meses enteros. Por el contrario, la luz solar directa y hasta la luz natural difusa lo aniquilan rápidamente.

En el agua, en ausencia de substancias necesarias para su nutrición, el bacilo perece a los pocos días; en cambio, en el lodo puede vivir meses enteros. También es bastante resistente a la desecación, de modo que existe la posibilidad de contagio por el polvo.

Los cultivos se desarrollan sin dificultad a la temperatura corriente y en los medios usuales. La diferenciación del bacilo tífico con

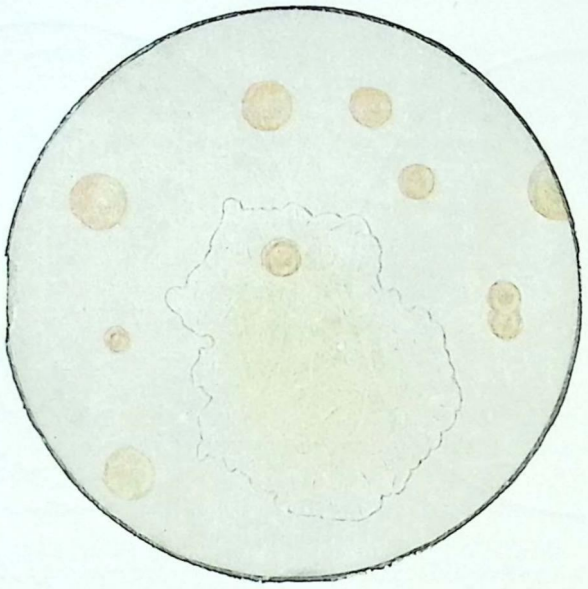


FIG. 100. Colonias de bacilo de la fiebre tifoidea. Placa de gelatina (aumento 1 : 40).

Del capítulo « Fiebre Tifoidea », por C. FRAENKEN, en el Manual de Higiene de GRUBER, RUBNER y FICKER, tomo III, Sección 2.ª

otros bacilos semejantes muy frecuentes en el contenido intestinal, el colibacilo, entre otros, ofrece dificultades. No liquida la gelatina de los cultivos en placas; en éstas, las colonias profundas son pequeñas, compactas, bien limitadas y de color amarillo o castaño, distinguiéndose de las superficiales, por tener éstas mayor extensión, por ser incoloras y presentar bordes irregulares. En el interior de las colonias superficiales se distinguen, a pocos aumentos, gran número de surcos y venas que dan a la colonia el aspecto de una hoja de parra, pero estos surcos y venas están poco ramificados, a diferencia de las colonias del *bacterium coli*, cuya superficie ofrece con frecuencia un fino dibujo de ramificación.

En la superficie de la patata forma el bacilo que nos ocupa una capa delgada e invisible, a diferencia del *bacterium coli*, que da lugar a gruesas capas de color castaño; pero este desarrollo característico

no aparece por igual con todas las variedades de patata. En caldo produce un enturbiamiento uniforme del medio. Las colonias superficiales en placas de agar no ofrecen nada característico, y al mirarlas con débil aumento aparecen como discos transparentes, de bordes lisos, finamente granulosos, mientras que las colonias del *bacterium coli* presentan generalmente un aspecto más opaco.

El bacilo tífico es anaerobio facultativo, y se desarrolla con vigor en los cultivos por picadura, aun en el fondo de ésta.

Respecto a la reacción del medio de cultivo, es preferible una reacción neutra o ligeramente ácida, en lo cual se diferencia de la mayor parte de las bacterias patógenas, que tienen por óptima la reacción algo alcalina. A diferencia de numerosas razas del *bacterium coli*, el bacilo tífico no forma indol.

La diferencia característica, con respecto a las bacterias intestinales semejantes, se manifiesta en su comportamiento frente a los hidratos de carbono; el bacilo de la fiebre tifoidea no fermenta la glucosa, la sacarosa, ni la manita, al contrario de lo que sucede con la mayor parte de las razas del *bacterium coli*; con la sacarosa y la manita, se desarrolla algo de acidez, pero no se forma ningún gas. Estas propiedades con respecto a los hidratos de carbono son la base del diagnóstico diferencial de la fiebre tifoidea, utilizando medios de cultivo coloreados, como veremos detalladamente más adelante, en los cuales, los cultivos de bacilos de esta infección aparecen en color distinto al de las especies afines.

No existe una característica de cultivo que baste por sí sola para diferenciar el bacilo tífico y, por consiguiente, permita establecer el diagnóstico con seguridad; pero tampoco se conoce un solo bacilo de los que le son semejantes, que reúna todas las propiedades enumeradas que caracterizan el germen de la infección tífica, es decir, sus propiedades morfológicas, su crecimiento en las placas de gelatina y en la patata, su comportamiento con los hidratos de carbono y con el suero de leche tornasolado y la ausencia de indol en los cultivos. La coincidencia de toda esta serie de propiedades de cultivo es, por consiguiente, lo que caracteriza el bacilo tífico; lo cual no impide que, de algunas especies, sólo se diferencie por una o dos de esas propiedades; por ejemplo, del bacilo KRUSE-SHIGA, prescindiendo de la movilidad, únicamente se distingue por su acción frente a la manita, pues los bacilos de la fiebre tifoidea forman ácidos débiles en los medios con manita y tornasol y los de la disenteria no los forman; la única diferencia de cultivo segura respecto del *bacillus faecalis alcaligenes*, frecuente en el intestino del hombre, es la acción sobre el suero de leche tornasolado, en el cual el bacilo tífico da lugar a una débil acidez, y el *alcaligenes*, por el contrario, da una reacción alcalina intensa. Pudiera objetarse, quizá, que la característica de los cultivos de fiebre tifoidea es esencialmente negativa (no forma indol, no fermenta los hidratos de carbono), y que, por ello, pudiera presentarse el caso de que tomásemos equivocadamente como bacilos tíficos los de una raza de colibacilos que hubiese per-

dido por degeneración sus propiedades de cultivo positivas. La gran experiencia en el diagnóstico de fiebre tifoidea, adquirida principalmente con motivo de la lucha sistemática contra esta infección, organizada hace quince años en el S. O. de Alemania, enseña que no se ha cometido nunca la confusión de ambos bacilos, y si se presentase la duda, la resolverían las reacciones específicas de inmunidad. Una verdadera raza de bacilos tíficos no solamente posee las propiedades negativas mencionadas, sino que también reacciona específicamente, tanto en la reacción de aglutinación *in vitro* como experimentando en animales, según la técnica de R. PFEIFFER (véase página 84) valiéndose de un suero antitífico obtenido por inmunización de un animal (el conejo, con preferencia) con bacilos tíficos comprobados.

No debemos fiarnos sin embargo, en absoluto, sólo del resultado de esta sero-reacción específica, sino que ha de hacerse además la prueba por cultivos, en virtud de las siguientes razones: 1.ª La especificidad de la sero-reacción en la fiebre tifoidea no es tan manifiesta como para el vibrión del cólera (véase pág. 263 y siguientes), porque un suero antitífico puede coaglutinar considerablemente, a veces aun a titulación elevada, otras especies afines del grupo paratífico (véase pág. 94). 2.ª La sero-reacción aparentemente positiva puede observarse con bacterias completamente extrañas (véase, respecto de esto, los fenómenos de para-aglutinación estudiados especialmente por KUHN, en la Parte general, pág. 92). 3.ª Puede ocurrir que razas de bacilos tíficos, a consecuencia de una larga permanencia en el organismo infectado, se hayan convertido en sero-resistentes e inaglutinables (véase página 93). Es, por consiguiente, la reunión de todas las propiedades de cultivo y la sero-reacción específica lo que fijará el diagnóstico bacteriológico.

La posibilidad, que hemos dejado entrever, de que los caracteres de cultivo estén alterados hace que la diferenciación del bacilo tífico de otras especies semejantes resulte a veces muy difícil y sólo pueda ser resuelta esta cuestión por bacteriólogos muy prácticos. Desgraciadamente, la investigación en animales no es aplicable en la práctica al diagnóstico de la fiebre tifoidea, porque en los animales de laboratorio no se consigue reproducir, con procedimientos sencillos, un proceso patológico semejante al de la enfermedad humana. Es de gran interés teórico, respecto del origen de la fiebre tifoidea en el hombre, aunque resulta muy complicada para el diagnóstico práctico, la afirmación de MARMOREK de que es posible producir en los cobayos un cuadro clínico, con focos locales en el intestino, muy parecido al del tifus abdominal del hombre, inoculándoles bacilos de fiebre tifoidea en la vesícula biliar. Antes se había conseguido ya crear en los conejos por inyecciones intravenosas o en la vesícula biliar un estado semejante al del hombre portador de bacilos, con análoga eliminación de gérmenes y análogas lesiones características en las vías biliares (úlceras).

Cierto es que, también por la inyección intraperitoneal, corriente en la técnica de laboratorio y especialmente empleando grandes dosis, se puede producir en los animales de experimentación una enfermedad seguida de la muerte, determinada por las endotoxinas que quedan libres al perecer los gérmenes; pero el cuadro de esta enfermedad, con peritonitis y colapso, no tiene semejanza con la fiebre tifoidea del hombre y sólo la especificidad de la sero-reacción (investigación de PFEIFFER) revela la identidad etiológica de ambos procesos.

Las razas de bacilos tíficos procedentes del organismo humano demuestran una virulencia muy distinta a la inoculación en los animales. Ordinariamente, una inyección intraperitoneal de un décimo de asa de un cultivo en agar de diez y ocho horas mata un cobayo en doce a veinticuatro horas.

Las substancias tóxicas están contenidas en el cuerpo de los bacilos (endotoxinas). No se ha comprobado la existencia de grandes cantidades de toxinas solubles, como produce, por ejemplo, el bacilo de la difteria.



FIG. 101. Corte de un bazo tífico (aumento 1 : 500)

La significación etiológica del bacilo tífico en la infección del hombre se ha comprobado, de manera indudable, por la inoculación en los animales, que realizada convenientemente reproduce un proceso patológico análogo al del hombre, resultado que se consigue también por la sencilla infección *per os* de los monos antropoides; pero sobre todo dicha significación causal se demuestra por los siguientes hechos: en primer lugar, han ocurrido toda una serie de casos de fiebre tifoidea, debidos a infecciones de laboratorio con bacilos tíficos y en circunstancias que permiten excluir en absoluto toda otra causa de contagio; en segundo lugar, en el curso de la infección tífica se forman en la sangre humana anticuerpos, que obran específicamente sobre los bacilos tíficos, los cuales se comprueban por su acción aglutinante y bactericida frente al germen y se utilizan por ello en la práctica para el diagnóstico; por último, los bacilos tíficos, en el enfermo de fiebre tifoidea, se encuentran en distribución tan característica, que por ella se explican todas las particularidades anatomopatológicas, clínicas y epidemiológicas de la infección.

La denominación de *tifus abdominal* no debe entenderse en el sentido de que se trate de una enfermedad local del intestino; al contrario, las últimas investigaciones demuestran que se trata de una verdadera infección generalizada, en la cual el proceso patológico en el intestino representa sólo una de las localizaciones más frecuentes, pero en modo alguno la única; tanto es así, que a veces puede faltar. La distribución del bacilo en el hombre enfermo, en relación con las circunstancias de tiempo y de espacio es la siguiente: al principio de la enfer-

medad, el bacilo se encuentra en la sangre, según puede comprobarse por métodos apropiados, casi en el 100 por 100 de los casos, en las dos primeras semanas de la infección; una vez transcurrido este período, rara vez se consigue esta comprobación. En cambio, a partir de la segunda o tercera semana, es posible la comprobación del bacilo en el contenido intestinal, porque en este tiempo los gérmenes son eliminados con las evacuaciones intestinales procedentes de las ulceraciones de los focos linfáticos del intestino delgado. La eliminación de gérmenes por las heces persiste, con frecuencia, durante semanas en la convalecencia, aun después de haber cesado la fiebre y desaparecidos todos los síntomas clínicos. En un reducido número de casos, del 1 al 3 %, esta eliminación se hace permanente a causa de la existencia de focos inflamatorios crónicos de las vías biliares, durando muchas veces todo el resto de la vida. La eliminación de bacilos por la orina coincide, por lo común, con el período de descenso de la fiebre, y próximamente, en el 25% de los casos, persiste la eliminación durante un cierto tiempo de la convalecencia, realizándose generalmente en gran cantidad (Petruschky); también en este caso puede hacerse permanente la eliminación a causa de la existencia de focos pielíticos. Aparte de esto, el bacilo tífico puede encontrarse también en todos los focos metastásicos, que pueden aparecer durante la infección en formas muy distintas, como en la roseola, en el pus de los abscesos, en las inflamaciones de las meninges y en los esputos procedentes de las afecciones pulmonares o de las amígdalas.

