

L'EFECTE DELS EXTRACTES DE CERTS ÒRGANS D'ANIMALS NORMALS I IMMUNITZATS SOBRE EL PODER INFECTANT DEL VIRUS VACUNAL

per

F. DURAN-REYNALS

En una nota anterior (1) hem assenyalat que quan l'agent del tumor del pollastre I es posava en contacte amb múscul finament dividit d'animal susceptible, era fixat en tal forma, que tant el líquid sobrenedant com el teixit muscular esdevenien totalment o parcialment inactius en injectar-se a pollastres. El múscul dels animals no susceptibles, com són el colom i el conill, i àdhuc altres òrgans, com són fetge, ronyó o cervell d'animals susceptibles, no afecten poc ni molt l'activitat de l'agent.

El present treball fou emprès a fi de determinar si un efecte similar podia ésser demostrat per a un representant típic dels anomenats virus filtrables, tal com el virus vacunal. Com que els animals de laboratori són més o menys susceptibles al virus vacunal, per al grup refractari ha estat necessari fer ús de conills immunitzats artificialment, si bé aquest treball demostrarà que aquesta comparació és injustificada.¹

1. Ja s'ha publicat una nota preliminar sobre això (2) i alguns dels assaigs s'han repetit amb l'estafilococ (3).

El fet que els teixits d'animals immunitzats inactiven el virus «in vitro», ja ha estat assenyalat. Així, Levaditi i Nicolau (4) assenyalen que el virus vacunal i el virus de l'herpes són «destruïts» pel teixit cerebral dels animals immunitzats. Tessier, Gatal i Reilly (5), servint-se d'un petit nombre d'animals, confirmaren els resultats anteriors per al virus de l'herpes, i, a més, determinaren que el cervell i el sèrum dels conills naturalment immunes i dels gossos no susceptibles, no tenien ni la més petita acció sobre el virus.

MÈTODES I MATERIAL

Virus vacunal. — S'ha fet ús de tres diferents races de virus, a saber : el virus vacunal testicular de Noguchi, la neuro-vacuna de Levaditi i el dermo-virus glicerinat de la vaca del Departament de Salut pública, de la ciutat de Nova York.¹

L'espècimen de virus testicular es preparà injectant 0'5 cc. d'emulsió vacunal mesclada amb igual quantitat de solució de Ringer, en els dos testicles d'un conill. Cinc dies més tard, quan l'orquitis resultant estava al seu punt màxim, fou mort l'animal, i els testicles foren extirpats asèpticament. Es van moldre bé amb sorra, juntament amb 25 cc. de glicerina i 25 cc. de solució de Ringer. Aquesta emulsió fou distribuïda en tubs, coberta amb una capa de vaselina estèril i guardada a la nevera.

L'espècimen de neuro-vacuna es preparà injectant uns 0'2 cc. d'una grollera suspensió de teixit cerebral infectat en el cervell d'un conill. Passats cinc dies, el

1. Volem expressar el nostre agraïment al doctor T. M. Rivera per haver subministrat les races originals de virus testicular i nerviós.

