, liquidando lentamente la gelatina á su alrededor, no se desagrega y cae suavemente al fondo de un espacio lleno de gelatina semi-fluida.

Las razas que liquidan rápidamente, tienen al principio, idéntico aspecto á las anteriores; pero muy luego, debido á la rápida y completa fluidificación del medio, las colonias se desagregan. Examinadas en este momento con un aumento de 50 diámetros tienen el aspecto de un mosáico, formado por campos

oscuros, restos de la colonia primitiva, separados por líneas claras de gelatina fluida.

En los días siguientes toda la colonia se desorganiza. Aun á simple vista, cuando ella es grande, toma el aspecto de un corte transversal de tallo joven; una gran zona central oscura, dividida en fragmentos irregulares, un anillo periférico oscuro, roto en muchas partes, arqueándose los segmentos así constituídos hácia afuera, y una parte intermedia, ocupada por una trabazón irregular, restos del cultivo primitivo, nadando en medio de la gelatina fluidificada, más ó menos clara.

Por fin, aún este aspecto desaparece, quedando un depósito granuloso en el fondo de la gelatina fluida, si el número de colonias es abundante toda la placa se liquida y el medio se enturbia rápidamente.

En la gelatina glucosada tiene un desarrollo semejante, sin formación de burbujas de gas.

En *agar inclinado* se forma á lo largo de la estria una capa brillante, mucosa, adherente que no alcanza nunca las paredes del tubo, quedando limitado su desarrollo, al cabo de cierto tiempo. Este cultivo en las primeras 24 horas, cuando aún no es muy espeso, es irisado y tiene reflejos violeta. Los bordes generalmente son regulares, otras veces ligeramente ondulados, salvo casos especiales en que los cultivos afectan aspecto diferente y del cual luego me ocuparé.

El agua de sedimentación es turbia, tiene sedi-

mento que aumenta con la edad del cultivo, hasta llegar á un cierto grado, para quedar luego estacionario; película no he observado nunca.

El olor que despiden estos cultivos es el mismo que produce en caldo, ligeramente aromático.

Una interesante propiedad de este microbio es su poder cromógeno, sumamente variable, tanto que al principio de mis trabajos me creí en presencia, por lo menos, de dos microorganismos.

El color de las colonias varia al infinito, desde el blanco al amarillo rojizo, pasando por el amarillo limón y amarillo anaranjado.

El momento de aparición de la sustancia colorante es variable, en ciertos cultivos al cabo de 24 horas se le nota, en otros aparece más tarde, estendiéndose por igual en toda la superficie ó bien invadiéndole por los bordes, sobre todo por aquel que limita con el agua de sedimentación, ó por el centro del cultivo, punto en el cual se forma una estria amarilla, para estenderse poco á poco, á toda la colonia.

Muy á menudo existen, en ella, partes más coloreadas, las que generalmente se encuentran cerca de los bordes, bajo forma de una delgada línea que los contornea, de tinte más oscuro que el resto.

Cultivos hay que nunca adquieren poder cromógeno, quedando blancos siempre, otros en que solo aparece en ciertos puntos de su superficie.

Con estos últimos es posible obtener razas de un fuerte poder cromógeno, haciendo cultivos en serie,

usando para sembrar material de las partes más coloreadas de cada cultivo.

Puede también conseguirse lo inverso sembrando tubos con cultivos muy viejos.

Valiéndose de estos artificios, puede obtenerse una serie de tubos con todos los colores desde el blanco hasta el amarillo rojizo.

De la identidad de todos ellos, me he convencido por las culturas en otros medios y sobre todo por la experimentación.

Los cultivos en *placa* presentan caracteres sumamente interesantes, presentándose las colonias bajo aspecto y forma diferente, segun el punto que ocupen.

Las superficiales son redondas, brillantes algo elevadas, sobre el medio del cultivo; pero planas, de bordes regulares, algunas presentan una depreción en un punto de su superficie, parecen umbilicadas.

El color que tienen como es de suponer, varia mucho.