La presencia de anticuerpos en relación con el tiempo en que evoluciona la afección, obedece a leyes, como la distribución del germen en el organismo, según puede comprobarse principalmente por la reacción de Gruber-Widal, que suele no resultar positiva hasta la segunda semana, y ofrece la mayor intensidad aglutinante al final de la enfermedad, para empezar el descenso de la octava a la décima semana y desaparecer algunas semanas más tarde. Hay casos, sin embargo, en que la aglutinación persiste durante meses y a veces años enteros, siendo comprobable a titulaciones de 1 : 50 a 1 : 100. Esta regularidad en la extensión del germen, por una parte, y en la formación de anticuerpos por otra, así como el valor limitado de los métodos aislados, debe tenerse siempre en cuenta para obtener resultados exactos en el diagnóstico de la fiebre tifoidea y para apreciar en su justo valor los datos bacteriológicos. Carece de objeto, por ejemplo, y hasta puede inducir a error, contentarse, como alguna vez ocurre en la práctica, con un resultado negativo de la reacción de Widal o con un resultado también negativo del cultivo de heces o de orina para deducir, en esos casos, que no se trata de fiebre tifoidea. El resultado negativo de las investigaciones sólo puede ser concluyente cuando el material ha sido enviado en tiempo oportuno, es decir, por ejemplo, que no se recogió suero, heces u orina de los primeros días de la enfermedad, y además, en todo caso, deben repetirse los exámenes al menos tres veces. Las investigaciones deben realizarse con arreglo a los siguientes principios:

1. El hemocultivo ha de realizarse siempre con gran cantidad de sangre, por lo menos varios centímetros cúbicos, que se obtienen asépticamente por punción venosa en la flexura del brazo. La sangre extraída se siembra primero en bilis esterilizada, y a las veinticuatro horas, esta mezcla de sangre y bilis se resiembra en un medio sólido a fin de obtener colonias aisladas y proceder a la identificación de las sospechosas, según la técnica usual, indicada más adelante para las heces. Este método de enriquecimiento de los cultivos en bilis se debe, en primer término, a Kayser y Conradi; según sus investigaciones, la bilis de vaca estéril es un excelente medio para el bacilo tífico (relación de la fiebre tifoidea con la colecistitis) y es apropiada para el hemocultivo en enfermos sospechosos de fiebre tifoidea, porque la bilis impide la coagulación de la sangre. Esta actúa dificultando el desarrollo del bacilo, cuando se la mezcla al medio de cultivo en grandes cantidades. Conviene diluirla abundantemente, porque, de lo contrario, las propiedades bactericidas de la sangre impiden la germinación del bacilo.

La modificación introducida por P. Schmidt, que consiste en el empleo de un medio de caldo y bilis a partes iguales, representa un perfeccionamiento notable del método, porque de este modo la dilución de la sangre se hace en alto grado. Según este método, se toman unos 20 c. c. de sangre y se hace la siembra distribuyéndolos en tres matraces que contengan 50 c. c. de la mezcla de caldo y bilis, y de cada uno de estos tres cultivos previos se resiembra tres veces, a las doce, veinticuatro y cuarenta y ocho horas, con lo cual, practicada la investigación en las dos primeras semanas de la enfermedad, se obtiene casi siempre un resultado positivo, aunque, a veces, sólo se consigue en uno de los tres matraces, porque el bacilo tífico se encuentra frecuentemente en número muy escaso en la sangre.

La necesidad de diluir la sangre inmediatamente después de extraerla fué reconocida ya por Neufeld al hacer siembras de las roseolas. Para alcanzar éxito en este caso, lo mejor es colocar una gota de caldo sobre la roseola antes de extraer la sangre, y al salir ésta por escarificación, diluirla inmediatamente en el caldo; esta mezcla de sangre y caldo se utiliza para la siembra en medios sólidos. Desde que se ha perfeccionado el hemocultivo, apenas se emplea el cultivo directo de la roseola. Lo mismo puede decirse de la punción del bazo con fines diagnósticos, que casi en el 100 por 100 de los casos daba resultado positivo, pero que nunca llegó a generalizarse en la práctica por el peligro inherente a su ejecución, es decir, de la posibilidad de hemorragia y de desgarro del tejido.

2. Es mucho más difícil, y sólo produce resultado en un 30 % de los casos a lo sumo, el cultivo de las heces y de la orina, porque estos materiales, especialmente las heces, contienen casi siempre gran número de bacterias afines al bacilo tífico.

En los últimos años, se han recomendado muchos procedimientos de cultivo de heces, todos ellos con el fin de hacer posible la diferenciación inmediata de las colonias de bacilo tífico, de las de

colibacilo, que son muy semejantes, y de las de otras bacterias intestinales, así como el de permitir el desarrollo del bacilo tífico, impidiendo, en cambio, el de los demás gérmenes.

En el cuadro inserto más adelante (págs. 210 y 211), aparece en conjunto el resultado de los cultivos del bacilo tífico y de las especies semejantes en los distintos medios más corrientes. Desgraciadamente, para los cultivos de heces procedentes de casos de fiebre tifoidea, no contamos aún con un verdadero método de enriquecimiento que, de una manera análoga al cultivo previo del cólera en agua de peptona, permita crecer rápidamente el bacilo tífico y detenga el desarrollo de las bacterias que le acompañan. Los medios de cultivo usados generalmente para la diferenciación, obran todos según uno de los dos principios siguientes: 1.°, o bien se consigue diferenciar por el aspecto las colonias tíficas de las de otras bacterias gracias a una reacción colorante, de manera que las primeras se encuentren fácilmente, aunque estén en minoría, rodeadas de otras especies numerosas, y se las pueda obtener luego en cultivos puros; o, 2.°, al medio empleado se le añade una substancia que dificulte el desarrollo de las bacterias acompañantes, pero que consienta el crecimiento del bacilo tífico, aunque no pueda evitarse algún ligero perjuicio a su desarrollo. A continuación exponemos brevemente los medios de cultivo más usuales para el diagnóstico de la fiebre tifoidea, así como la manera de prepararlos y de emplearlos.

a) El agar con nutrosa, lactosa y tornasol, debido a Drigalski y Conradi, gracias a su gran concentración (3 % de agar en vez de 1'5 a 2 % del ordinario) y a la consiguiente consistencia, permite una extensión más minuciosa del material de estudio en la superficie del cultivo, con lo cual se favorece el desarrollo de los gérmenes en colonias aisladas no confluentes, especialmente si se ha tenido la precaución de evitar el agua de condensación dejando secar un momento la superficie del medio después de verterlo en la placa. Añadiendo cristal violeta, se impide el crecimiento de muchos gérmenes saprofitos, especialmente cocos, sin perjudicar aparentemente al bacilo tífico. La lactosa contenida en el medio es fermentada por la mayor parte de las razas de *bacterium coli*, pero no por el bacilo tífico, de suerte que éste crece en colonias de color azul violeta, transparentes, y de 1 a 3 milímetros de diámetro, mientras que las colonias de colibacilo aparecen como discos rojos de mayor tamaño y menor transparencia.

Para preparar dos litros de este medio se toman 1'5 kilogramos de carne de caballo picada y sin grasa, y se macera en dos litros de agua fría durante veinticuatro horas. Filtrada la maceración por un lienzo, con el que se exprime bien la carne, se hierve luego el filtrado durante una hora, y se le añaden 20 gramos de peptona de Witte, 20 gramos de nutrosa y 10 gramos de NaCl; se hierve de nuevo y se filtra. Al filtrado se le añaden de 60 a 70 gramos de agar bien divididos en pequeños trozos, que se disolverán hirviendo tres horas en el autoclave. Luego se neutraliza con solución de sosa (10 % de sosa anhidra) hasta que dé una reacción débilmente alcalina con el papel de tornasol. Después de hervir otra vez durante media hora, se filtra de nuevo, y dejándolo enfriar algo, se añaden las soluciones siguientes preparadas por separado: *a)* 300 c. c. de solución de tornasol de Kahlbaum (Berlín), hervir durante diez minutos, añadir luego 30 gramos de lactosa y después hervir otros diez minutos; *b)* solución estéril de sosa (10 % de sosa anhidra), en tal cantidad, que aparezca azul violeta la espuma que se forma al agitar la mezcla; *c)* 20 centímetros cúbicos de una solución reciente compuesta de 0'1 gramo de cristal violeta B (Höchst) en 100 c. c. de agua destilada esterilizada y caliente.

El medio, una vez terminado, no debe calentarse largo tiempo, porque variaría su color; por eso debe verterse en seguida, en disposición para usarse, sobre grandes placas de 15 a 20 cm. de diámetro (placas de Drigalski), o conservarlo en matraces de cabida no mayor de 200 c. c. cuya fusión no requiere calentarlos largo tiempo. Las placas de cultivo, después que el medio se solidifica, se secan

durante media hora a unos 37°. El material que se va a examinar (las heces consistentes deben diluirse con solución fisiológica estéril al 0'85 % de NaCl) se extiende sobre las placas por medio de la espátula de vidrio de Drigalski, que consiste en una varilla de vidrio acodada con el extremo redondeado. Se emplean tres o cuatro placas y se procura graduar la dilución de la siembra en las distintas placas, cambiando la espátula de vidrio y repartiendo cuidadosamente el material.



Fig. 102. Colonias tíficas y de colibacilos en placa de Endo. Colonias tíficas, incoloras; las de colibacilo, rojas

b) El medio de Endo, con sulfito de sodio y fucsina, ofrece la ventaja sobre el que acabamos de describir, de ser utilizable a la luz artificial, porque las diferencias de color son más notables que en el medio tornasolado. La reacción colorante que se verifica en este caso depende de que la fucsina añadida al medio, pero decolorada por el sulfito, se regenera en aquellos puntos en que se produce ácido libre por fermentación de la lactosa contenida en el medio de cultivo; por esta razón, las colonias tíficas que no fermentan la lactosa aparecen transparentes como el cristal, mientras que las de colibacilo son rojas, brillantes y opacas, y ofrecen además, con frecuencia, un brillo metálico, verdoso en la superficie. Para preparar el medio se toman dos litros de agar ordinario al 3 %, se neutralizan hasta el punto neutro del tornasol y se añade lo siguiente: *a)* 20 centímetros cúbicos de solución de sosa (10 % de sosa anhidra); *b)* 20 c. c. de lactosa en 100 c. c. de agua destilada hervida previamente durante diez minutos; *c)* 10 c. c. de solución alcohólica saturada de fucsina; *d)* 50 c. c. de sulfito de sosa al 10 %, recientemente preparado; las soluciones *c* y *d* deben mezclarse antes de añadirlas. El medio terminado tiene color rojo mientras está caliente, pero al enfriarse se decolora totalmente o casi por completo. Debe guardarse protegido contra la luz, porque con ésta toma rápidamente un color rojo. Su empleo es análogo al del medio anterior.



Fig. 103. Colonias tíficas y de colibacilo en placas de Drigalski-Conradi. Colonias tíficas, azules y transparentes. Colonias de coli, rojas

c) El cultivo previo en agar con verde malaquita, según Lentz y Tietz, se realiza en un agar ordinario al 3 % neutralizado a punto neutro del tornasol y enfriado a 50°, al cual se añade verde malaquita químicamente puro (Höchst) en proporción aproximada de 1 : 6000. Cuando se prepara una gran cantidad del medio debe probarse el verde malaquita antes de añadirlo, para fijar en cada

caso la dilución que, impidiendo todo lo posible el crecimiento de otras bacterias, dificulte al mismo tiempo, lo menos posible, el desarrollo del bacilo tífico. En este ensayo comparativo es conveniente emplear varias razas de bacilo tífico y de colibacilo. El cultivo en verde malaquita es doblemente ventajoso para el diagnóstico. En primer lugar, el bacilo tífico se desarrolla en él casi sin dificultad, en tanto que el crecimiento de las demás bacterias está grandemente impedido;

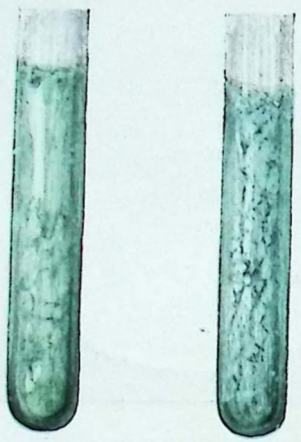


FIG. 104. Tubos verdes de LÖFFLER. *Bacterium coli*

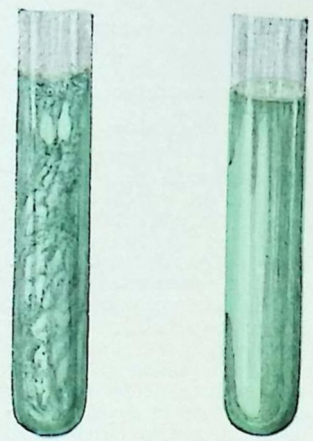


FIG. 105. Tubos verdes de LÖFFLER. Bacilo paratifus B

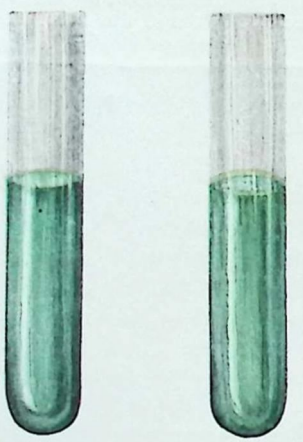


FIG. 106. Controles. Tubos verdes de LÖFFLER sin sembrar

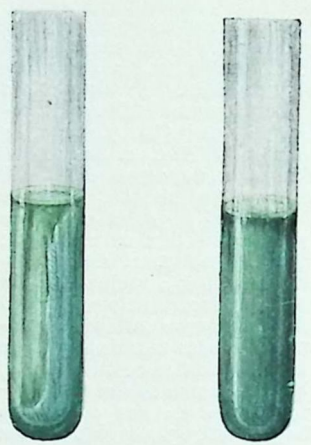


FIG. 107. Tubos verdes de LÖFFLER. Bacilo tífico

pero, además, las colonias tíficas adquieren la propiedad, muy ventajosa para el resto de la investigación, de separarse fácilmente del medio, y, en cambio, las colonias de los otros gérmenes están fuertemente adheridas. Por eso, si cubrimos la placa de verde malaquita con solución de NaCl durante unos minutos, agitándola ligeramente, y recogemos, luego, una gota del líquido que se reunirá inclinando la placa, encontraremos en ella una gran cantidad de bacilos tíficos, lo cual es ventajoso para las siembras posteriores en placas de ENDO o de DRIGALSKI.