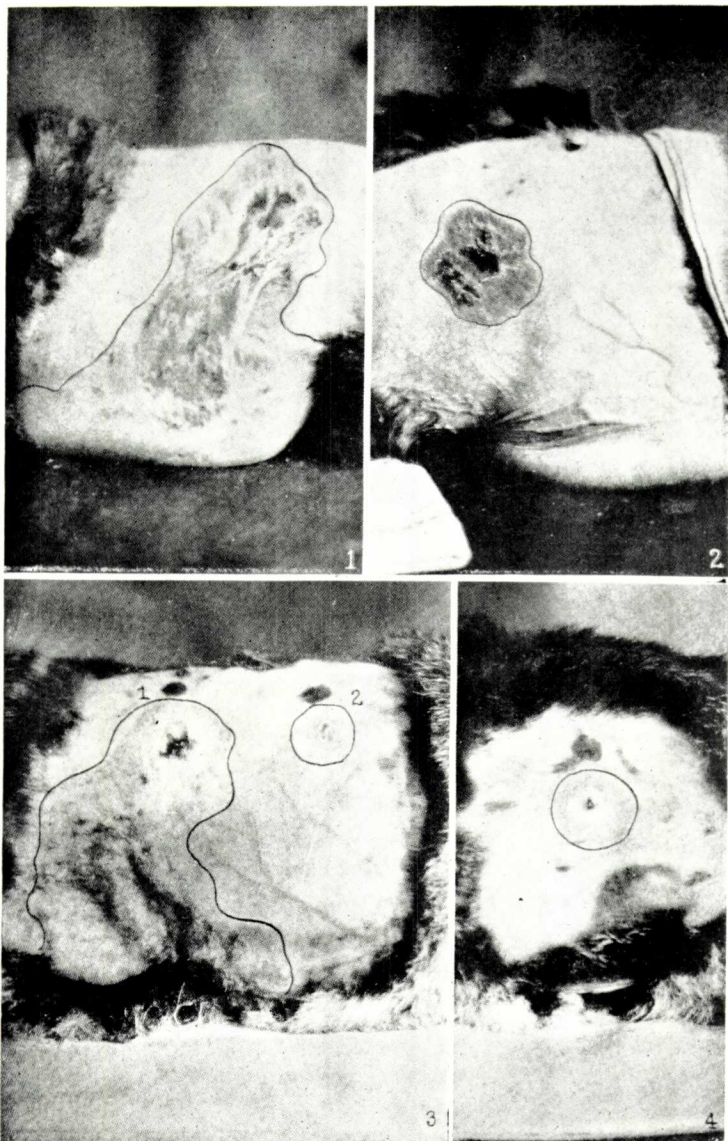
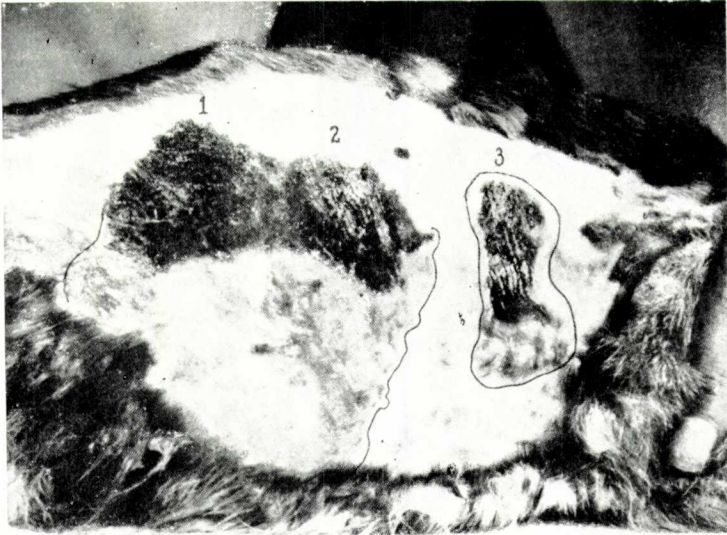


Fig. 1. — Conill 160, costat dret. Lesió produïda per la injecció intradèrmica (4 dies abans) de 0'25 cc. d'una dilució a 1 : 50 de neuro-virus, més 0'5 cc. del precipitat obtingut per l'addició d'àcid a l'extracte de testicle filtrat per Berkefeld, i concentrat.

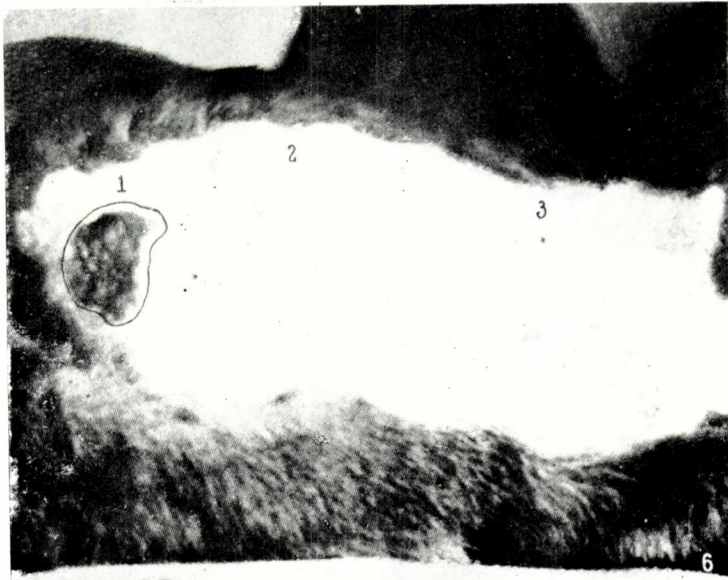
Fig. 2. — Conill 160, costat esquerra. Control. Lesió produïda per 0'25 cc. de la mateixa dilució del virus, més 0'5 cc. de Ringer. Noti's en la part baixa de l'abdomen l'edema de la lesió del costat dret.

Fig. 3. — Conill 163, costat dret. 1. Lesió produïda per la injecció (5 dies abans) de 0'25 cc. d'una dilució a 1 : 50, més 0'5 d'extracte testicular. 2. Lesió produïda per 0'25 cc. de dilució de virus, més 0'45 cc. d'extracte esplènic.

Fig. 4. — Conill 163, costat esquerra. Control. Lesió produïda per 0'25 cc. de la dilució a 1 : 50 de virus, més 0'5 cc. de Ringer.