En las más, la coloración aparece recien al cabo de 48 horas en la estufa á 37°, no tiene una distribución uniforme, sino que se presenta bajo la forma de estrias concéntricas, de tinte diferente. Algunas colonias hay de poder cromógeno tan debil, que recien despues de 7 ú 8 dias, se ven, en ellas, un anillo amarillo, mas ó menos estenso, quedando el resto blanco, otras veces la coloración aparece solo en un sector del cultivo.

En las colonias profundas hay dos variedades, las que se encuentran rodeadas por el agar por todos

lados y 2° las que tienen una cara aplicada sobre el fondo de la placa.

Las primeras se presentan bajo forma de pequeños puntos blancos irregulares; son las menos interesantes.

Las segundas son generalmente redondas, de bordes regulares, notándose en ellas aun á simple vista un núcleo, cuyo color oscuro contrasta con el resto del cultivo, que es claro y transparente. En estas colonias probablemente á causa de su poco espesor, se ve fácilmente el tinte violeta metálico que toman al manifestarse la iridisación.

Presentan estas colonias, muy á menudo, capas concéntricas, que se distinguen por el tinte más ó menos oscuro que tienen las unas respecto á las otras. Nunca son amarillas, el poder cromógeno de este microorganismo, se efectúa solo en presencia del aire.

Examinadas todas estas diferentes colonias, con pequeño aumento, vemos á las superficiales, finamente granulosas, símulando una delicada filigrana, muy oscuras en el centro, casi hialinas en la periferia. Con la edad de la colonia, disminuye este círculo claro, aumentando de tamaño la parte oscura. Los bordes de la colonia, constituídos igualmente por granulaciones, son ligeramente irregulares.

Casi todas tienen núcleo situado ya sea en el centro ó hacia un lado. En el primer caso es redondo, en el segundo alargado y tiene la forma de un ovoide plano en un estremo, al cual aparece agregada una pequeña calota separada del resto del núcleo por

una linea curva y oscura. El conjunto tiene la forma de una mitra vista de lado y desde abajo, aspecto que por otra parte varia mucho. Los bordes del núcleo, situado exéntricamente, suelen tener pequeños nódulos irregulares y de tamaño variable que le dan un raro aspecto.

La situación exéntrica de éste parece indicar el primer paso hacia la umbilicación de la colonia.

El lado hacia el cual se encuentra dirijida la parte redonda de él se aplana, y cuanto más periférica es su situación, tanto más deforme se presenta la colonia. Llega un momento en que los bordes de ella se invaginan y se dirigen formando un ángulo agudo, hacia el encuentro del núcleo, con el cual á menudo se ponen en contacto, no siendo esta la forma mas avanzada que se observa, pues á veces parte de éste se encuentra por fuera de la colonia, cruzándose los bordes de ésta por encima de él, en ángulo agudo.

Creo que estas formas no son estados diferentes de una misma colonia en evolución, sino aspecto definitivos de ella, cuyo crecimiento sigue una marcha anómala, de causa desconocida.

En algunas parece que el núcleo, es una colonia profunda, situada muy superficialmente y que al invadir la superficie del agar lo hace irregularmente.

Las colonias profundas de la primera variedad que he mencionado se ven como cuerpos ovoideos irre-

gulares, ó de lente viconvexa, oscuros, no presentan mayor importancia.

Las de la segunda variedad son muy interesantes. Son finamente granulosos, de bordes ligeramente irregulares.

Tienen núcleo á veces regular de límites precisos, en otros casos formado por una masa de apariencia amorfa y de límites sumamentes difusos.

Cerca del borde de la colonia suele existir un anillo más ó menos estenso, más oscuro que el resto de ella.

Rodeando al núcleo suelen encontrarse, pequeños grupos y mazas de granulaciones, que parecen constituídas por una aglomeración mayor de las que constituyen la colonia; ocupando una zona más ó menos estensa. Estos cuerpos son más numerosos y grandes en el centro, más pequeños y raros hacia la periferia, á una cierta distancia de la cual acaban por desaparecer.

Tambien entre estas colonias encontramos algunas umbilicadas.

Estas formas que acabo de describir son las más comunes, existen otras, raras tanto por su frecuencia como por su estructura.