Las colonias, desarrolladas en estos medios especiales, que ofrecen un aspecto semejante al de las tíficas, deben identificarse siempre por siembras ulteriores en los medios corrientes, pues hay razas paratíficas, disentéricas y ciertas bacterias intestinales, especialmente el *bacillus faecalis alcaligenes*, que pueden vegetar en la misma forma que el bacilo tífico. Al verificar esta identificación se concederá igual valor a las pruebas serológicas que a las de cultivo.

La investigación en las heces y en la orina debe realizarse de la manera siguiente :

α) Siembra de tres grandes asas de heces, que cuando son consistentes, deben diluirse antes con solución fisiológica esterilizada. El material se toma con una varilla de vidrio acodada y se restrega sobre una gran placa de verde malaquita (LENTZ y TIETZ), y luego con la misma varilla, sin pasarla por la llama, se restrega en dos placas ENDO y dos de DRIGALSKI. Si al cabo de veinticuatro horas no se presentan en estas cuatro placas colonias sospechosas, se vierten 5 c. c. de suero fisiológico sobre la placa de verde malaquita y se la mueve cuidadosamente durante dos minutos, con lo cual se separarán las colonias tíficas y paratíficas. Las colonias de coli que hayan podido separarse irán pronto al fondo por su mayor peso. De esta emulsión bacilar se siembran dos a tres asas en dos nuevas placas de ENDO y DRIGALSKI.

β) Examen de las colonias sospechosas, con respecto a su movilidad y mediante la aglutinación de orientación, con suero antitífico al 1 : 100 en gota pendiente o sobre el portaobjetos ; si es posible, antes de emitir un diagnóstico negativo, deben examinarse hasta seis colonias en cada caso.

γ) Examen de la movilidad y de la reacción química de las colonias consideradas como positivas o sospechosas, o sea :

aa) Cultivo en suero de leche tornasolado, preparado por la casa KAHLBAUM (Berlín) o con el artificial preparado según SEITZ.

bb) Cultivo en agar glucosado adicionado de rojo neutro.

cc) Cultivo en agua de peptona para la prueba del indol.

dd) En algunos casos, cultivos en las soluciones verdes de LÖFFLER, I y II. (Véase el cuadro de las págs. 210 y 211).

} Si es preciso, controles con bacilos tíficos, paratíficos, de disentería y coli.

δ) Valoración cuantitativa de la aglutinación específica con cultivo puro de veinte horas en tubos con diluciones decrecientes hasta el límite de titulación del suero, y controles con concentraciones de suero normal cincuenta veces mayores y con solución fisiológica. Examen del resultado por observación macroscópica o con lupa, lo más tarde a las dos horas.

Observaciones técnicas acerca de γ:

aa) Preparación del suero de leche tornasolado según SEITZ: a un litro de agua destilada se añaden 20 gr. de lactosa, 0'4 gr. de glucosa, 0'5 gr. de fostato disódico, 2 gr. de citrato sódico tribásico, 1 gr. de sulfato amónico, 5 gr. de cloruro de sodio, 0'05 gr. de peptona de WITTE, 0'25 gr. de azolitmina (KAHLBAUM). La solución se esteriliza, durante media hora a lo sumo, en el autoclave a 100°.

bb) El agar glucosado con rojo neutro contiene solamente 0'5 % de agar en lugar de 1'5 a 2 % que es lo corriente; además contiene 0'3 % de glucosa y 1 c. c. de solución acuosa de fucsina, saturada en frío, por cada 100 c. c.

cc) La prueba del indol se verifica por cualquiera de los dos procedimientos siguientes; según SALKOWSKI, a un cultivo puro en caldo, o mejor aún en agua peptonada, se le añade 1 c. c. de solución de nitrito potásico al 0'01 % recientemente preparada y 1 c. c. de H_2SO_4 puro y diluído. Si existe indol, a los cinco minutos el cultivo toma un color rojo cada vez más acentuado. Es más sensible todavía la prueba debida a EHRLICH, que consiste en añadir a 10 c. c. de cultivo en agua peptonada, 5 c. c. de cada una de las soluciones A y B, cuya composición es como sigue: Solución A: 4 gr. de paradimetilamidobenzoaldehído + 380 c. c. de alcohol de 96° + 80 c. c. de HCl concentrado; Solución B: solución acuosa saturada de persulfato potásico. Si existe indol, la mezcla se colorea en rojo al agitarla.

No debe olvidarse que todos los métodos empleados para la investigación del bacilo tífico en las heces o en la orina son de un valor práctico muy limitado, porque sólo puede analizarse una parte de las heces y el contenido de bacilos en ellas es con frecuencia muy escaso. El resultado negativo no demuestra nada, por consiguiente, contra la posibilidad de que se trate de fiebre tifoidea. Para obtener una absoluta certeza en este sentido, debe repetirse el análisis, por lo menos, tres veces. Cuando se tiene la sospecha de un caso de portador de gérmenes debe repetirse el examen con gran frecuencia (véase pág. 66).

3. La sero-reacción de un enfermo sospechoso, por la prueba específica de aglutinación con un cultivo tífico indudable (reacción de GRUBER-WIDAL), es uno de los medios auxiliares más importantes en la práctica para el diagnóstico bacteriológico de la fiebre tifoidea, porque esta reacción, a partir de la segunda semana, da resultados positivos en el 90 % de los enfermos, y, por otra parte, es muy raro, cuando no se trate de casos de fiebre tifoidea, un resultado positivo, como no sea por efecto de haber sido vacunado el individuo contra dicha infección.

La reacción de GRUBER-WIDAL se ejecuta de la manera siguiente:

El suero del enfermo se diluye en solución fisiológica en proporciones de 1 : 50, 100, 200, y a 1 c. c. de cada una de estas diluciones se añade un asa de un cultivo de veinticuatro horas en agar, tífico o paratífico, según los casos.

El examen macroscópico o con lupa, se practica después de haber mantenido durante dos horas los tubos en la estufa a 37°. El resultado es positivo, cuando la dilución de 1 : 100 presenta una aglutinación marcada. La aglutinación al 1 : 50 no se considera positiva, pero acentúa la sospecha de fiebre tifoidea, y es una indicación para repetir el análisis.

En la reacción de aglutinación es indispensable trabajar cuantitativamente y con exactitud; además, no es indiferente la raza y edad del cultivo, y por último, en casos de duda, deben hacerse pruebas comparativas con los paratifus y otras bacterias semejantes al germen tífico.

El resultado positivo es de gran valor para el diagnóstico de fiebre tifoidea, pero el negativo no la excluye. En todo caso, este diagnóstico serológico es el complemento esencial de los métodos de cultivo descritos anteriormente. En nuestros días, especialmente en las circunstancias creadas por la guerra, la reacción GRUBER-WIDAL ha perdido gran parte de su significación para el diagnóstico, porque en

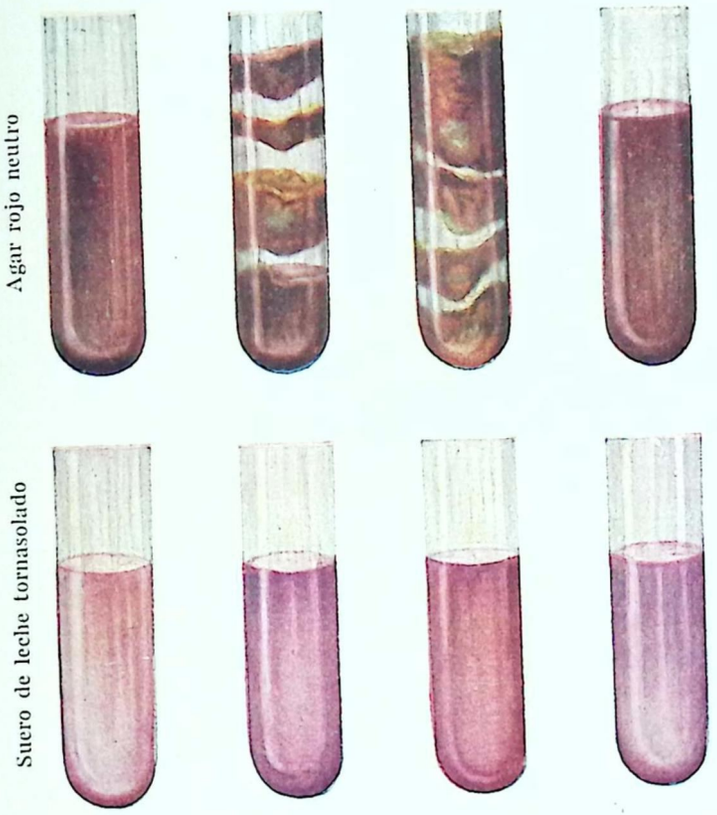


FIG. 108. Reacción química de bacilo tífico, Bac. paratifus B y colibacilo

los individuos a quienes se aplica la vacuna preventiva contra la fiebre tifoidea, vacuna compuesta de bacilos tíficos muertos, se forman aglutininas en la sangre a consecuencia del proceso de inmunización. En estos casos sólo será decisivo para el diagnóstico el aislamiento de bacilos tíficos de las heces, la orina o la sangre del enfermo.

Hay enfermedades, especialmente algunos casos de ictericia, en las que puede observarse una aglutinación positiva de grado bastante elevado, por lo cual es preciso suma prudencia al diagnosticar casos dudosos de fiebre tifoidea.

Todos los demás métodos de serodiagnóstico, tales como la comprobación de substancias bactericidas *in vitro*, según NEISSER y WECHSBERG, la reacción de PFEIFFER, la fijación del complemento, así como la investigación de precipitinas y opsoninas, son menos empleados en la práctica del diagnóstico del tifus abdominal, porque son más complicados y no ofrecen mayores garantías que la sero-reacción de WIDAL.

Para completar cuanto se refiere al germen de la fiebre tifoidea expondremos brevemente la investigación del bacilo tífico en el agua, que de ordinario ofrece grandes dificultades. El método de la siembra directa en placas no es práctico, a pesar de que KUBLER y NEUFELD han conseguido de este modo la demostración del germen, porque a causa del escaso número de gérmenes que acostumbra haber en las aguas, no suele dar resultado.

El procedimiento más seguro consiste en analizar una gran cantidad de agua y sobre todo el lodo del fondo, pues los bacilos de la fiebre tifoidea se mantienen vivos bastante tiempo en el mismo. El análisis puede hacerse investigando directamente el agua, precipitando los gérmenes, o añadiéndole antes substancias que siendo favorables al desarrollo y multiplicación del bacilo tífico, se opongan al mismo tiempo al crecimiento de los gérmenes saprofíticos del agua.

A continuación indicaremos brevemente algunos procedimientos de precipitación por substancias químicas.

1) Precipitación según SCHUDER y VALLET. Se toman dos litros del agua que se quiere examinar y se les añaden 20 c. c. de una solución de hiposulfito sódico al 7'75 %. Si añadimos luego 20 c. c. de solución de nitrato de plomo al 10 %, se forma un copioso sedimento con el que se habrán precipitado también los bacilos tíficos. Si es necesario se centrifuga o se deja depositar durante dos a tres horas. El sedimento se agita fuertemente con 14 c. c. de una solución de hiposulfito de sosa al 100 % y se vierte en un tubo de ensayo, en cuyo fondo se depositan en seguida las substancias insolubles. Del líquido claro que queda encima se siembran 0'2 á 0'5 c. c. en placas de ENDO y de DRIGALSKI-CONRADI, que servirán para las investigaciones posteriores.

2) FICKER añade a dos litros de agua 8 c. c. de una solución de sosa cristalizada al 10 %, y 7 c. c. de solución de sulfato de hierro también al 10 %. El precipitado que aparece a las tres horas de dejar la mezcla en la nevera, se disuelve en una solución de tartrato potásico neutro y luego se siembra en placas.

3) MÜLLER añade 5 c. c. de la solución de percloruro de hierro a 3 litros de agua. El sedimento que se forma se siembra en placas sin disolverlo previamente.

4) Además de la precipitación química se ha ensayado también la aglutinación y precipitación de los bacilos tíficos contenidos en un agua sospechosa añadiéndole un suero antitífico de gran poder aglutinante. Se toman 10 a 20 c. c. de agua sospechosa, se mezcla con 50 c. c. de caldo y la mezcla se deja veinticuatro horas en la estufa a 37°. Después de filtrar el caldo por algodón en un vaso especial de centrifugación, se añade el suero aglutinante, y para favorecer la aglutinación, se mantiene la mezcla dos o tres horas en la estufa, al cabo de las cuales se centrifuga moderadamente, y el sedimento se utiliza para los cultivos, como antes hemos dicho (SCHEPILEWSKI).

Los procedimientos de CAMBIER, WEILL-HALLÉ y otros consisten en separar las bacterias coexistentes con el bacilo tífico aprovechando la intensa movilidad de éste, que le permite pasar rápidamente por un filtro de bujía de porcelana (CAMBIER) o de arena (WEILL-HALLÉ) y procediendo al cultivo e investigaciones consiguientes del filtrado.