5



6

Fig. 5. — Conill 97, costat dret. 1. Lesió produïda per la injecció (8 dies abans) de 0'25 cc. de dilució de virus a 1 : 50, més 0,5 cc. d'extracte testicular. 2. Lesió produïda per la injecció (8 dies abans) de 0'25 cc. de dilució de virus a 1 : 100, més 0'5 cc. d'extracte testicular. 3. Lesió produïda per 0'25 cc. de dilució de neuro-virus a 1 : 100, més 0'5 cc. d'extracte testicular.

Fig. 6. — Conill 97, costat esquerre. Control. 1. Lesió produïda per la injecció (8 dies abans) de 0'25 cc. de dilució de neuro-virus a 1 : 50, més 0'5 cc. de Ringer. 2. Punt injectat amb 0'5 d'extracte renal solament. 3. Punt injectat amb 0'5 cc. d'extracte testicular solament. El conill moria dos dies després de preses les fotografies.

cervell s'extirpava asèpticament i es tractava de la mateixa manera que per al virus testicular. Les dilucions, generalment 1 : 50, es feien immediatament abans de cada experiment amb solució de Ringer.

Hom afaitava curosament els animals per a evitar tota lesió de la pell, i generalment es feia una injecció de prova intracutàniament a un costat, i s'utilitzava el costat oposat com a control, a fi d'evitar el fet pertorbador de les diferents susceptibilitats individuals.

Inactivació dels virus testiculars dels extractes de cervell immune. — Com s'ha dit abans, Levaditi ha assenyalat que un extracte del cervell d'un animal immune neutralitzava la neuro-vacuna. Aquest experiment s'ha repetit, substituint la raça testicular de Noguchi per la neuro-vacuna.

Es feren servir els cervells de dos conills immunes al virus testicular, controlats pels cervells de dos conills normals. La meitat de cada cervell es va moldre i es va barrejar amb 2-3 cc. d'una dilució de virus a l'1 : 10. La mescla es deixà unes cinc hores a la temperatura de l'habitació, en un cas, i en l'altre, durant tres hores a 37°, i després tota la nit a la nevera. Les mescles foren centrifugades aleshores, i els líquids sobrenedants i les polpes injectats per separat a conills normals. Els resultats estan consignats en la taula I.

TAULA I

Experiment n.º	Lesions produïdes per líquids sobrenedants		Lesions produïdes per polpes	
	Cervell immune	Cervell normal	Cervell immune	Cervell normal
1.....	0'5 cc. ±	+	0'1 cc. —	+
	0'5 cc. ±	+	0'1 cc. ±	±
	0'5 cc. —	+	0'1 cc. ++	++++
2.....	0'5 cc. —	±	0'1 cc. +	+
	0'5 cc. —	—	0'1 cc. +	+

Inactivació del virus testicular per teixit testicular de conill immune. — Es repetí el mateix experiment, fent servir teixit testicular en lloc de teixit cerebral.

Es féu ús de conills immunitzats, d'1 a 3 mesos després de la injecció immunitzant de neuro-virus. Els testicles se separaren i es varen moldre amb sorra, i quantitats mesurades de les polpes resultants es barrejaren amb volums iguals de dilució a l'1 : 50 del virus. La duració del contacte fou de tres hores a la temperatura de l'habitació, en un cas, i en els altres, d'una a tres hores a la temperatura de l'habitació, i tota la nit a la nevera. Les barreges es contrifugaven, i els líquids sobrenedants s'injectaven a conills normals. Se seguia el mateix procediment amb testicles normals en els experiments de control.

Els resultats es resumeixen en la taula II.

TAULA II

Experiment n.º	Lesions de líquids sobrenedants		Lesions de polpes de:	
	Testicle immune	Testicle normal	Testicle immune	Testicle normal
3.....	0'2 cc. —	+++	0'2 cc. —	+
	0'5 cc. ±	++++		
4.....	0'2 cc. ±	+++	0'1 cc. —	+++
	0'5 cc. ±	+++	0'1 cc. —	+++
5.....	0'2 cc. —	+++	Escarificació	+
	Escarificació	++		
6.....	0'5 cc. —	++	No s'ha provat	No s'ha provat
7.....	0'2 cc. +	++	0'1 cc. +	++
8.....	0'3 cc. +	++	0'1 cc. —	++
9.....	0'5 cc. —	+++	0'1 cc. —	++
10.....	0'5 cc. —	+++	0'2 cc. +	+++
	0'5 cc. —	+++	0'2 cc. +	+++
11	0'5 cc. —	+++	0'2 cc. +	++
	0'5 cc. —	+++	0'2 cc. +	++

D'aquestes proves es desprèn que el cervell i el testicle d'animals immunes inactiven el virus vacunal, i és més actiu el testicle. La inactivació té lloc ràpida-

ment, ja que un contacte de tres hores redueix l'activitat de la dilució del virus tan completament com un contacte més prolongat.¹