Preséntanse en los cultivos en agar inclinado, no ya bajo la forma de una estria de bordes regulares sino que éstas son arborizados y dicotomizados, nada semejantes á las finas ramificaciones del racemosus, pues ellas son gruesas, espesas, de bordes irregulares,

ondulados, dando al conjunto del cultivo un aspecto semejante al de una hoja de helecho.

La coloración de estas colonias no es nunca de un tinte tan subido como el que suele observarse en la forma comun.

Esta forma atípica deriva de la comun, por una serie de transiciones que es facil observar, desde la ligera ondulación de los bordes hasta la más complicada de las arborizaciones. Evolución que es facil sorprender en todos sus detalles en los cultivos en placa.

Principia por aparecer en la colonia típica, más grande la pequeña zona hialina que habitualmente la limita, zona que se desarolla dando lugar á la formación de ligeros lóbulos, tomando el cultivo un aspecto ligeramente irregular. A medida que la porción periférica aumenta, la parte central y oscura, sufre un proceso de desorganización. La colonia se presenta constituída entónces, por una porción central dividida en campos oscuros, separada entre sí por líneas más ó menos claras y por una gran zona periférica hialina de bordes irregulares.

La desorganización central aumenta, los campos oscuros se hacen más pequeños y parecen emigrar hacia la periféria á lo largo de lineas hialinas, que irradian del centro. Los bordes son completamente irregulares, lobulados, hendidos, arborizados en una palabra.

El aspecto final de la colonia es el siguiente: una pequeña porción central y oscura y una periférica

arborescente, oscura y granulosa, separadas por una gran zona hialina, en la cual se encuentran colocados á guisa de montículos, pequeñas porciones oscuras no disociadas aún.

El color de estas colonias es blanco, adquiriendo los bordes, al cabo de algunos días una coloración amarilla más ó menos subida.

De la identidad de estas dos formas de cultivo me he convencido por las inoculaciones.

En agar hecho con caldo de cerebro el desarollo es lento, á lo largo de la estria aparecen colonias blanco perla, irisadas que á veces confluyen. El poder cromógeno en este medio es debil. Es un mal medio de cultivo.

En *papas* con acidez natural, se desarolla rápidamente á 37°, formando una capa mucosa, espesa, brillante, de bordes regulares. Es en este medio en donde las formas cromógenas adquieren su mayor intensidad, llegando á veces á conseguirse cultivos de color amarillo ocre muy oscuro; aun las formas que en agar son blancas, adquieren un lijero tinte amarillo en papa.

La *leche* es generalmente coagulada, quedando este medio francamente ácido. La rapidez con que es coagulada varia mucho segun la raza en estudio. Algunas hay que lo hacen ya á las 24 horas, otras que recien coagulan á los 7 ú 8 días.

La intensidad de la coagulación es tambien variable, en ciertos casos es tan completa que la leche forma un bloc sólido, semejante al que se obtiene con al-

gunas variedades de coli, otras veces más bien parece una simple precipitación en copos de la caseina.

Como debe suponerse ya, el agar de *Würtz* se pone rojo por el cultivo de este microorganismo, quedando ligeramente teñida la colonia, la rapidez con que aparece la reacción ácida es variable.

Inoculaciones.—El microorganismo que he conseguido aislar del sistema nervioso de los animales rabiosos, es patógeno para los chanchitos, aun á dosis muy pequeñas. Cantidades de 0,05 gr. les mata seguramente, en un lapso de tiempo variable, segun el peso de los animales. Los chanchitos adultos de 500 á 600 gr. inoculados en los músculos de la nuca, con cultivo de 24 horas de la 3ª generación, mueren entre los 9 y 14 días, sin que la dosis de virus inoculado influya en lo más mínimo en la duración del período de incubación.

Los animales cuyo peso oscila entre 300 ó 500 gr. mueren entre 5 y 9 días, los muy jóvenes que pesan menos de 300 gr. terminan al cuarto día y algunos pocos al tercer día.

Los chanchitos presentan paresia del tren posterior, más ó menos marcada, quedando poco tiempo despues, sin poderse levantar, en decúbito esternal,

se postran, quedan tendidos en decubito costal, tienen contracciones de los miembros y de los músculos de la nuca y mueren.