10. Bacilos paratíficos

En el año 1896 ACHARD y BENSAUDE encontraron, en enfermedades muy parecidas a la fiebre tifoidea, bacilos semejantes al tífico, pero que se diferenciaban claramente de éste por algunas propiedades de los cultivos. Algunos años más tarde, SCHOTTMÜLLER y KURTH comprobaron la exactitud de esta observación. Estas bacterias, distintas del verdadero bacilo tífico por su comportamiento en los cultivos, por su acción patógena y por sus propiedades de inmunización, se denominaron bacilos paratíficos. Investigaciones posteriores, especialmente las de UHLENHUTH y sus discípulos, vinieron a demostrar que también las intoxicaciones por las carnes, acompañadas de fiebre, debían atribuirse a infecciones de bacilos paratíficos.

Los bacilos paratíficos pertenecen a un grupo en el cual están incluídos también el bacilo de la peste porcina, el del tifus de los ratones, el de la psitacosis y determinadas bacterias de intoxicaciones por las carnes. Entre los bacilos paratíficos patógenos para el hombre se distinguen el paratifus A (BRION-KAYSER, 1902), que suele ser muy raro, y el paratifus B, más frecuente (SCHOTTMULLER). Ambos tipos se diferencian del bacilo tífico, especialmente por la propiedad común que ambos reúnen de fermentar la glucosa con formación de gases.

El bacilo A es un tipo intermedio entre el tífico y el paratífico B. Su diferenciación se consigue por los cultivos y por las reacciones de inmunidad (véase el cuadro de las págs. 210 y 211). En cuanto a su acción patógena en los animales, es muy semejante a la del bacilo de la fiebre tifoidea, y de igual modo el paratifus A del hombre es muy semejante, clínicamente, al tifus propiamente dicho.

También el paratífico B se semeja extraordinariamente al bacilo tífico por sus propiedades morfológicas y colorantes; su movilidad es todavía más viva, y en gota pendiente recuerda alguna vez la de los vibriones.

La resistencia del bacilo paratífico a los agentes exteriores es bastante grande; soportan durante diez a veinte minutos una temperatura de 70°. Esta circunstancia es de interés en lo que respecta al contagio por las carnes infectadas, porque los grandes trozos de carne, al cocerlos o asarlos, rara vez alcanzan en su interior temperaturas superiores a 70°.

A diferencia del bacilo tífico, el paratífico es patógeno en alto grado para diversas especies de animales como ratones, cobayos y conejos. Razas muy virulentas matan los cobayos, siendo suficiente para ello una inyección intraperitoneal de 1/1000000 de asa o de 1/50 en inyección subcutánea. La virulencia del bacilo paratífico se puede aumentar de tal modo por el paso en animales, que los ratones llegan a morir si lo toman con el alimento. Los animales mueren con el cuadro de la septicemia.

El diagnóstico bacteriológico comprende, como en la fiebre tifoidea, el análisis de las heces, la orina y la sangre, y en algún caso, de la sangre obtenida por escarificación de la roseola. Todos los procedimientos de cultivo, expuestos en el capítulo FIEBRE TIFOIDEA, son aplicables al bacilo paratífico, e igualmente las reacciones de inmunidad descritas en el mismo capítulo. (Véase págs. 210 y 211.)

El suero de los enfermos paratíficos posee la propiedad de aglutinar el bacilo tífico y, viceversa, el suero antitífico aglutina los bacilos paratíficos. Este fenómeno recibe el nombre de *aglutinación de grupo* (coaglutinación). En muchos casos, para determinar la naturaleza de la infección, hay que recurrir a una titulación cuantitativa muy exacta del suero con el bacilo tífico y con los paratíficos. En los casos dudosos, es decisiva la prueba de CASTELLANI, que consiste en saturar el suero con bacilos tíficos, centrifugar, y luego investigar la aglutinación del centrifugado con los bacilos paratíficos; si éstos son todavía

Diferenciación de las bacterias de los grupos tífico,

Medios	Drigalski-Conradi	Rojo congo	Bitter	Endo	Suero de leche tornasolado
Composición	Agar + nutrosa + lactosa + tornasol + cristal violeta	Agar + lactosa + rojo congo	Agar + lactosa + azul china	Agar + lactosa + fucsina y sulfito sódico	Suero + tornasol
B. Disentérico (Kruse-Shiga)	azul transparente	rojo transparente	incoloro transparente	incoloro transparente	ligeramente rojo, claro
B. Seudo-disentérico	id.	id.	id.	id.	id.
B. Tífico	id.	id.	id.	id.	id.
B. Paratifus A	azul, pero menos transparente	id.	id.	id.	id.
B. Paratifus B (grupo del)	azul ligeramente turbio	rojo, pero menos transparente	incoloro y menos transparente	incoloro y menos transparente	ligeramente rojo, pero algo turbio : a los pocos días, a veces a las 24 horas, azul
B. Coli	rojo	negro azulado	azul	rojo con brillo de fucsina	rojo intenso y turbio

[1]) No todas las razas de *bacterium coli* dan todas estas reacciones positivas, pues hay algunas en que pueden faltar una o varias de las reacciones.

coli y disentérico, en medios de cultivo especiales

Leche	Agar y caldo glucosados	Agar rojo neutro	Solución verde de Löffler I	Solución verde de Löffler II	Movilidad	Formación de indol
—	—	Agar + glucosa + rojo neutro	Agua de peptona + nutrosa + glucosa + lactosa	Agua de peptona + nutrosa + lactosa	—	—
invariable	no forma gas	decoloración, no forma gas	invariable	invariable	inmóvil	no forma indol
id.	id.	id.	id.	id.	id.	indol
id.	id.	id.	coagulación sin gas	id.	muy movible	no forma indol
id.	formación de gas	gas y decoloración (fluorescencia)	coagulación con gas	id.	id.	id.
algo aclarada	id.	id.	id.	algo aclarada y más tarde de color amarillo	id.	id.
coagulación	id. [1])	id. [1])	id. [1])	coagulación e intensa formación de gas	id.	indol [1])

aglutinados, se tratará de una infección paratífica con coaglutinación del bacilo tífico. Recordemos, además, que se ha demostrado la existencia de casos de infección mixta, tífica y paratífica, en un mismo enfermo. Para aclarar estos casos hay que recurrir a los cultivos.

Acerca de la formación de toxinas podría repetirse lo dicho respecto del bacilo tífico. Sin embargo, según SCHOTTMULLER, los cultivos en caldo, hervidos, pueden matar al cobayo por inyección intraperitoneal, y hacerle enfermar por ingesta. Por consiguiente, el bacilo paratífico forma en los medios de cultivo una toxina resistente al calor. La infección paratífica confiere inmunidad al hombre por largo tiempo. De igual manera, inoculando en los animales receptivos dosis pequeñas no mortales de gérmenes muertos, se consigue inmunizarlos contra la acción de gérmenes vivos inyectados a dosis cuádruples de la mortal. En el suero de los animales inoculados aparecen, como en el hombre después de la infección espontánea, aglutininas y bacteriolisinas utilizables para diferenciar e identificar los bacilos paratíficos.

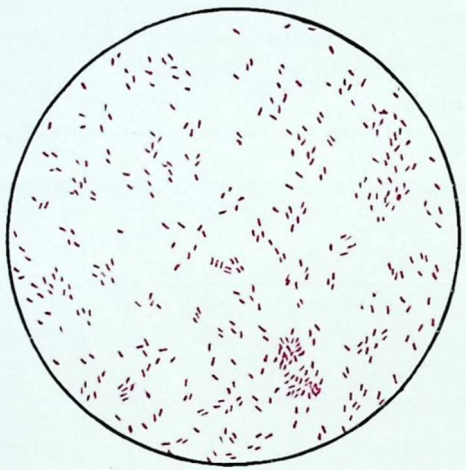


FIG. 109. B. *enteritidis* (GARTNER). Cultivo puro. Coloración con fucsina fenicada diluída (1 : 500)

Según las investigaciones de UHLENHUTH y sus discípulos, el grupo paratífico abarca un gran número de bacterias muy extendidas en nuestro ambiente y que no pueden ser diferenciadas del paratifus B, ni morfológicamente ni mediante cultivos. A esta clase pertenecen el bacilo de la peste porcina, que se encuentra normalmente en el intestino del cerdo sano, y además otras especies encontradas en los embutidos, carnes de vaca y de cerdo sacrificados precipitadamente por estar enfermos, en la leche y en el agua. También pertenecen al grupo paratífico, los gérmenes de la disentería de las terneras, de la enteritis de los bóvidos y del tifus de los ratones.

La seroterapia del paratifus no se ha intentado todavía ; en cambio, ha sido recomendada por VINCENT una vacuna del mismo tipo que la antitífica. También se preparan vacunas combinadas de bacilo tífico y paratíficos A y B, debidas a CASTELLANI y otros, que han encontrado aplicación práctica.

Dentro del grupo paratífico ocupan una situación especial los bacilos de la enteritis (tipo GARTNER, 1888), los cuales no se diferencian del bacilo paratífico ni por su morfología, ni por los cultivos ; pero,

en cambio, no son aglutinados por el suero antiparatífico, así como, a la inversa, un suero específico de enteritis no aglutina tampoco los bacilos paratíficos. Es de notar, por lo contrario, que el suero de GARTNER coaglutina con frecuencia el bacilo tífico. El *bacilo enteritidis* de GARTNER es, con frecuencia, la causa de las intoxicaciones alimenticias, especialmente por las carnes de animales sacrificados por necesidad. El *bacilo enteritidis* produce toxinas muy activas, que determinan síntomas clínicos de envenenamiento, vómitos, etc.

Otro microbio perteneciente a este grupo, que puede dificultar algunas veces el diagnóstico diferencial de la fiebre tifoidea, es el *bacillus faecalis alcaligenes* (PETRUSCHKY), que se encuentra ordinariamente en las heces de los niños de pecho, y con frecuencia también, en las de los adultos. Este bacilo se parece al tífico por sus propiedades morfológicas y de cultivo, así como por su movilidad. Sus colonias en agar lactosado y tornasolado presentan un color semejante a las de los bacilos del grupo tífico, pero se diferencian de ellos por la formación de álcalis en el suero de leche tornasolado, por su crecimiento semejante al del vibrión del cólera en el agar alcalino con sangre, según DIEUDONNÉ, y por las reacciones específicas de inmunidad. También este bacilo parece ejercer alguna vez efectos patógenos, y hay casos en que se le ha encontrado por hemocultivo.

11. Bacterium coli

Bajo el nombre de *bacterium coli* no debe entenderse una especie bien definida, sino todo un grupo de bacilos, afines, por un lado, de los grupos tífico y paratífico, y de los grupos aerógenes y disentérico, por otro. El *bacterium coli* y los bacilos tífico y paratífico ofrecen la propiedad común de ser movibles, mientras que el bacilo aerógenes y el de la disentería no lo son, aunque coinciden con los enumerados del otro grupo en muchas de sus propiedades de cultivo.

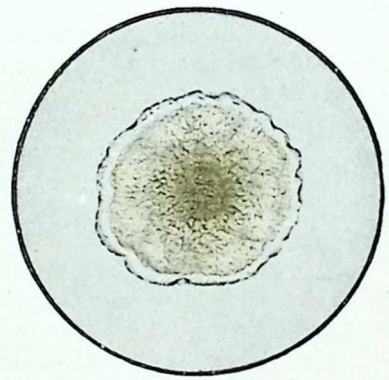


FIG. 110. Colonia de *bacterium coli*. (aumento 1 : 40)

El *bacterium coli commune* (ESCHERICH) se encuentra en abundancia en el intestino de todas las personas y, por su propiedad de desdoblar los hidratos de carbono y las albúminas, desempeña un papel importante en la digestión intestinal, que normalmente consiste en limitar los fenómenos de putrefacción. Sin embargo, algunas razas de colibacilo pueden ejercer acción patógena, según veremos más adelante.

El *bacterium coli* es un bastoncito grueso, corto, recto y con los extremos redondeados, que no se tiñe por el método de GRAM y que posee flagelos finos, cortos y perítricos ; su movilidad es muy variable en intensidad, pero no llega nunca a la del bacilo tífico.

El cultivo se consigue sin dificultad, tanto a la temperatura ambiente como en la estufa.

En las placas ordinarias de gelatina aparecen las colonias más compactas y espesas que las de los bacilos tíficos. Las colonias superficiales aparecen también en forma de discos opacos y, cuando presentan la forma de hoja de parra, como sucede con las colonias tíficas, su dibujo es menos característico. Los cultivos en agar se parecen también a los del bacilo tífico, pero las colonias son generalmente mayores y más espesas y, a la luz refleja, ofrecen muchas veces irisaciones. Los caracteres diferenciales entre los cultivos del bacilo tífico y del colibacilo en medios especiales están expuestos en el cuadro de las páginas 210 y 211.

Eijkmann, entre otros, pudo demostrar que entre las razas de colibacilos existentes en el intestino de los animales de sangre caliente y los que se encuentran en el de los de sangre fría, se observa, en la mayor parte de los casos, la diferencia de que los colibacilos procedentes de los animales de sangre caliente, fermentan la glucosa, aun a temperaturas de 46°, mientras que los que proceden de animales de sangre fría, únicamente presentan esta propiedad a temperaturas más bajas.

La virulencia del colibacilo ensayada en los animales no es la misma para todas las razas de este germen. Mediante una inyección intraperitoneal de 1/10 a 1/5 de asa de cultivo en agar, mueren los cobayos con síntomas de peritonitis e hipotermia a consecuencia de las toxinas contenidas en el cuerpo de los bacilos. Los gérmenes se extienden por todos los órganos.

La aglutinación no sirve para diferenciar las distintas razas de colibacilos.