Experiments de perfusió. — És sabut que el sèrum d'un animal immune presenta acció viricida sobre el virus vacunal. Els resultats obtinguts fins ara podrien atribuir-se, així mateix, al poder inactivador de la sang continguda en el teixit i no als teixits mateixos. Per a aclarir aquest punt, es portà a cap el següent experiment:

Un conill immune de tres mesos fou perfós sota anestèsia amb solució de Ringer i citrat sòdic per l'aorta abdominal i la vena cava, fins que els testicles esdevingueren perfectament blancs. Se seguí el mateix procediment amb un conill normal, i es repetiren els experiments anteriors amb aquest material nou. La barreja de testicle i virus es deixà a la temperatura de l'habitació unes tres hores, i després tota la nit a la nevera. Es féu un experiment similar amb el neuro-virus. Els resultats estan consignats en la taula III.

Sembla que les lesions dels animals immunes posseeixen un poder inactivant com el sèrum.

Velocitat de la reacció entre el virus vacunal i els òrgans immunes. — Es féu després una temptativa per a determinar la velocitat de la reacció i la seva ulterior progressió durant el temps de contacte.

1. La qüestió de si o no el teixit testicular dels animals susceptibles fixa el virus, fou contestada amb una sèrie d'experiments en la qual s'injectava a conills normals emulsions de testicle immediatament després de fetes les barreges i un altre cop després d'algunes hores de contacte. Com controls s'injectaven també, ensems, les mateixes quantitats de dilució de virus que les que contenien les mescles. Com que no hi havia diferència en l'extensió de les lesions produïdes, pot concloure's que no hi havia fixació del virus pel teixit testicular normal. Que hi havia una retenció mecànica o una absorció del virus pel teixit ho demostra el fet que rentant el teixit després del contacte, no hi havia reducció material de l'activitat quan s'injectava a animals.

TAULA III

Virus	Lesions de líquids sobrenedants		Lesions per polpes	
	Testicle immune	Testicle normal	Testicle immune	Testicle normal
Testicle.....	1 cc. —	++++	0'1 cc. ±	++
Neuro.....	1 cc. +	Lesió molt extensa	0'1 cc. +	++++

3 cc. de teixit testicular molt d'un conill immune de trenta-cinc dies es barrejà amb igual volum d'una dilució a l'1 : 50 de vacuna testicular. Les mescles es centrifugaren immediatament, i una mostra dels líquids sobrenedants fou injectada intradèrmicament a conills normals. El líquid i el teixit romanents es barrejaren i es deixaren estar en contacte cinc hores a la temperatura de l'habitació, i aleshores disset hores a la nevera. La barreja se centrifugà un altre cop, i una altra mostra de líquid sobrenedant es provà sobre el mateix conill. Es féu un experiment similar amb neuro-virus. Els resultats es donen en la taula IV.

TAULA IV

Virus	Lesions produïdes per líquids sobrenedants immediatament després de barrejar		Lesions de líquids sobrenedants i polpes després de 22 hores de contacte	
	Testicle immune	Testicle normal	Testicle immune	Testicle normal
Testicular..	0'5 cc. —	+++	0'25 cc. +	+++
Nerviós....	0'5 cc. +	Lesió molt gran	0'50 cc. +	++++
			0'18 cc. ±	+++
			0'25 cc. +	++++
			0'50 cc. +	++++

Aquestes proves indiquen que la inactivació dels virus pel testicle d'animals immunes es fa molt ràpidament i no augmenta notablement pel contacte ulterior.

Es provà la possibilitat que el virus fos inactivat.

però no destruït pel contacte amb els teixits d'animals immunes. Les barreges sotmeses a digestió trípica, dessecació o tractament amb solucions a diferents Ph, no pogueren separar el virus en forma activa.

Exaltació del neuro-virus per extracte de testicle normal.

— Recordi's que en l'experiment anterior el neuro-virus era inactivat pel virus testicular. D'altra banda, els extractes testiculars normals, que no tenen efecte apreciable sobre la raça testicular, presenten un augment enorme de les lesions cutànies produïdes pel neuro-virus. Aquesta observació fou confirmada pels experiments que es resumeixen en la taula V.

TAULA V

Lesions produïdes pels líquids sobrenedants		Lesions produïdes per les polpes	
Testicle immune	Testicle normal	Testicle immune	Testicle normal
1-0'2 cc. +	Lesió molt gran	0'8 cc. +	Lesió molt gran ++++ ++
2-0'2 cc. ++		0'2 cc. +	
3-0'2 cc. +		0'2 cc. +	

Aquestes lesions eren molt més hemorràgiques i necròtiques, i interessaven una àrea molt més gran que no pas les produïdes pel virus sol. Els dos conills injectats amb líquid sobrenedant de la barreja d'extracte testicular normal més neuro-virus, esdevingueren molt malalts, perderen considerablement de pes i moriren als sis i set dies, respectivament, després de la injecció. Un dels conills injectats amb la polpa presentà, també, una gran lesió; estigué malalt, però es refé. Els altres conills presentaren l'erupció vacunal corrent.