En la autopsia no se encuentra nunca ni la menor lesión en el punto de inoculación. Se observa siempre gran congestión meníngea, todos los vasos de la pia madre, se encuentran inyectados, viéndose facilmente hasta las más finas ramificaciones. Este estado no pasa jamas á la inflamación, no se ven exudados en las membranas de envoltura, ellas conservan su brillo habitual. La superficie del cerebro tiene casi siempre un ligero tinte rosado.

En el torax y abdomen no se encuentran alteraciones, ni en los órganos, ni en las cavidades serosas no hay tampoco derrame de líquido en estas últimas.

La sangre es siempre esteril, en cambio el sistema nervioso es virulento, dando resultados positivos los cultivos que con él se efectuan.

Para los conejos es igualmente patógeno, este microorganismo. Cualquiera que sea la via elejida para introducirle en el organismo, ellos mueren despues de presentar síntomas generales, sin tener la más mínima reacción local.

Los conejos inoculados debajo de la dura madre, en dosis que han variado entre 0,5 gr. y 0,01 gr. mueren entre el 6° y 10° dia, algunos, muy pocos solo recien al 13° dia.

Los síntomas que presentan son los siguientes: principian por estar tristes, arinconados en la jaula, tienen movimientos coreiformes de la cabeza, sobre

todo cuando se les obliga á moverse, poco después cuando caminan caen á veces, sobre un costado, notándose paresia del tren posterior, la que se transforma, en algunos casos, en parálisis absoluta, de modo que los conejos se encuentran imposibilitados para hacer uso de los miembros posteriores. Pueden trasladarse de un punto á otro haciendo movimientos de reptación, ayudados por las patas delanteras. El animal al cabo de poco tiempo queda postrado no manifestando su vida sino por los movimientos respiratorios; tiene contracciones de los miembros, coloca la cabeza en opistótonos y muere. En muchos de ellos la evolución es más rápida, la parálisis no tiene tiempo para manifestarse, sólo se nota paresia muy marcada y ya el animal cae, queda en decúbito costal, siguiendo luego la misma serie de síntomas ya mencionados.

En inyección endovenosa la duración de la incubación es algo mayor, los animales mueren de los 10 á los 13 días, no teniendo influencia en la duración de la enfermedad las cantidades inoculadas que han variado entre 0.15 y 1 gramo.

Lo mismo que los conejos inoculados por la via venosa con virus fijo, suelen tener, los que sufren inyecciones de cultivo endovenoso, parálisis ó más bien paresia muy marcada de los cuatro miembros á la vez. Salvo este caso particular la enfermedad se desarolla como en las inoculaciones subdurales.

La inyección peritoneal es igualmente mortal, sólo he efectuado pocas inoculaciones por esta vía, em-

pleando siempre 1 gr. de cultivo, los animales han muerto á los 8 días.

En las inoculaciones subcutáneas la duración de la incubación es mucho mayor, mueren los conejos generalmente después de un mes, mientras que los testigos inoculados debajo de la dura-madre mueren el 6° y 9° día.

Los síntomas que presentan son semejantes á los ya descritos.

Los cultivos viejos matan en lapso de tiempo mayor que los jóvenes, entre 13 días y 1 mes; idéntica cosa pasa con aquellos cultivos que han sufrido muchas generaciones, por lo general más de 7.

En la autopsia de los conejos no se encuentra nunca lesiones locales, salvo el caso, que en las inoculaciones subdurales la aguja haya penetrado en el cerebro; punto que se encuentra rodeada por una aureola de congestión y esto sólo cuando mueren al 6° ó 7° día; después aun esta desaparece. No se observan nunca exudados en las meninges, ellas se encuentran siempre congestionadas, siendo esta muy notable á veces, llegando á producirse pequeñas hemorragias, sobre todo en la región del cuarto ventrículo. Este aspecto es siempre el mismo, cualquiera que haya sido el punto de inoculación del virus.

En el torax no hay lesiones ni en las serosas, ni en los órganos, lo mismo pasa en el abdómen, donde suele encontrarse enormemente distendida la vejiga.

Los cultivos efectuados con la sangre quedan siempre estériles, las del sistema nervioso central repro-

ducen siempre el microorganismo inoculado. De modo pues que el sistema nervioso es virulento, hecho que es confirmado por las inoculaciones.