Si el colibacilo desempeña el papel de un epifito inofensivo, como habitante del intestino, ello se debe, evidentemente, a su acomodación a las propiedades del medio intestinal. Pero, si es trasladado desde el intestino a otros órganos, puede desarrollar entonces su acción patógena. Entre las infecciones colibacilares, la más frecuente es la colecistitis; merecen citarse, además, la infección de las vías biliares, la pielitis, la cistitis, la peritonitis purulenta y los abscesos periuretrales y perimetríticos.

En las septicemias colibacilares, la mejor manera de obtener cultivos del germen es hacer siembras con sangre extraída en el momento de los escalofríos.

En infecciones sépticas fué aislado repetidas veces por Schottmuller un colibacilo que tenía propiedades hemolíticas, por lo que recibió el nombre de *bacterium coli haemolyticum*.

El *bacterium coli* tiene gran semejanza con el *bacillus aerogenes*. Es éste un bacilo completamente inmóvil, corto y grueso, que presenta con frecuencia una cápsula más o menos marcada, y que por ello le ha valido el adjetivo de capsulado. Por lo demás, su crecimiento en placas de gelatina y en otros medios sólidos es análogo al del colibacilo; en las placas de gelatina, sin embargo, forma generalmente colonias espesas, blancas y con brillo aporcelanado. El *bacillus aerogenes* se halla siempre en el intestino; también se encuentra muy a menudo en la leche (a la cual puede llegar al ordeñar, mezclado con el estiércol) y en la que al producir ácido láctico levogiro da lugar a la coagulación del líquido. Como germen patógeno se le encuentra alguna vez en las inflamaciones de la vejiga.

12. Bacilos de la disentería

Las investigaciones bacteriológicas de la disentería, enfermedad endémica en los países de clima cálido, alcanzaron feliz resultado por primera vez en 1898. Shiga consiguió aislar de las heces de los enfermos de disentería japonesa un bacilo hasta entonces desconocido, comprobando por la inoculación en animales y por sus reacciones de inmunidad que se trataba del germen de la disentería. En el año 1900, Kruse demostró que también la disentería alemana era debida al mismo bacilo, y dió una descripción exacta y completa del germen, rectificando el error de Shiga, que le había considerado dotado de movimiento, cuando la inmovilidad es una condición característica del bacilo disentérico. Es, pues, lógico llamar al germen de la disentería bacilo de Kruse-Shiga. Estos descubrimientos fueron prontamente confirmados en América y en Manila. Pero, por investigaciones posteriores, se logró demostrar que la disentería no era producida por una sola especie de bacterias, sino que en ella intervienen diversos gérmenes afines, los cuales difieren del tipo Kruse-Shiga, ante todo, por lo que respecta a la formación de toxinas, y también por sus reacciones de inmunidad y por las reacciones químicas de los cultivos.

Estas bacterias son: el bacilo de Flexner, el bacilo Y (His y Russel) y el bacilo de Strong.

Kruse comprende estos tres bacilos bajo el nombre común de bacilos seudodisentéricos, pero Lentz los considera como especies diferentes por razón de su distinta capacidad fermentativa respecto a los azúcares. Los bacilos seudodisentéricos forman un grupo completo, que comprende una serie de tipos afines denominados por letras desde A hasta H, cuyos efectos patógenos en el hombre no son tan graves como los producidos por el bacilo de Kruse-Shiga, que aparece en forma de grandes epidemias. La seudodisentería es más benigna, y suele limitarse en determinados grupos sociales (niños, soldados, reclusos en manicomios, etc.), a una especie de catarro intestinal.

Todos los tipos de bacilos disentéricos son bastoncitos más cortos y gruesos que el bacilo tífico y que con facilidad se distinguen de éste por carecer de movimiento propio. El intenso movimiento molecular de los bacilos disentéricos puede ser interpretado fácilmente por bacteriólogos poco prácticos como un movimiento propio de los mismos. El bacilo disentérico se tiñe fácilmente con los colores de anilina ordinarios y no se colorea por el método de Gram. No tiene flagelos ni esporos.

La temperatura de crecimiento óptima es la de 35°; el oxígeno acelera su desarrollo, aunque puede desarrollarse en condiciones anaerobias. Las colonias en gelatina son semejantes a las del bacilo tífico y presentan la misma forma de hojas de parra; en las placas de agar, las

colonias finas y transparentes del bacilo disentérico se distinguen con facilidad de las del colibacilo. Es digno de notar también el olor a esperma que se desprende de los cultivos.

En el cuadro de las páginas 210 y 211 están expuestas las características de los bacilos disentéricos en los diversos medios de cultivo empleados, para el diagnóstico diferencial de estos gérmenes y los del grupo tífico.

Los bacilos disentéricos son menos resistentes a las influencias de los agentes exteriores que los del grupo tífico. La desecación acaba pronto con ellos ; en cambio, se mantienen durante meses en el interior de capas espesas, cuando la desecación no es completa ; en el agua viven de cinco a nueve días. Las heces deben analizarse lo más pronto posible, porque, con frecuencia, al cabo de algunas horas, han muerto todos los bacilos disentéricos y el cultivo ya no puede dar resultado. Los desinfectantes ordinarios los matan en poco tiempo. La acción de la temperatura de 53° durante una hora los mata con seguridad. En cambio, son bastante resistentes al frío.

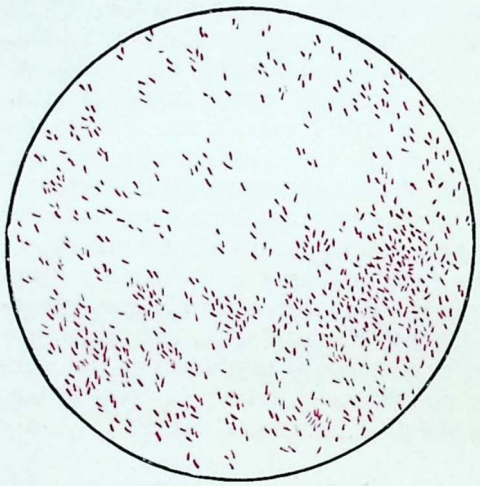


Fig. 111. Bacilo disentérico. Cultivo puro. Coloración con fucsina fenicada diluída (aumento 1 : 500)

Entre los tipos enumerados, el de Kruse-Shiga se diferencia de los demás, porque éstos son pobres en toxinas, mientras que aquél forma toxinas solubles, que producen efectos mortales en los animales aun a pequeñas dosis, ocasionándoles lesiones en el intestino delgado, en el colon, en el ciego y en los centros nerviosos, según puede comprobarse en la autopsia. Las toxinas de la disentería, como hemos dicho, son solubles y pueden separarse de los cultivos por filtración. Resisten bastante el calor, pues ha de elevarse la temperatura por encima de 80° para hacerlas inactivas.

Hasta ahora no se ha logrado producir la disentería típica en los animales, mezclándoles con la comida cultivos puros de disentería. En los tejidos de los animales de gran tamaño, los bacilos disentéricos perecen pronto. En cambio, las inyecciones subcutáneas, intravenosas o intraperitoneales de bacilos vivos, y aun de bacilos muertos, pero en gran cantidad, les producen síntomas que deben atribuirse a la acción de las toxinas. En el hombre, pequeñas cantidades de bacilos muertos obran tóxicamente, dando lugar a fiebre elevada y dolores de cabeza y de los miembros, así como a fenómenos inflamatorios en

el sitio de la inyección ; por eso no puede realizarse la vacuna preventiva de bacilos muertos como la que se emplea contra la fiebre tifoidea.

Como los bacilos disentéricos no se encuentran en la sangre ni en la orina del enfermo, el único material de investigación utilizable para el diagnóstico son las heces o el contenido intestinal en los cadáveres.

1. Para el cultivo de las heces se emplean en primer lugar, si es que existen, las porciones mezcladas con mucosidades ; se toma con el asa de platino una pequeña cantidad de éstas y se lavan varias veces en agua esterilizada, o mejor aún en solución fisiológica, para separar en lo posible las bacterias extrañas, después de lo cual se hace la siembra en placas de agar lactosado y tornasolado, preparado según Drigalski, pero sin adición de cristal violeta.

2. Después de diez y seis a veinticuatro horas de permanencia en la estufa a 37°, se realizan con las colonias azules y transparentes las siguientes investigaciones :

a) Inmovilidad en gota pendiente.

b) Aglutinación de orientación en gota pendiente o en portaobjetos con sueros de Kruse-Shiga, Flexner y suero Y, o con los sueros seudodisentéricos tipos A hasta H (1 : 30) (se emplea una concentración tan elevada del suero en la aglutinación de orientación de la disentería, porque si no la reacción es muy lenta y puede escapar a la observación).

} Examinar hasta seis colonias en cada caso.

3. Las colonias con las que se obtenga aglutinación positiva, deben sembrarse en agar inclinado para investigar ulteriormente las reacciones químicas de los cultivos, como para el bacilo tífico.

4. Aglutinación cuantitativa del cultivo sospechoso de disentería con sueros de gran valor aglutinante (Kruse-Shiga, Flexner e Y). La casa Bram & Co., de Leipzig, prepara sueros seudodisentéricos de los tipos más frecuentes A, D, E y H, según la nomenclatura de Kruse. No deben suprimirse los controles con suero normal (aglutinación espontánea).

Hemos de hacer resaltar que los sueros antidisentéricos obtenidos de distintas razas dan aglutinaciones de grupo en la mayor parte de los casos. Así, por ejemplo, un suero Kruse-Shiga con titulación de 1/1000 puede aglutinar razas de Flexner en proporciones de 1/100 ó de 1/200, y un suero Flexner con titulación de 1/1000 puede aglutinar también razas de Kruse-Shiga hasta el 1/200. Por esto, para establecer el diagnóstico, cuando se quiere determinar con exactitud el tipo de la bacteria, es indispensable apurar el valor aglutinante del suero hasta el límite de su titulación. Haciéndolo así, sólo en las grandes diluciones de suero se obtendrá la aglutinación con el tipo de bacilos a que corresponda al suero específicamente. Si fuese necesario, se recurre a la prueba de Castellani para separar las especies bacterianas.

5. El agar tornasolado adicionado de manita, maltosa y sacarosa constituye otro medio de diferenciación para los distintos tipos de

bacilos disentéricos. En este medio, sólo las razas jóvenes y recién obtenidas del organismo ponen de manifiesto diferencias patentes.

El agar ordinario débilmente alcalino se mezcla, según KUTSCHER, con 12 a 15 % de solución de tornasol de KAHLBAUM, y 1 % de la clase de azúcar correspondiente y para su empleo se reparte en placas.

Las variaciones características del medio de cultivo para los diversos tipos se exponen en el siguiente cuadro, según LENTZ:

Agar tornasolado con	Aparece en el cultivo del bacilo			
	KRUSE-SHIGA	Y	FLEXNER	STRONG
Manita	azul	rojo	rojo	rojo
Maltosa.....	azul	azul	rojo	azul
Sacarosa	azul	azul	azul	rojo

Pero las diferencias entre los bacilos seudodisentéricos no son constantes y varían considerablemente en cultivos repetidos, por lo cual KRUSE discute la utilidad de este método para el diagnóstico diferencial.

También en la disentería aparecen en el suero del enfermo aglutininas, que se han utilizado para el diagnóstico. Suelen formarse, lo más pronto, después de transcurrida la primera semana de enfermedad. Para establecer el diagnóstico de disentería sólo debe considerarse concluyente la aglutinación en gruesos grumos del bacilo de KRUSE-SHIGA en el término de dos horas con diluciones de 1 : 50, por lo menos. Para los bacilos seudodisentéricos (FLEXNER e Y), actuados con frecuencia por el suero normal, sólo tiene valor la aglutinación en grandes diluciones, desde el 1 : 200, y aun entonces únicamente demuestra que se trata de algunas de las formas de seudodisentería, pero sin que pueda determinarse el tipo microbiano causante de la infección. Para precisarlo, únicamente tiene valor el resultado obtenido por el cultivo de las heces.

Además de las aglutininas, aparecen en el suero sanguíneo precipitinas, anafilaxinas, bacteriolisinas, tropinas, antitoxinas y substancias que fijan el complemento, las cuales no se han utilizado aún en la práctica para el diagnóstico de la disentería.

Ya hemos indicado que, en la práctica, es irrealizable el empleo de una vacuna preventiva de la disentería, por inoculación de bacilos muertos, en forma semejante a la vacuna antitífica, a causa de los desagradables efectos de la toxina disentérica. Por esta razón se ha intentado la inmunización activa por el método «simultáneo», recomendado por SHIGA, consistente en la inyección de suero antidisentérico mezclado con $^1/_2$ asa de cultivo muerto, y la repetición a los pocos días de otra inyección del cultivo solo sin suero, la cual se soporta ya sin reacción intensa.

Se ha empleado también la inmunización pasiva, por inyección de suero antidisentérico solamente; pero en este caso la inmunidad es de muy corta duración, no superior a diez o doce días.

La seroterapia antidisentérica con sueros de gran valor antitóxico ha alcanzado indiscutible éxito, siempre que ha sido aplicada pronto y en grandes dosis, de 20 a 30 c. c. en casos leves y de 80 a 100 c. c. en los graves, repitiendo la inyección en caso necesario. Con el empleo de la seroterapia en la disentería de KRUSE-SHIGA, la cifra de mortalidad, que antes variaba entre 10 a 50 %, según la gravedad de la epidemia, ha descendido a 0'5 a 5 %.