Estudi detallat de l'exaltació del virus neuro-vacunal pels extractes testiculars. — La naturalesa de les lesions obtingudes en la precedent sèrie experimental, autoritzaven un ulterior estudi més acurat del poder presentat

pels extractes de testicle normal en exaltar, en un grau tan elevat, el poder infectant del neuro-virus de Levaditi.

La tècnica, en començar, era la mateixa dels experiments anteriors, i s'injectaven les polpes i els líquids sobrenedants. Més endavant, la tècnica se simplificà molent el testicle junt amb el seu volum de solució de Ringer, i centrifugant immediatament. Solament s'usà el líquid tèrbol sobrenedant. Aproximadament, 0'5 cc. d'aquest es barrejava amb 0'25 cc. d'una dilució a l'1 : 50 d'emulsió de teixit infectat, immediatament abans de la infecció.

Amb el líquid sobrenedant, l'exaltació s'ha observat pràcticament en totes les vuitanta proves portades a terme. En dos o tres casos en què l'exaltació fou dubtosa o negativa, l'efecte fou degut a l'ús d'un virus feble o de testicles atròfics. La injecció de les polpes en les quantitats usades no donà resultats constants, ja que en cinc d'onze casos no hi hagué augment, i en dos casos l'augment fou dubtós.

Solament en uns pocs casos la barreja de virus-testicle donà lesions més precoces que el virus sol. Generalment, al segon o tercer dia apareixia la mostra de la infecció a tots dos costats, però la lesió era molt menys extensa del costat del control. Les lesions produïdes pel neuro-virus sol, generalment assolien llur intensitat màxima al quart o cinquè dia, i presentaven el quadre corrent d'una erupció localitzada, més o menys hemorràgica. D'altra banda, les lesions produïdes pel virus més extracte testicular, generalment continuaven llur evolució fins a assolir el màxim al sisè o setè dia, i durant aquest temps s'havien estès a tot el costat i àdhuc a l'abdomen. La pell apareixia grossa i molt vermella o violàcia, i molt sovint estava coberta amb pústules. Apareixien sovint àrees de necrosi enmig de la lesió,

i molt sovint tota l'àrea de la pell es necrosava. Hi havia generalment un edema marcat en les regions veïnes.

Els símptomes generals en els conills injectats intradèrmicament amb la barreja de testicle més neuro-virus, esdevenien intensos. La temperatura assolía 105° F., i molt sovint 106 i 107°. En molts casos seguia la hipotèrmia en els dies anteriors a la mort. Hi havia una pèrdua considerable de pes — de vegades més de 600 gr. — i molts dels animals presentaven intensa diarrea i signes de trastorns pulmonars. S'observà conjuntivitis en pocs casos.

La mort sobrevingué en el 25 per 100 aproximadament dels casos. Les troballes més notables a l'autòpsia foren una doble neumònia lobar hemorràgica algunes vegades amb avançats abscesos pulmonars i glomerulo-nefritis intensa. Els nòduls limfàtics veïns a la lesió estaven augmentats i congestionats, i els testicles estaven sovint congestionats. Els detalls de les lesions histològiques d'aquesta infecció vacunal generalitzada es donaran en una nota ulterior. Alteracions típiques foren trobades en els ovaris, testicles, suprarenals, pulmons, etc., i el virus vacunal fou fàcilment recobrat d'aquests i d'altres òrgans independentment de la seva presència a la sang.

En altres animals, expressament morts en el punt àlgid de la malaltia, es trobaren lesions més o menys pronunciades dels pulmons. El quadre clínic i histopatològic de la malaltia produïda pel virus-vacunal més extracte testicular és el de la infecció corrent pel virus sol, però extraordinàriament augmentat.

La influència d'extractes d'altres òrgans sobre la infecció pel neuro-virus. — Era una qüestió naturalment interessant saber què esdevenia quan s'injectaven altres òrgans que el testicle junt amb neuro-virus.

S'emprà la mateixa tècnica, usant solament els líquids

sobrenedants. La barreja de virus i extractes de teixits o sèrum es féu immediatament abans de la injecció, en la proporció de 0'25 cc. d'una dilució a l'1 : 50 de l'emulsió de virus i 0'50 cc. de l'extracte de teixit o òrgan.

Els resultats es resumeixen en la taula VI.