En efecto, con el bulbo de estos conejos ó chanchitos pueden, lo mismo que para el virus fijo, establecerse séries de animales, inoculándole á conejos ó chanchitos sanos.

Estas séries pueden seguirse sin que sufran interrupción é intercalar animales de distinta especie sin que por eso deje de producirse la enfermedad. Citaré algunos ejemplos: Un chanchito es inoculado con cultivo, muere á los cinco días, con su bulbo inoculo otro animal de la misma especie que muere al quinto día; con la médula de este último inoculo un conejo el que muere á los 7 días; me sirve éste para inocular otro que muere á los 9 dias, dando por terminada la série. Como esta puedo citar otras en las cuales el número de pasages ha sido mayor. Las séries nunca han terminado expontáneamente por falla de la inoculación.

En casi todas el período de incubación se mantiene dentro de límites estrechos, muriendo los animales entre el 7° y 10° día. En muy pocos, los períodos de incubación fueron bastante variables, como sucede á veces con el virus de la rabia de las calles.

He inoculado dos perrros con 0.5 gr. de un cultivo en caldo, de la 3ª generación y de 24 horas de edad, debajo de la dura-madre. Ambos mueren al octavo día de la inyección subdural, después de una corta

enfermedad, durante la cual presentan paresia del tren posterior, dificultad para la marcha, permaneciendo poco tiempo en este estado, para quedar muy pronto postrados, en decúbito costal, tienen luego contracciones de los miembros y mueren.

La sintomatologia que presentaron estos animales fué sumamente parecida á la de un perro inoculado con virus fijo que muere á los 10 días de efectuada ésta.

En la autopsia de todos ellos no se encuentra lesión ninguna en el punto de inoculación. En las meninges no hay señales de inflamación, se encuentran fuertemente congestionadas. En el torax y abdomen tanto los órganos como las serosas sanas.

Los cultivos efectuados con sangre quedan estériles, los del sistema nervioso central reproducen el microorganismo inoculado.

He inoculado una oveja de 15 kilos de peso, en la cámara anterior con 0.2 gr. de emulsión de bulbo de un conejo muerto con cultivo. Al 7° día la oveja está triste y come poco, el día siguiente se nota ligera paresia del tren posterior, cuando camina lo hace arrastrando, de vez en cuando las patas traseras. Esta paresia se acentúa notablemente en las 24 horas subsiguientes, tanto que el animal se levanta con mucha dificultad y sólo después de varias tentativas infructuosas. Mantiene constantemente semiflexionadas las patas traseras, lo que le da apariencia de tener talla menor de la real, se cae con facilidad, no soportando el menor choque, sin perder inme-

diatamente el equilibrio. El décimo día no se levanta, queda tendida en decubito costal, por la tarde tiene contracciones de los músculos extensores del cuello y de los miembros, muere poco despues.

La sintomatologia de esta oveja es idéntica á la de otra de 14 kilos inoculada con virus fijo.

En la autopsia no se encuentran lesiones en el ojo en el cual se efectuó la inoculación.

Las meninges muy inyectadas con pequeñas hemorragias, pero no se ven en ellas exudados ni infiltraciones en el tejido.

En la médula se ven pequeños focos de resblandecimiento, sobre todo en la sustancia gris.

En el torax y abdomen nada que llame la atención, sangre estéril. Los cultivos del sistema nervioso reproducen el micrococo inoculado. Las inyecciones endovenosas en la oveja no dan resultado; lo mismo pasa con el virus fijo.

Toxina.—El microorganismo que he aislado del sistema nervioso central de los animales rabiosos, provoca los síntomas merced á una toxina, que puede obtenerse *in vitro* ya sea filtrando los cultivos en caldo, de 20 á 30 días de edad, ó matándolos con eter.

Los chanchitos de la India son muy sensibles á la acción de esta toxina, dosis que representan la milésima y aún la diezmilésima parte de su peso, les mata. Cuando la cantidad inoculada varia entre 0.5 á 1 c/c. en los animales de 400 á 500 gr. mueren del tercer al quinto día, perdiendo enormemente de

peso y presentando síntomas en todo semejantes á los inoculados con cultivo, sin embargo hay uno que nunca lo he visto en los últimos y que suele presentarse en los primeros; es la rotación del animal alrededor de su eje longitudinal, como si estuviesen lesionados los pedúnculos cerebelosos medios.