13. Bacilos capsulados patógenos

Según hemos indicado anteriormente, en ocasiones se encuentra como germen de la neumonía del hombre un bacilo capsulado, el *bacillus pneumoniae* de FRIEDLANDER. Este germen es un bacilo corto y sin movimiento, que se tiñe fácilmente con los colores de anilina y da resultado negativo con la coloración de GRAM (véase figuras de la página 161). A veces se observan los bacilos dispuestos uno tras otro formando cadenas o filamentos. Su cultivo se consigue en todos los medios ordinarios; el crecimiento se verifica en colonias redondeadas, blanquecinas, húmedas, con brillo grasiento y formación abundante de mucílago. En medios que contengan glucosa se forman gases y ácidos. A diferencia del neumococo, el bacilo de FRIEDLANDER se muestra bastante resistente frente a los agentes exteriores.

En el ratón, que es muy receptivo a esta infección, el germen forma cápsulas, que pueden teñirse por los procedimientos ordinarios (véase página 16).

El bacilo de FRIEDLANDER tiene mucha semejanza, morfológica y biológicamente, con el bacilo descrito por ABEL como agente del ocena, y con el germen (?) del rinoescleroma, afección crónica de la mucosa nasal con formación de nódulos.

14. Grupo de bacilos de la septicemia hemorrágica

Comprende un número de bacilos patógenos que, como indica su nombre, producen en los organismos infectados una septicemia generalmente muy aguda y con tendencia a las hemorragias. A este grupo pertenece el bacilo de la peste bubónica del hombre, así como los gérmenes de una serie de epizootias, como el cólera de las gallinas y otras. Los bacilos pertenecientes a este grupo se denominan en la nomenclatura francesa con el nombre común de *pasteurella* y las infecciones que producen *pasteurellosis*. En sus propiedades morfológicas y de cultivo presentan todos estos bacilos los caracteres comunes siguientes: forma oval, coloración polar con vacuola central sin teñir, resultado negativo a la coloración de GRAM, falta de movilidad, y formación en la gelatina, aunque sin llegar a liquidar ésta, de colonias superficiales, en forma de cutículas. Tienen relaciones de afinidad, por una parte, con los grupos de bacilos semejantes al tífico y de los bacilos capsulados, y, por otra, con los grupos de los bacilos del muermo y de la tuberculosis. Los caracteres comunes con estos dos últimos se observan en la morfología, puesto que, a veces, presentan verdaderas ramificaciones, pero las semejanzas, sobre todo, consisten en la propiedad que tienen de desarrollar neoformaciones a manera de tubérculos en el organismo infectado. El más importante de todos los bacilos de este grupo es el que se describe en la página siguiente.

Bacilo de la peste

El bacilo de la peste fué descubierto por YERSIN y KITASATO en Hongkong en el año 1894. Al mismo tiempo se estableció el principio, fundamental en la epidemiología de la peste, de que esta infección es, en primer término, una enfermedad de ciertos roedores, especialmente de las ratas, desde las cuales se transmite al hombre. Dos años más tarde, CHILDE y BITTER, en la India, demostraron que la peste aparece en el hombre en dos formas completamente distintas, tanto clínica como epidemiológicamente. Una de estas formas es la llamada peste bubónica, que casi siempre pasa de la rata al hombre, y que apenas es contagiosa directamente de hombre a hombre, porque representa una «infección cerrada», en la que el germen vivo generalmente no se elimina. La segunda forma es la peste pulmonar, que puede transmitirse directamente de hombre a hombre por las partículas infecciosas expulsadas por la boca, y que es extraordinariamente contagiosa. La peste pulmonar puede ser consecuencia de la bubónica, cuando en un caso de esta última, sin complicaciones al principio, aparece luego una neumonía pestosa como infección metastática, que más tarde, por infección directa, puede ocasionar nuevos casos de peste pulmonar. A estas dos formas principales de la peste añaden algunos autores una tercera forma, la llamada peste septicémica. Debe ponerse en duda, sin embargo, si esta forma, que representa la fase final natural de las dos anteriores, puede aparecer desde un principio sin que la preceda una localización del proceso patológico en los ganglios o en los pulmones, o si sólo será consecuencia de un pequeño foco primitivo inadvertido, y que ha sido seguido inmediatamente de la infección general.

En los últimos años, la Comisión inglesa para el estudio de la peste en la India, demostró, con toda claridad, que la peste se transmite de unas ratas a otras, así como de éstas al hombre, por determinadas especies de pulgas y, en primer término, por la *pulex cheopis*, en cuyo aparato digestivo se multiplica extraordinariamente el bacilo de la peste. Claro está que esto no excluye otras vías de infección entre las ratas, y de éstas al hombre (contacto).

El bacilo pestoso ofrece, en las distintas formas de la enfermedad, las mismas propiedades morfológicas y biológicas: 1.° En la peste bubónica se le encuentra en el líquido exprimido de los ganglios afectos, en las lesiones cutáneas, que se forman a veces en la puerta de entrada de la infección, llamadas pústulas o carbuncos pestosos, y, con frecuencia también, en la sangre en casos de desenlace favorable. 2.° En la expectoración en los casos de peste pulmonar. 3.° En la septicemia pestosa, con localización perceptible o sin ella, se encuentra el bacilo en la sangre, y en determinadas circunstancias en todas las excreciones, tales como esputos, orina y heces. 4.° En la peste de los roedores, en los ganglios enfermos, especialmente, así como en la sangre y, a veces también, en la orina y en las heces. 5.° En las pulgas de rata infectadas, que han chupado sangre de este animal (o de otro roedor) atacado de peste, se halla el germen en el tubo digestivo y en las heces, pero no en el interior de los tejidos. Tanto en el pus de los bubones humanos como en los esputos neumónicos o en los focos de infección de las ratas, así como también en el conducto intestinal de las pulgas, los bacilos de la peste son tan abundantes en muchos casos, que llenan por completo el campo visual del microscopio y casi parece no existir resto alguno de los tejidos. También en el hombre, en los casos de septicemia y en las ratas con infección aguda, son numerosos los bacilos que aparecen en el campo del microscopio, de tal modo que el diagnóstico, en estos casos, puede establecerse, a menudo, con sólo la preparación microscópica.

El bacilo de la peste es un bastoncito corto, grueso, que carece de movimiento; es GRAM negativo, no forma esporos, y teñido con azul de metileno presenta una coloración polar bien manifiesta, es decir, que sólo los polos toman el color, mientras que el centro queda completamente incoloro, de suerte que, a primera vista, nos parece tener delante parejas de micrococos uno al lado del otro, en lugar de bacilos de la peste. Solo después de fijar la atención se percibe un borde fino que une ambos extremos. Al lado de estas formas típicas, que pueden presentarse también en diplobacilos, se observan en los cultivos y también con frecuencia en los bubones (especialmente cuando comienzan a reblandecerse), y en los cadáveres, formas de involución, a manera de mazas, vejigas, bolas o anillos, difíciles de teñir, que, por su aspecto característico y su aparición precoz en los cultivos, tienen importancia para el diagnóstico diferencial.

Para ponerlas de relieve se las tiñe por el procedimiento siguiente:

Una vez secas las preparaciones, se fijan en alcohol absoluto durante un minuto; el residuo de alcohol se elimina quemándolo, y luego se tiñen con azul de metileno de LÖFFLER.

El bacilo de la peste está provisto, a menudo, de una cápsula que puede teñirse perfectamente, sobre todo en las preparaciones de exudado peritoneal de los ratones y cobayos. La cápsula explica también la naturaleza filamentosa y viscosa de los cultivos puros en medios sólidos.

Además de sus propiedades colorantes características, el bacilo de la peste, en oposición a todas las demás especies patógenas, ofrece la particularidad de crecer a temperaturas bajas, hasta de 5°; su temperatura óptima se halla entre 25° y 30°. Esta propiedad de desarrollarse a temperaturas bajas puede aprovecharse en la práctica para obtener cultivos puros de peste de un producto contaminado con otras bacterias, manteniendo los cultivos en la nevera, con lo cual sólo se desarrollará el bacilo pestoso, pero no las demás bacterias extrañas.

En el agar en placas con ligera reacción alcalina, las colonias del bacilo de la peste aparecen como pequeñas gotas de rocío, transparentes, y observadas al microscopio se ve un núcleo fino y más obscuro

en el centro. Un borde fino abarca la colonia, el cual a las 36 o 48 horas de cultivo en la estufa se transforma en una orla finamente dentada. En los cultivos de agar antiguos se forman con frecuencia dos tipos distintos de colonias de peste; uno de ellos, llamado *tipo enano*, mantiene sus formas pequeñas y su transparencia; el otro, llamado *tipo gigante*, se distingue por grandes colonias granuladas, de color gris blanquecino; sembrando por separado cada una de estas colonias aparecen otra vez ambas formas de crecimiento en los nuevos cultivos; se trata, pues, de variedades.

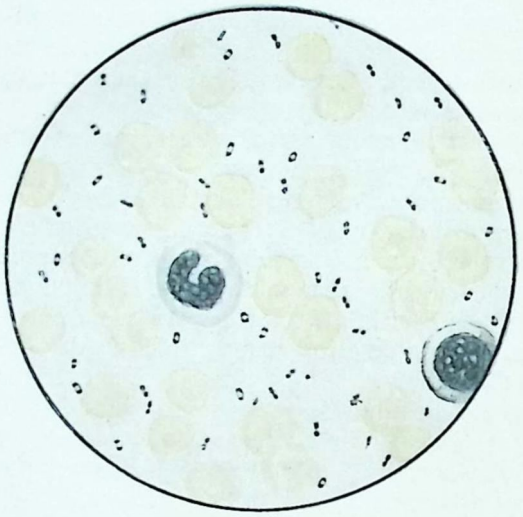


Fig. 112. Pus de bubones con bacilos de peste. Coloración polar (aumento 1 : 500)

Las colonias en placas de gelatina se parecen extraordinariamente a las de agar. No liquidan la gelatina. La preparación por impresión da idea de la contextura de la colonia pestosa. El aspecto que ofrecen es tan característico que, como hacen notar Kossel y Overbeck, se observa únicamente en la colonia pestosa, y por ello es de extraordinaria importancia para el diagnóstico diferencial. El borde de la colonia parece compuesto por largos filamentos entrelazados.

En el caldo, el bacilo pestoso forma largas cadenas parecidas a las de estreptococos. En el fondo del matraz que contiene el caldo aparece un sedimento en finos copos, blanquecino, del cual se elevan, en los bordes, pequeños copos como si trepasen por las paredes. Al mismo tiempo, se observa en la superficie un «anillo viscoso» y un velo, por debajo del cual los bacilos se dirigen al fondo en forma de estalactitas. Se favorece mucho la formación de estas estalactitas, depositando sobre la superficie del caldo unas gotas de grasa esterilizada, en la cual puede apoyarse el crecimiento de los gérmenes hacia el fondo.

El bacilo pestoso carece de esporos y es muy sensible a la desecación; en cambio, se sostiene relativamente largo tiempo en medios húmedos. Scholtz encontró bacilos de peste vivos en un cultivo cerrado a la lámpara cuatro años antes. Asimismo, el germen pestoso puede conservarse vivo varios días en las ropas del enfermo, en los esputos y en el pus desecado en capas gruesas.

Las temperaturas entre 60° y 65° destruyen el bacilo pestoso en el término de una hora. Entre los desinfectantes naturales, los más importantes son la luz solar y la desecación. El bacilo pestoso es muy sensible a la concurrencia de especies saprofíticas, de tal modo, que el cultivo de productos contaminados con otras bacterias no se consigue, con frecuencia, a la temperatura de la estufa.

Entre los desinfectantes destruyen el bacilo de la peste:
la solución de ácido fénico y lisol al 1 % en doce minutos;
el sublimado al 1 por 1000 en pocos segundos;
la solución de cal viva al $^1/_2$ % en veinte minutos.

También los ácidos minerales pueden servir de desinfectantes; el ácido sulfúrico, por ejemplo, mata el bacilo pestoso en cinco minutos en diluciones del 1 : 2000; el ácido clorhídrico al 1 : 1000 en tres minutos.

En los cadáveres de ratas, a temperaturas inferiores a 22°, el germen puede mantenerse virulento durante dos meses, lo cual tiene



Fig. 113. Colonia de peste. Cultivo en gelatina de treinta y seis horas (aumento 1 : 40)

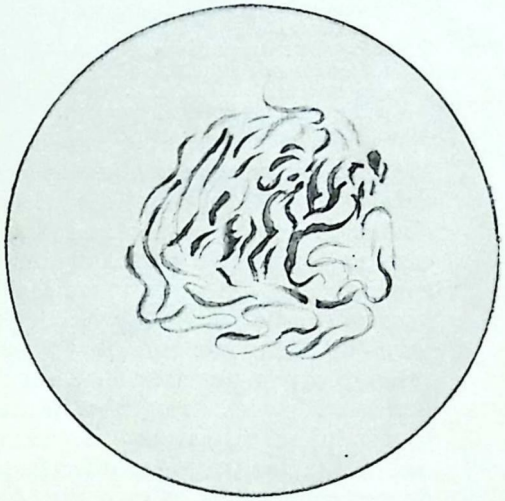


Fig. 114. Cultivo de cuarenta y ocho horas en gelatina. Preparación por impresión, según Kossel y Overbeck (aumento 1 : 500)

gran significación práctica para la extensión de la epidemia. También en la pulga infectada puede vivir el bacilo y mantenerse virulento durante semanas.