TAULA VI

Extracte d'òrgan injectat amb el neuro-virus	Número de proves	Exaltades	Modificacions	Minvades	Suprimit
Testicle.....	80	78	2	0	0
Ronyó.....	6	6	0	0	0
Pell.....	2	2	0	0	0
Suprarenal.....	4	0	4	0	0
Sang total.....	3	0	1	0	0
Sèrum.....	10	0	5	5	0
Medul·la òssia.....	8	0	5	3	0
Nòduls limfàtics.....	2	0	2	0	0
Melsa.....	24	0	8	14	2

A més de les anteriors, es feren proves amb molts altres teixits. Els resultats d'aquestes foren que el fetge, cervell i placenta augmenten el poder infectant, mentre que el múscul, retina i tot l'embrió no tenen efecte.

De l'estudi dels resultats poden classificar-se els òrgans en relació a llur influència sobre el virus vacunal de la següent manera : 1, òrgans que sempre augmenten, tals com el testicle, el ronyó, etc.; 2, òrgans que ni augmenten ni interfereixen, com són, segurament, el múscul, les suprarenals, etc.; i 3, òrgans que mai no augmenten i molt sovint interfereixen amb una supressió o minva del poder infectant de la neuro-vacuna, tals com melsa, sang, etc.

Entre els òrgans dotats d'un poder d'augment, el testicle és, de molt, el més fort, mentre que la melsa sembla ésser el més actiu dels òrgans que interfereixen

en la infecció. És interessant de notar que el poder inhibidor de la melsa es perd ràpidament per la dilució, essent les polpes les més efectives, mentre que el poder d'augmentar del testicle, com es veurà ben aviat, no és afectat per les altes dilucions.

Augment del virus de la dermo-vacuna pels extractes testiculars. — En vista del fet que l'augment del virus vacunal en la pell era positiu per a la neurovacuna i negatiu per al virus testicular de Noguchi, es cregué convenient determinar si l'extracte testicular era capaç d'augmentar l'activitat del dermo-virus de vaca.

L'extracte testicular de conill es preparà de la manera corrent, i 0'5 cc. s'injectaren intradèrmicament junt amb tot el contingut d'un tub de dermo-virus (dosi, humana), al costat esquerre de dos conills. El costat dret s'injectà amb el virus sol amb solució de Ringer. El costat esquerre presentà lesions cinc vegades més grans que el costat dret, però aquestes lesions eren més lleugeres que les produïdes pel neuro-virus o pel virus testicular.

Augment del virus testicular de Noguchi. — Que la feble activitat del virus testicular de Noguchi no és responsable de la manca d'exaltació de virulència pels extractes testiculars, es demostra clarament en els experiments anteriors on un virus encara més feble, el virus de vaca, és netament augmentat pel mateix extracte.

Els extractes de ronyó foren efectius en un experiment d'exaltació del virus testicular de Noguchi en la pell, exaltació lleugera, però ben clara. En un altre experiment s'injectà virus testicular en el cervell d'un conill que fou mort cinc dies després, i aquest cervell, emprat com a neuro-virus, es presentà ben clarament

exaltat per l'extracte testicular. Les lesions obtingudes foren les lesions suaus produïdes correntment pel virus testicular. Per altra banda, el neuro-virus, després d'un pas pel testicle, no perdé res de la seva virulència i fou encara activament exaltat pels extractes testiculars quan se l'injectà intradèrmicament. Així, doncs, és ben clar que l'exaltació del virus testicular pels extractes d'òrgans és possible en certes condicions.

Exaltació del virus nerviós i testicular pels extractes de testicle i ronyó, quan se'ls injecta en els testicles. — Aquests experiments es feren per a determinar l'efecte de l'exaltació en altres òrgans que la pell, principalment els testicles.

El procediment general en preparar el material no es diferencia en res de l'utilitzat en els experiments cutanis. El testicle dret fou usat per a les injeccions, i l'esquerre per a comparació. El resultat de quatre experiments en setze conills es resumeix en la taula VII.

TAULA VII

	Lesions produïdes per:			Lesions produïdes per:	
	Virus trat. + extr. òrgan	Virus trat. + Ringer		Virus nerviós + extr. òrgan	Virus nerviós + Ringer
Testicle....	+	++	Testicle....	+++	+++
Ronyó....	+++	— ¹	Testicle....	++++	+++
Testicle...	+++		Testicle....	++++	
Ronyó....	+++		Ronyó....	±	+
Ronyó....	+	—	Ronyó....	++++	

1. Aquest signe — no vol dir absència total d'orquitis, però simplement absència d'una inflamació gran. El fet de la infecció està demostrat per haver-se recobrat el virus.

De l'estudi d'aquesta taula podem treure les conclusions que, malgrat alguna irregularitat en ambdós virus, en produir una orquitis definida als conills, tots

dos poden ésser exaltats pels extractes de ronyó o del testicle, quan se'ls injecta en els testicles de conill.