Cuando las cantidades inoculadas son menores, los animales tardan más tiempo en morir, 9-17 días, quedan reducidos al esqueleto perdiendo algunos hasta la mitad de su peso.

Los chanchitos de 200 á 300 gramos son más sensibles, con dósis de 0.5 gr. á 0.3 gr. mueren en dos ó tres días.

En la autopsia no se encuentran nunca lesiones locales y los resultados de ella concuerdan en todo con lo obtenido en los animales muertos con cultivos vivos. El sistema nervioso es siempre estéril.

En los conejos las cantidades de toxina que hay que inyectar para obtener una muerte rápida, son algo mayores (2 á 4 centímetros cúbicos) los mata entre 4 y 7 días, siendo idénticos los síntomas que presentan y los resultados de la autopsia á lo observado en los animales inoculados con cultivos vivos.

Los conejos que sufren inyecciones de menor cantidad y aun algunos que son más resistentes á las inoculaciones fuertes, mueren recién después de 11 días á un mes, perdiendo enormemente de peso, quedan reducidos á la piel y á los huesos; por ejemplo: un conejo de 1200 gr. recibe 1 c. de toxina, muere

á los 20 días, pesa 660 gr., pierde pués el 45 °/₀ de peso; otro de 1670 gr. es inoculado debajo de la piel con la misma dosis, muere á los 19 días, pesando 930 gr., pierde el 43 °/₀ de peso.

He inoculado algunos conejos con cantidades pequeñas de toxina (0.25 gr.) en la esperanza de poderlos inmunizar; pero todos han muerto después de la primera inoculación, sin darme tiempo para efectuar una segunda, pues presentaron desde el principio una gradual y rápida pérdida de peso.

Cantidades pequeñas de toxina (0.1 gr.) inoculadas debajo de la dura-madre, matan á los conejos en 7 días, con síntomas de rabia paralítica.

En los perros, 2 á 6 centímetros cúbicos son perfectamente soportados, sin reacción local ni general. Ultimamente he inoculado á un perro de 3 kilos, 15 c/c. de toxina debajo de la piel. Murió á los 15 días. Dias antes de la muerte come poco y tiene paresia del tren posterior, camina con dificultad, la víspera de la muerte la paresia es muy marcada, cuando se le obliga á caminar lo hace con gran dificultad, arrastrando las patas traseras las que se entrecruzan de vez en cuando, cae con suma facilidad, sobre todo cuando alguno de los miembros del tren posterior choca contra algún relieve del suelo. El día siguiente por la tarde no se levanta ya, queda tendido en decubito lateral, tiene contracciones y se muere.

En su autopsia encuentro congestión meningea; los demás órganos sanos.

INOCULACIONES EN ANIMALES VACUNADOS POR EL SISTEMA PASTEUR.—He vacunado una serie de conejos con médulas disecadas, provenientes de animales muertos con *virus* fijo, siguiendo el procedimiento clásico.

Dos de estos animales así vacunados, fueron inoculados con cultivos del micrococo, conjuntamente con otros dos que servían de testigos. Estos últimos mueren uno á los ocho días y el otro al décimo; en cambio los vacunados viven aún hoy.

Lo que probaría que es posible inmunizar á los conejos por intermedio del *virus* fijo atenuado, contra la infección provocada por el micrococo que es posible aislar de ese mismo virus, hecho más que sugestivo y prueba bastante evidente de la relación que entre ambos existe; desgraciadamente hoy me falta la contraprueba, que aún no he ensayado.

Otro hecho digno de mención es que el suero de sangre de los conejos vacunados, con *virus* fijo, conserva el poder aglutinante que tiene el suero de los sanos, para este microorganismo; poder aglutinante que se pierde en los enfermos, hasta desaparecer por completo en la agonía, tanto en los animales rabiosos como en los inoculados con cultivo.