El bacilo pestoso no segrega toxinas. Su acción tóxica es debida, como en el bacilo tífico y en los vibriones del cólera, a endotoxinas, es decir, substancias tóxicas contenidas en los cuerpos de los bacilos e inseparablemente unidas al protoplasma vivo.

La acción patógena del germen pestoso varía mucho de unos cultivos a otros. La virulencia de las distintas razas podría quizá explicarnos la diferente mortalidad de cada epidemia. El paso de pulmón a pulmón, o sea el contagio por gotitas de saliva, refuerza extraordinariamente la virulencia.

Los animales de laboratorio más receptivos son los roedores, entre ellos las ratas en sus variedades de rata vagabunda *(mus decumanus)* y la rata casera *(mus rattus)*; es también muy receptible la marmota siberiana *(arctomys bobac.)*. Los ratones no enferman espontáneamente con tanta frecuencia. La peste puede inocularse a

los cobayos, conejos, monos, etc. Para fines diagnósticos, los más apropiados son las ratas y cobayos, y como procedimiento de inoculación puede elegirse entre los siguientes :

a) En las ratas

1 infección subcutánea
2. infección en la raíz de la cola
3. infección cutánea
4. infección en las mucosas de las vías respiratorias superiores (conjuntiva).
5 infección intraperitoneal
6. infección por inhalación (no utilizable en la práctica por el peligro de extender el germen).

b) En los cobayos

1. infección subcutánea
2. infección cutánea sobre la piel afeitada
3. infección intraperitoneal.

Las instrucciones oficiales alemanas de 1905 contienen todos los detalles técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la peste. Prescindiendo de los elementos indispensables para el diagnóstico de un caso sospechoso de peste, en Alemania sólo pueden realizar trabajos con gérmenes de peste vivos los Institutos que cuenten con un laboratorio especial. Toda precaución será poca al trabajar con bacilos vivos de peste, por el doble peligro del contagio por las pulgas de las ratas y por la penetración del germen a través de alguna pequeña herida de la piel, en apariencia intacta. Ha de evitarse especialmente la más ínfima salpicadura de material infeccioso, así como toda posibilidad de que salten gotas infecciosas, porque, de otro modo, el peligro de peste pulmonar es evidente, como lo demuestran varios casos de infecciones de laboratorio, que han tenido un desenlace mortal.

La marcha de la investigación bacteriológica se acomodará a las dificultades que surjan, según la naturaleza del caso de que se trate y la clase del material destinado para el análisis. Si en el material examinado existen gran cantidad de gérmenes pestosos y sin mezcla de bacterias extrañas, bastan para el diagnóstico los métodos de cultivo, pero si nos encontramos que el número de gérmenes es escaso o están mezclados con otras bacterias, será indispensable recurrir a la inoculación en animales. Ante un « primer caso », dada la gran responsabilidad que representa un diagnóstico de esta clase, se comprende que deben aplicarse desde luego todos los métodos de comprobación.

El *examen bacteriológico* comprende los siguientes puntos :

1. Hacer preparaciones microscópicas.

Coloración de GRAM y tinción con azul de metileno de LÖFFLER después de fijar con alcohol.

2. Siembra de placas de agar a 30° y 22°, así como de gelatina a 22°, y en caso que existan muchas bacterias extrañas, estos cultivos se harán a 10°.

3. Inoculación en animales, haciéndolo siempre como sigue :

a) Cobayos, sobre la piel del vientre afeitada, en inyección subcutánea e intraperitoneal.

b) Ratas, por inyección intraperitoneal, en la raíz de la cola o por inoculación en la conjuntiva.

Los animales se guardan en jaulas o en grandes tarros de cristal convenientemente tapados, a fin de evitar que las pulgas puedan entrar o salir libremente. Además, deben poderse esterilizar perfectamente.

4. De los animales que mueran, se harán preparaciones y cultivos, según se ha indicado anteriormente en los números 1 y 2.

5. Examen microscópico de los cultivos e investigación de las reacciones de inmunidad (aglutinación y precipitación).

Como materiales de investigación pueden emplearse los siguientes :

A. De enfermos

1. Líquido de los ganglios, extraído por punción. (Recuérdese que los bubones supurados casi nunca contienen bacilos vivos.)
2. Sangre.
3. Exudado de las pústulas o carbuncos pestosos cutáneos.

B. De cadáveres

1. Líquido obtenido por expresión de los tejidos del bazo.
2. Líquido que fluye por la boca y la nariz.
3. Pústulas y carbuncos de la piel.
4. Líquido de los ganglios.
5. Sangre.
6. Lesiones localizadas en los órganos internos, especialmente en los bronconeumónicos.

C. Cadáveres de animales sospechosos de peste

En los cadáveres en putrefacción, el diagnóstico bacteriológico ofrece grandes dificultades. Como las ratas de los buques son las propagadoras de la peste, todas las ratas muertas que se encuentren en un buque procedente de países infectados será necesario reconocerlas para cerciorarse de si murieron a consecuencia de la infección pestosa.

En los cadáveres de ratas suelen encontrarse « bacilos semejantes al pestoso », saprofitos unos, patógenos otros para los animales, lo cual dificulta con frecuencia la comprobación por inoculación y por los cultivos, hasta el punto de que éstos pueden resultar negativos, a pesar de haberse comprobado en la autopsia de los animales la existencia del germen y las lesiones características de la peste. Entre estas bacterias se encuentran las del grupo del *bacillus enteritidis* de GARTNER, los bacilos capsulados, los de la septicemia hemorrágica y, sobre todo, el bacilo seudotuberculoso *rodentium*, tan afín al de la peste, que ni las reacciones de inmunidad permiten distinguirlos con exactitud. En este caso la diferenciación se establecerá :

a) Por inyección subcutánea o fricción sobre la piel afeitada del vientre de un cobayo con líquido de órganos infectados.

b) Por la termoprecipitación de ASCOLI (véase pág. 99).

Partiendo del hecho de que, después de sufrir la peste, queda, aunque no sin excepciones, una inmunidad bastante completa y que son muy raras las reinfecciones, HAFFKINE preconizó, como es sabido, la inmunización activa del hombre por medio de gérmenes muertos. En lugar del método primitivo de los cultivos en caldo, seguido por HAFFKINE, es preferible el de siembras en grandes superficies de agar, porque de este modo se obtienen las substancias protectoras específicas sin las toxinas secundarias que se forman en los cultivos antiguos, y está mejor garantizada la ausencia de contaminaciones bacterianas (tétanos). Para preparar la vacuna se someten los cultivos, durante una hora, a la temperatura de 68° en el baño maría y se les añade 0'5 % de fenol. La esterilidad debe probarse no sólo por los cultivos, sino también por la inoculación en los animales. Aun cuando la vacuna no ofrece una seguridad absoluta contra la infección, desde luego se ha obtenido con ella una disminución de la mortalidad y la menor gravedad del curso de la enfermedad. El efecto de la vacuna dura solamente unos meses. En las grandes epidemias de peste bubónica se empleará, por consiguiente, la vacuna de HAFFKINE en unión de las medidas higiénicas que siempre deben figurar en primer término para prevenir y combatir las epidemias. La vacuna está indicada especialmente en las personas expuestas a diario al peligro del contagio, como médicos y personal sanitario de los distritos atacados, mozos de laboratorio, etc. Para las personas expuestas pasajeramente a la infección se empleará la inmunización pasiva, mediante una inyección profiláctica de suero antipestoso.

15. Grupo de los bacilos hemoglobinófilos

Este grupo natural comprende algunas especies de gérmenes patógenos que presentan como características comunes la pequeñez, la inmovilidad, ser negativos al GRAM y, sobre todo, ofrecer la particularidad de no desarrollarse en los cultivos, como no sea en medios que contengan hemoglobina.

Bacilo de la gripe

Este bacilo fué descubierto por R. PFEIFFER, en el año 1891. Es uno de los bacilos patógenos más pequeños; mide próximamente 1 a 1'5 μ de longitud por casi 0'5 μ de anchura ; en los cultivos se observan con frecuencia largas formas seudofilamentosas. Carece de movimiento y no toma el GRAM. El mejor colorante para teñirlo es la fucsina de ZIEHL diluída al 1 : 10 o al 1 : 20.

PFEIFFER logró cultivarlo por primera vez después de grandes dificultades, empleando como medio de cultivo el agar-sangre. Este se prepara vertiendo en los tubos de agar inclinado un poquito de sangre humana estéril, o mejor aún de paloma, o añadiéndola al agar líquido a 45° ó 50°, en cantidad de 1 c. c. por tubo. Puede usarse también la hemoglobina del comercio (MERCK). En los medios corrientes sin sangre y en el suero no se consigue su desarrollo, con excepción de algunos casos de siembras hechas con esputos, en los que la pequeña cantidad de sangre contenida ha sido suficiente, en ocasiones, para facilitar el desarrollo de los gérmenes ; la resiembra posterior en medios sin hemoglobina no da resultados. En cultivos mixtos, por ejemplo, con el bacilo de la xerosis, crece el de la gripe sin adición de sangre (M. NEISSER).

Su crecimiento en los medios con hemoglobina se verifica en forma de colonias pequeñas, semejantes a gotas de rocío, que son más finas y transparentes que las de estreptococos.

Su resistencia a la influencia de los agentes exteriores es muy pequeña. Los vapores de cloroformo y la temperatura de 60° lo destruyen en pocos minutos. Careciendo de cierta humedad muere en una o dos horas a la temperatura de 37°.

No existen datos precisos acerca de la formación de toxinas por el bacilo de la gripe. Se admite, sin embargo, que al morir el microorganismo deja toxinas libres, como sucede con los bacilos del cólera y de la fiebre tifoidea (endotoxinas). Las neuralgias que acompañan la infección gripal se atribuyen a estas toxinas.

PFEIFFER ha conseguido producir en los monos una infección febril por inyección intratraqueal de cultivos puros. Los ratones, conejos y cobayos perecen por acción tóxica después de una inyección de bacilos vivos o muertos.



FIG. 115. Bacilo de la gripe en el moco faríngeo. Coloración con fucsina fenicada diluída (aumento 1 : 500)

Hay toda una serie de bacterias de gran semejanza morfológica, así como por su comportamiento en los cultivos, con el bacilo de la gripe, que se encuentran en las afecciones catarrales ordinarias de las vías respiratorias superiores, en el contenido de las cavernas tuberculosas, en los esputos de enfermos de tifus exantemático y en otros casos. Todos estos gérmenes semejantes se denominan *seudobacilos de la gripe*. También se han aislado bacilos semejantes en ciertas enfermedades del perro y del cerdo. Debido a la imposibilidad de diferenciar exactamente el verdadero bacilo de PFEIFFER de estas formas afines, ya sea por su acción patógena en los animales, ya por las reacciones de inmunidad, se ha puesto en duda en estos últimos tiempos la significación etiológica del bacilo de la gripe. Frente a esto sostienen PFEIFFER y sus discípulos, que los bacilos de la gripe sólo se encuentran en los atacados durante la epidemia y un breve tiempo después de ella, explicándose su hallazgo en los sanos como casos de infección latente.

El bacilo de la gripe se localiza principalmente en las amígdalas y en la mucosa bronquial, y desde allí puede producir metástasis, por ejemplo, en el cerebro, o por acción tóxica, estados patológicos, que ocultan el verdadero cuadro de la enfermedad, o sea el de una angina con bronquitis. Este es el origen también de algunos casos de meningitis purulenta debidos a la gripe ; de igual manera, los bacilos de esta infección pueden producir afecciones de los senos de las fosas nasales, del oído medio, pleuritis, peritonitis, colecistitis, artritis, epididimitis y piosalpingitis.

El esputo del enfermo gripal, que constituye el mejor material para la investigación de los bacilos, ofrece un aspecto transparente en los comienzos de la infección, y más tarde purulento. Si se trata de una infección reciente, los bacilos son muy abundantes y ocupan una situación intra y extracelular.

Las estrías de pus contenidas en los esputos purulentos se aislan y extienden tal como se hace con las preparaciones de sangre, o se aplastan entre dos cubreobjetos.

El hallazgo de formas atípicas del bacilo, que de este modo puede ofrecer notables dimensiones, y la frecuencia con que se encuentran en los esputos bacilos muy semejantes por su forma al de la gripe, pero que se desarrollan en medios desprovistos de sangre, impiden establecer con certeza el diagnóstico de esta infección basándose únicamente por el resultado del examen microscópico, por lo cual, sobre todo al principio de una epidemia, resulta indispensable recurrir a los cultivos.

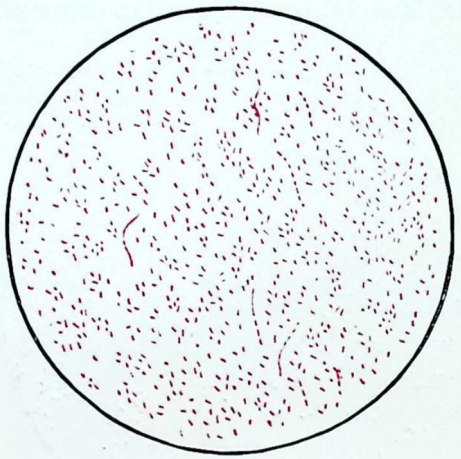


Fig. 116. Bacilos de la gripe. Cultivo puro. Coloración con fucsina fenicada diluída (aumento 1 : 500)

No está decidido todavía si el bacilo encontrado por Cohen en algunos casos de meningitis, que es exactamente igual al de la gripe, pero que posee una virulencia mucho mayor (especialmente sobre la mucosa nasal sana), es una especie diferente o sólo una raza muy virulenta del germen de la infección gripal.