Experiments sobre la naturalesa de l'exaltació. — L'exaltació no presenta especificitat d'espècie, ja que les proves ensenyen que els conills, als quals se'ls injectà neuro-virus, més extracte testicular de rata o de cobai, preparat i utilitzat com extracte de conill, presentaven les lesions típiques d'exaltació. Tots els animals als quals se'ls injecta estigueren malalts, i alguns moriren cap al vuitè dia, amb els acostumats signes generals, especialment en els pulmons i ronyons. L'edat de l'animal del qual treiem l'extracte, així com la de l'animal al qual s'injectava, no tenen influència sobre el fenomen d'exaltació. Els animals sòlidament immunes a tots dos virus són tan resistents a les infeccions del virus com pel virus més extracte testicular. Els extractes lleugerament autolitzats estan dotats del mateix poder d'exaltació que els extractes frescos.

El virus no sembla estar modificat en la seva virulència, ja que les races procedents de les lesions exaltades no són més infectives que les races preses de les lesions ordinàries. Que l'acció de l'extracte va dirigida, almenys, cap a la cèl·lula ho demostra l'observació casual que alguns conills que tenien lesions pronunciades de neuro-virus pur, presentaren una erupció vacunal típica en punts on se'ls injectà extracte testicular sol. Això suggerí un experiment en el qual la pell afaitada d'un conill va rebre en tres punts diferents extracte testicular, i ensem s'injectava en la vena de l'orella 1 cc. de neuro-virus diluït en 20 cc. de solució de Ringer. Es desenvoluparen lesions típiques en els tres punts injectats, i l'animal morí el quart dia, presentant el virus sanguini localitzat en els punts sensibilitzats. Després de la injecció d'extractes testiculars, les cèl·lules estigueren sen-

sibilitzades durant un cert temps. Això es demostrà en un experiment en el qual s'injectà intradèrmicament a cinc conills, 0'5 cc. d'extracte, i, en els dies següents, 0'25 cc. d'una dilució a l'1 : 50 de virus s'injectava en els mateixos llocs. En cada cas, s'injectà virus sol, com a control, en un altre punt de la pell. S'obtingueren lesions exaltades al tercer dia, mentre que més tard les lesions no es diferenciaven en res de les obtingudes en els llocs de control, o bé l'exaltació era dubtosa. El virus emprat era d'una força moderada, de manera que potser una sensibilització més llarga s'hauria pogut observar amb un virus més actiu.

Experiments preliminars sobre la naturalesa física i química de la substància exaltadora. — Com a resultat d'un número d'experiències preliminars, s'han determinat algunes de les propietats de la substància exaltadora. Dilucions de líquids sobrenedants de testicles, tan grans com 1 : 160, són gairebé tan actives en llur poder exaltador com els extractes purs. Els filtrats de Berkefeld de l'extracte porten la substància exaltadora en quantitats considerables. L'exposició d'aquests extractes a 100° durant tres minuts en destrueix completament l'activitat. El precipitat resultant de l'acidificació d'un filtrat de Berkefeld de l'extracte testicular, conté pràcticament tota la substància exaltadora. El precipitat dóna uniformement una forta reacció de Feulgen, indicant el predomini dels elements nucleoproteínics.

DISCUSSIÓ

Els experiments que consignem aquí ensenyen que les races nerviosa, testicular i de vaca del virus vacunal, són no solament no lesionades pel contacte «in vitro»

amb teixits sensibles d'animals susceptibles, sinó que llur potència infecciosa n'és exaltada a un grau extraordinari. Aquesta troballa contrasta fortament amb els resultats obtinguts quan se sotmetia l'agent d'un tumor del pollastre al mateix tractament. El fet que un agent sigui fixat o inactivat pels constituents dels teixits més susceptibles, mentre un altre veu la seva acció fortament exaltada, suggereix l'existència d'una diferència fonamental en el mecanisme d'acció dels dos i tendeix a separar-los en dues classes diferents. És conegut que certs enzimes formen una unió amb la substància específica sobre la qual actuen, i això se suposa ésser generalment veritat pels agents enzimoides. Si el grup dels virus és o no uniformement no afectat pel contacte «in vitro» amb teixits d'animals susceptibles, o bé si pot veure la seva acció exaltada per aquests teixits, queda encara per determinar. En el virus vacunal el resultat és evidentment concloent.