Histo-patologia.—Las lesiones histológicas que en el sistema nervioso central se observan, son las mismas que presentan los animales inoculados con *virus* fijo.

He limitado por ahora mis investigaciones á los vasos y sobre todo á las células ganglionares.

Los primeros se presentan llenos de sangre. El endotelio, especialmente en los capilares, está aumentado de volúmen, tanto que el núcleo suele ocupar buena parte de la luz de él, disminuyendo de una manera notable el calibre del vaso. Las paredes de estos suelen encontrarse infiltradas por leucocitos, los que se reunen alrededor de ellos formando pequeñas agrupaciones.

Las pequeñas hemorragias mencionadas por algunos autores, no las he visto ni en los animales muertos con virus fijo ni en los inoculados con cultivo.

El número de células que en el tejido se encuentran está aumentado.

Pero, indudablemente, los elementos que más sufren por influencia de la infección rábica ó del micrococo por mí hallados, son las células nerviosas y sobre todo las motrices. Podemos observar en ellas hasta la desintegración completa, no quedando sino resíduos dificilmente reconocibles, rodeados por algunos leucocitos.

La estructura de la célula, observada gracias al método de coloración de *Nissl*, sufre enormemente; no hay una sola célula en la cual la disposición y forma de los corpúsculos de *Nissl* no esté alterada.

En los elementos ganglionares mejor conservados se vé que los corpúsculos de *Nissl*, pierden los contornos claros y precisos que tienen en estado normal, apareciendo como deshilachados y perdiendo igualmente su orientación.

Siempre, aún en estos casos, en que la estructura está regularmente conservada, en la periferia de la célula desaparecen por completo los corpúsculos, en una palabra hay cromatolisis para emplear la espresión de *Marinesco*.

Las células así conservadas son raras, la desintegración celular es más avanzada, los restos de los corpúsculos de *Nissl* solo se ven con dificultad sobre fondo, unas veces uniformemente teñido, otras veces más claro.

El conjunto de la célula suele ofrecer el aspecto de una malla muy irregular, con los puntos de entre-

crusamiento sumamente gruesos y fuertemente teñidos. En ella la cromatolisis periférica es muy avanzada.

En las células en las cuales la sustancia intermedia está debilmente teñida, es fácil observar la desintegración sucesiva, que sufren los corpúsculos de *Nissl* hasta quedar reducidos á finas granulaciones.

Esta desintegración avanza siempre de la periferia hacia el centro y es alrededor del núcleo, donde se encuentran siempre los restos de los corpúsculos ya sea en forma de copos más ó menos marcados, ó de aglomeraciones de granulaciones sin forma determinada, formando por lo general en ambos casos un anillo más ó menos grande y regular alrededor del núcleo.

Por fin desaparece aun este anillo nuclear al mismo tiempo que el núcleo y el nucléolo han sufrido una serie de transformaciones, acabando por desaparecer. Preséntase la célula entonces sin núcleo, ó sólo con restos de él, finamente granulosa, de bordes confusos, vagos é irregulares, llena de vacuolas; al fin queda ella reducida á un cúmulo de granulaciones más ó menos numerosas, ocupando un pequeño lugar del espacio linfático que le corresponde, el que aparece desmesuradamente grande para la célula que le ocupa, cuyos restos suelen verse rodeados por algunos leucocitos.

En los animales que mueren rápidamente este aspecto es raro.

De modo pues, que las alteraciones que se pro-

ducen en la célula por influencia de la infección rábica ó del micrococo que inoculo, están caracterizadas por la eramatolisis de los corpúsculos de *Nissl*, comenzando por la periferia celular, para avanzar hacia el núcleo, el cual queda casi siempre rodeado por una aureola de restos de corpúsculos de forma y tamaño variable.

Hecho ya mencionado y descrito por *Marinesco*, *Grigoriew*, *Flatan*, *Bates*, etc.

He conseguido demostrar la presencia del microorganismo en la médula de los animales muertos con virus fijo ó con cultivos.

No poco trabajo me ha costado, no solo por las dificultades tintoreas, sino tambien, por el número de granulaciones que en la médula rabiosa existen ya sea en las células, en sus prolongaciones ó en las vainas nerviosas, que hacen sumamente dificil la distincion entre un micrococo y lo que no lo es.

El método de *Gram* si bien deja ligeramente teñido el microorganismo que he aislado, deja igualmente coloreadas gran número de granulaciones; con el método de *Loefler* sucede lo mismo. El que me dió resultados fué la tincion por *Ziehl* en caliente y decoloracion en una solucion al 10 % de anilina en alcohol; pero este mismo procedimiento es infiel, porque á menudo decolora aun el micrococo.

Estos se presentan generalmente reunidos de á dos elementos, que se corresponden por un lado plano, aislados en pequeños grupos, entre las mallas de la

neuroglia, nunca los he visto en las células ó en los vasos.

El número que de ellos hay en cada quiste es muy variable, en muchas no hay ninguno, en algunos pocos y en la menos se ven grandes agrupaciones.

En todas mis investigaciones me he valido de piezas fijadas en alcohol, incluidas en parafina fusible entre 40-45°. El espesor de los cortes para la observacion del microorganismo, variaba entre 1 á 3 milésimos de milímetro y para el estudio de las granulaciones de *Nissl* tenian 5 micromilímetros.

Conclusion.—De todo lo que antecede se desprende que he conseguido aislar del organismo de los animales rabiosos un microorganismo, que solo se encuentra en ellos, que inoculado á los animales produce una enfermedad semejante por sus síntomas y lesiones á la rabia, que de nuevo se puede aislar de estos últimos y por fin que no mata los animales vacunados, con virus fijo, segun el metodo de Pasteur, mientras que mueren los testigos, hechos mas que suficientes para poder relacionarlo con la etiología de la rabia. Pero los adelantos siempre crecientes de la ciencia y los perfeccionamientos de la técnica, obligan al que hoy encuentra un microorganismo á reunir otros comprobantes, antes de afirmar que él sea el causante de la enfermedad en estudio.

Estas son la vacunación de los animales por intermedio del bacilo ó de sus productos y aun la obsten-

ción de cuerpos antitóxicos que impidan la eclosión de la infección ó la detengan una vez desarollada.

Hasta que no haya llenado estas condiciones me limitaré á hacer la siguiente afirmación. He aislado en los animales rabiosos un micrococo, que inoculado á los animales de experimentación (chanchitos, conejos, perros y ovejas) provoca siempre una enfermedad de síntomas idénticos á la rabia paralítica y cuya acción se efectúa por intermedio de una toxina; pero cuya relación de causa á efecto con la hidrofobia la dejo en suspenso, hasta llenar los requisitos antes mencionados.

A. Bachmann.

Buenos Aires, Octubre 14 de 1899.

PROPOSICIONES ACCESORIAS

La tuberculosis no es hereditaria.

Los tumores epiteliales no son de origen parasitario.

En la etiología de la malaria los mosquitos desempeñan un importante papel.

Buenos Aires, Octubre 14 de 1899.

Nómbrase á los Señores: Académico Dr. Manuel Blancas, Profesor Titular Dr. Abel Ayerza y Profesor Suplente Dr. Julio Mendez para que constituídos en Comisión, se sirvan dictaminar respecto de la admisibilidad de esta tesis.

J. T. BACA.

LUIS M. ACUÑA.

Buenos Aires, Octubre 19 de 1899.

SEÑOR DECANO:

Transcribo á continuación el acta labrada con motivo de la tésis presentada por el ex-alumno Sr. Alois Bachmann.

«En el local de la Facultad, á 18 de Octubre de 1899, reunidos «los que suscriben, encargados de dictaminar respecto de la «admisibilidad de la tésis presentada por el ex-alumno Alois «Bachmann, que versa sobre "El estudio de la Etiologia de «la rabia", resolvieron admitirla. Con lo que terminó el acto.»

«*Firmados:* M. BLANCAS—A. AYERZA.—JULIO MENDEZ.

Zenón Aguilar
Pro-Secretario.

LUIS M. ACUÑA.

Buenos Aires, Octubre 19 de 1899.

Entréguese esta tésis al interesado para su impresión, debiendo fijarse por Secretaría el día en que haya de ser sostenida.

J. T. BACA.

LUIS M. ACUÑA.