El resultat del contacte del virus vacunal amb extractes de teixits d'animals immunes i de l'agent del tumor amb teixits de pollastres susceptibles, és el mateix, o sigui, la inactivació en ambdós casos. El fet que el virus vacunal sigui inactivat particularment per sèrum dels animals immunes és ben conegut i es creu generalment que és el resultat d'una veritable destrucció del virus. Però el fet que la reacció entre el virus i els extractes de teixits immunes assoleix el seu màxim immediatament després que el contacte ha tingut lloc i, a més, per la similitud entre aquest efecte i la inactivació de l'agent del tumor del pollastre pels teixits susceptibles, sembla dependre-se'n que l'acció no és una destrucció del virus. El treball recent d'Andrews (6) ha demostrat que el virus actiu pot recobrar-se després de contacte amb el sèrum immune, àdhuc quan el sèrum

s'usa en gran excés. Encara hi ha més : Long i Olitsky han demostrat que el virus vacunal actiu pot recobrar-se per cataforesi del testicle de l'animal immune molts mesos després en la desaparició de tota lesió activa. Així, doncs, sembla que el virus no és necessàriament destruït per la substància immune.

El més actiu dels teixits en l'exaltació de la infectivitat del virus vacunal és el testicle. És interessant assenyalar que aquest òrgan no és solament el més sensible a la inoculació directa, sinó que és, amb l'ovari, el lloc on, en absència d'irritació prèvia, el virus es localitza més sovint després de la inoculació intravenosa.

El mecanisme d'exaltació no és clar. El fet que el virus injectat en una àrea de pell algunes hores o dies després que l'extracte de teixit ha estat injectat en el mateix punt, produeixi una lesió exaltada, suggereix que l'extracte és l'hoste de les cèl·lules, fent-les més susceptibles al virus, que no pas el virus directe. Aquesta interpretació està encara més enfortida per l'observació que el virus injectat intravenosament es localitza més fàcilment en àrees de pell on s'ha injectat prèviament extracte testicular, i les lesions resultants són molt extenses. Pot ésser que l'extracte actuï primerament com un estímul a la divisió cel·lular, augmentant així el nombre de cèl·lules joves que se suposa que són més susceptibles, a l'efecte del virus, que les cèl·lules velles.

Al costat d'òrgans o teixits que exalten la virulència del virus vacunal, n'hi ha d'altres que francament interfereixen amb la infecció. Entre aquests darrers, la polpa de melsa sembla tenir l'efecte inhibitor més marcat. En relació podem associar la reacció limfòidea amb la inhibició del creixement dels teixits. Però, independentment de l'explicació del fenomen descrit, sembla que

s'ha establert una diferència bàsica entre l'evolució de l'agent filtrable del tumor de pollastre i un membre típic dels anomenats virus filtrables.

RESUM

El cervell i el testicle dels conills immunes posats en contacte amb les races de virus vacunal de Noguchi i Levaditi, fixen o inactiven aquests virus. Extractes de testicles d'animals susceptibles exalten en un grau extraordinari la infectivitat d'ambdós virus vacunals. El virus de Noguchi no és afectat pels extractes testiculars quan se l'injecta a la pell, però l'extracte de ronyó té un poder exaltador ben definiti sobre la raça, quan s'injecta a la pell o en el testicle.

L'efecte d'extractes de teixits sembla ésser major sobre les cèl·lules de l'animal receptor, que sobre el virus. Això està demostrat pel fet que el virus injectat intravenosament es localitza més fàcilment en l'àrea de pell on prèviament s'ha injectat l'extracte testicular. A més, es presenta una lesió exaltada si s'injecta virus en l'àrea on, àdhuc tres dies abans, s'havia injectat l'extracte testicular.

La substància exaltadora dels extractes tissulars és molt poc afectada per les altes dilucions, passa a través de la bugia V de Berkefeld i segueix en la seva precipitació les proteïnes, que precipiten pels àcids febles,

Conills amb lesions exaltades presenten una simptomatologia general i aproximadament un 25 per 100 moren amb una verola generalitzada.

Els extractes de ronyó, i probablement de pell, de cervell i de fetge, tenen propietats exaltadores, però a un grau menor que el testicle. D'altra part, la melsa,

la sang i, probablement, els nòduls limfàtics i la medul·la òssia, no solament no exalten el virus, sinó que minven i àdhuc supprimeixen completament la infecció vacunal cutània.

Dels Laboratoris de The Rockefeller Institute for Medical Research. New York.

BIBLIOGRAFIA

1. *Duran-Reynals, F.*, i *Murphy, J. B.*, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 25, 664; 1928. — Jour. Exp. Med. 50, 315; 1929.
2. *Duran-Reynals, F.*, C. R. Soc. Biol., 99, 6; 1928.
3. *Duran-Reynals, F.*, i *Suñer Pi, J.*, C. R. Soc. Biol., 99, 1908; 1929.
4. *Levaditi, C.*, i *Nicolau, S.*, Ann. Inst. Pasteur, 37, 1; 1923.
5. *Tessier, B.*, *Gatinal, P.*, i *Reilly, C. R. J.*, C. R. Soc. Biol., 98, 1399; 1928.
6. *Andrews, C. H.*, Jour. of Path. and Bact., 21, 671; 1928
7. *Olitsky, P. K.*, i *Long., P. H.*, Science, 25 de gener de 1929