Bacilo de la tos ferina

Bordet y Gengou encontraron, en el año 1900, en los esputos de la tos ferina, además de unos bacilos semejantes al de la gripe, otros bastoncitos pequeños, ovalados, casi semejantes a cocos, de extremos redondeados, situados fuera de las células en el estadio catarral e incluídos en ellas en su mayor parte en el estadio convulsivo, y que ofrecen una coloración polar mediante determinadas coloraciones (véase al tratar del bacilo de la peste). Klimenko indica, como característica diferencial de estos bacilos respecto de todas las demás bacterias, la propiedad de colorearse con el azul de toluidina fenicado, no en azul como sucede en aquéllas, sino en lila.

Probablemente el *bacillus pertussis Eppendorf*, descrito por Jochmann y Krause, es idéntico al citado.

El germen de la tos ferina es francamente hemoglobinófilo, es decir, su cultivo no se obtiene al principio sino en medios adicionados de sangre. Produce hemolisis en el agar-sangre, propiedad que le diferencia del bacilo de la gripe. Para los cultivos posteriores son especialmente apropiados los medios que contienen líquido ascítico y suero. En cultivos sucesivos, los bacilos pierden la necesidad de hemoglobina y ya se consigue cultivarlos en agar.

Según Scheller, en el líquido de condensación, se observan filamentos. En los medios líquidos, el bacilo crece presentando formas algo mayores que las indicadas anteriormente.

Su resistencia a los agentes exteriores es muy escasa. Los cultivos en agar con sangre se mantienen vivos durante un mes, mientras que, para sostener con vida los cultivos de gripe, hay que resembrarlos, al menos una vez por semana, en un medio nuevo.

Los bacilos cuidadosamente muertos producen, al inocularlos en animales, por sus endotoxinas, efectos de inflamación intensa.

La inoculación intratraqueal de cultivos puros en los monos, perros y gatos produce en ellos la tos ferina típica. Los cobayos mueren, si se les administra grandes dosis en inyección intraperitoneal, por efecto de las endotoxinas, pero no porque los bacilos produzcan toxinas. En el exudado peritoneal apenas se encuentran bacilos. En cambio, se observan hemorragias en distintos órganos, derrames pleuríticos, etc.

Inyectando los bacilos en el ojo del conejo se produce una reacción muy intensa, acompañada de enturbiamiento de la córnea y conjuntivitis acentuada.

La comprobación del bacilo sólo puede hacerse en los esputos de los niños enfermos de tos ferina.

Para obtener cultivos puros lo mejor es proceder de la manera siguiente :

El esputo, completamente libre de substancias vomitadas y de desinfectantes, se lava tres veces por lo menos en solución fisiológica, para separarlo de las mucosidades faríngeas que puedan habérsele adherido. Las partículas del esputo lavado se siembran en medios apropiados, de los cuales a las cuarenta y ocho horas se toman las colonias sospechosas, con auxilio de una lupa, para resembrarlas en agar con sangre de paloma. Una preparación teñida con azul de toluidina fenicado o por el método de Gram, y el examen de una preparación por impresión, nos permitirá establecer el diagnóstico.

Jochmann solamente pudo hallar el bacilo en el período catarral de la enfermedad y en los primeros días del período convulsivo ; pero no consiguió encontrarlo durante todo el resto de duración de este último período, precisamente en la fase característica de la tos ferina. Este hecho se halla de acuerdo con la observación de que la tos ferina tiene mayor poder de contagio en la fase catarral, mientras que, según algunos investigadores, el contagio no se observa durante el período convulsivo, el cual es considerado por algunos como una secuela de origen tóxico o nervioso de la infección.

Las relaciones etiológicas de este bacilo con la tos ferina se demuestran, no sólo por las inoculaciones en animales, sino también por los resultados de la aglutinación y fijación del complemento. El suero de los enfermos y convalecientes aglutina el bacilo de la tos ferina en diluciones débiles, de 1 : 20 hasta 1 : 30, según Seiffert, en tanto que el suero normal no ejerce acción alguna sobre él. La fijación del complemento con suero de convalecientes da claramente resultados positivos con el bacilo de la tos ferina, lo cual no sucede con el de la gripe.

Por inmunización de conejos y caballos se han obtenido sueros de gran poder aglutinante y de gran eficacia en la fijación del comple-

mento, sueros que también son muy ricos en bacteriotropinas. Con estos sueros se consigue la aglutinación del bacilo hasta en diluciones de 1 : 1000, mientras que no ejercen influencia alguna sobre el de la gripe.

Bacilo de la conjuntivitis. Koch-Weeks

Este germen fué observado por primera vez por KOCH, en Egipto, en el año 1883, después por WEEKS, en Norteamérica, y más tarde lo fué también en muchos países de Europa, entre ellos Alemania, siendo reconocido como el germen de una inflamación aguda de la conjuntiva, muy contagiosa, aunque de curso benigno en la mayoría de los casos. El bacilo de KOCH-WEEKS es muy parecido al de la gripe, aunque por sus efectos, claramente distinto, como se deduce desde luego por la falta de conexión epidemiológica existente entre una y otra enfermedad. El bacilo de KOCH-WEEKS es más largo y delgado que el bacilo de la gripe, y se desarrolla mejor en agar-suero que en agar-sangre ; le convienen especialmente los medios con suero humano ; en cambio, le es indiferente el agar adicionado con sangre de paloma, que es el mejor de los medios para el cultivo del bacilo de la gripe. A diferencia de éste, el bacilo de KOCH-WEEKS carece de acción tóxica o patógena en los animales. Su significación etiológica está confirmada por el resultado positivo de la experimentación en el hombre.

16. Bacilos del mal rojo del cerdo y de la septicemia del ratón

Estos gérmenes son afines del grupo anterior por sus propiedades morfológicas, pero claramente distintos por el resultado positivo con la coloración de GRAM y por su desarrollo característico en la gelatina. Los cultivos en este medio no la funden, y tanto por las ramificaciones que irradian del centro, como por su estructura ondulada, ofrecen un aspecto curioso muy característico, sobre todo en los cultivos por picadura.

Es aún muy discutido si el bacilo de la septicemia del ratón observado también por KOCH como saprofito en los líquidos pútridos, y el del mal rojo del cerdo son dos especies muy afines, pero distintas, o si el primero debe considerarse solamente como una variedad del segundo, en la que está disminuída la acción patógena para los grandes animales. Tiene importancia práctica el hecho de que el mal rojo del cerdo es transmisible al hombre, ya sea como enfermedad benigna de la piel, semejante a la erisipela y que se observa en los carniceros contagiados por cerdos enfermos, ya sea como infección intestinal en los niños. En la inoculación en los animales es notable la extraordinaria multiplicación del germen en los capilares, especialmente en los del riñón, llegando a obliterarlos y a llenar el glomérulo. Los bacilos teñidos con el GRAM aparecen, en este caso, mediante el

empleo del picrocarmín como coloración de contraste con extraordinaria claridad.

Con el paso por conejos disminuye la virulencia primitiva respecto de los cerdos. Sobre este hecho basó PASTEUR su vacuna, substituída actualmente por la de LORENZ, que consiste en combinar simultáneamente la inoculación de cultivos vivos y la inmunización pasiva con suero curativo.

Antes de pasar al estudio del grupo de los diftéridos y de los bacilos ácido-resistentes que forman ya el paso a los estreptotrices, describiremos algunos bacilos patógenos, cuyo lugar en el sistema de clasificación no puede indicarse aún con exactitud. Son estos el diplobacilo de MORAX-AXENFELD, el estreptobacilo de DUCREY y el germen de la fiebre de Malta.

17. Diplobacilo de Morax-Axenfeld

Es el germen de una forma muy característica y contagiosa de conjuntivitis. Fué descubierto en el año 1896 por MORAX y por AXENFELD, casi al mismo tiempo y con independencia el uno del otro. Es un bastoncito muy corto, sin movimiento y GRAM negativo, que se encuentra la mayoría de las veces dispuesto por parejas, aunque también puede formar cadenas cortas, y que por sus propiedades morfológicas se parece mucho al bacilo de FRIEDLANDER. Sin embargo, es completamente distinto de éste por sus propiedades de cultivo, pues sólo se desarrolla en medios con suero y funde el suero sanguíneo coagulado.

La inoculación de cultivo puro en la conjuntiva del hombre produce la conjuntivitis típica de MORAX-AXENFELD, mientras que ensayado en animales da un resultado negativo.

18. Bacilo del chancro blando (Ducrey)

El chancro blando fué considerado antiguamente por la escuela unitaria como idéntico a la lesión primaria de la sífilis. Si bien en contra de esta opinión se habían alegado ya razones de importancia, cuando aún eran desconocidos los gérmenes de ambas enfermedades. En primer lugar, el chancro blando representa siempre un proceso estrictamente localizado, y afecta, cuando más, a los ganglios de la región, mientras que a la lesión primaria sifilítica sigue la infección general; en segundo término, el chancro blando puede reproducirse por autoinoculación, en tanto que, como es sabido, esto no es posible en el chancro sifilítico mientras existe la infección general. El error era debido, principalmente, a que son muy frecuentes las infecciones mixtas, como se comprende con facilidad, por las condiciones de infección comunes a ambas enfermedades. Una vez conocidos tanto el germen de la sífilis como el del chancro blando, ya no es posible sostener el antiguo concepto unitario.

El germen del chancro blando, descubierto por DUCREY y estudiado más tarde por UNNA y KRÖFTING, es un bacilo pequeño (estreptobacilo de DUCREY), sin movimiento, dispuesto en largas cadenas, negativo al GRAM, como puede comprobarse en las preparaciones hechas con frotis del fondo del chancro y en los cortes de pequeñas porciones de tejido escindido de los bordes del mismo. El cultivo de este germen puede hacerse en medios que contengan suero o líquido ascítico. Las colonias

coloración típica de los gérmenes. En todo caso, si los resultados son negativos o dudosos, se repite el examen microscópico a las doce o catorce horas de permanencia en la estufa. A este fin, se hacen varias preparaciones de distintas colonias de las placas en suero de LÖFFLER y se tiñen con fucsina fenicada diluída y con la doble coloración de NEISSER. Es muy conveniente que esto se practique a la vez, independientemente por dos observadores, con el fin de controlar los resultados que se obtengan. Si se observa la disposición y forma típicas y se coloran los corpúsculos con el método de NEISSER, puede establecerse sin reservas el diagnóstico de bacilo diftérico. En casos dudosos, esto es, cuando aparecen formas atípicas o cuando se trata de frotis de material recogido del saco conjuntival, de la vulva, de la vagina o de la piel, sitios en los que normalmente se encuentran bacilos semejantes al de la difteria, estará indicada la obtención de cultivos puros de los bacilos sospechosos, efectuando, además, si es preciso, la inoculación al cobayo. Esta puede consistir :

1. En inyección de cultivo o de toxinas solamente.
2. Inyección de cultivos o toxinas, pero con antitoxina diftérica.
3. Procedimiento intracutáneo de RÖMER.

En los animales es muy rara la infección espontánea de difteria. El animal de laboratorio más empleado con fines diagnósticos es el cobayo. Los ratones y las ratas no son receptivos.

El cobayo inyectado con 0'5 a 1 c. c. de cultivo de veinticuatro horas en caldo, muere a los dos o cuatro días con síntomas de disnea. A las doce horas de la inyección está muy infiltrado el punto de aplicación, y esta infiltración aumenta en el transcurso de los días siguientes. La autopsia pone de manifiesto las siguientes lesiones, características de difteria. Necrosis o edema sanguíneo gelatinoso intenso en el tejido celular subcutáneo a partir del punto de la inyección ; exudación serosa o hemorrágica en el peritoneo, en la pleura y en el pericardio ; además, aumento de tamaño e inflamación hemorrágica de las cápsulas suprarrenales. Como control, se inyecta un animal con cultivo o con filtrado de cultivo junto con antitoxina ; el animal seguirá perfectamente sano.

El hecho de que en los animales produzca el mismo efecto la inyección de cultivos filtrados que sin filtrar demuestra que no se trata precisamente de endotoxinas, sino de una acción tóxica producida por los productos segregados por el bacilo diftérico (ROUX y YERSIN). No todas las razas diftéricas segregan toxina. La composición química de ésta no se conoce aún exactamente. La toxina se obtiene filtrando los cultivos de difteria en caldo y añadiendo al filtrado solución de fenol al 0'5 % o de tricresol al 0'2 ó 0'3 % para matar los bacilos que pudieran haber pasado el filtro y garantizar al mismo tiempo la inalterabilidad de la solución.

La toxina soluble es muy sensible a la luz y al calor, y sólo se mantiene inalterable conservándola en la obscuridad y a bajas temperaturas.

Por el método intracutáneo debido a RÖMER puede comprobarse la acción de cantidades de toxina muy pequeñas (1/200 a 1/500 de la dosis mínima mortal). Por este procedimiento se observa ya a las veinticuatro horas, enrojecimiento e inflamación edematosa en el punto de la inyección y, algunas veces, a los dos o tres días, necrosis.

Este método ha sido empleado después por NEISSER y GINS para el diagnóstico, con objeto de diferenciar los bacilos diftéricos de los seudodiftéricos, inyectando ambas clases de gérmenes por vía intracutánea. Cuando se trata de razas diftéricas patógenas para los animales, aparecen los síntomas descritos anteriormente. La inyección intracutánea ofrece la ventaja, frente a los métodos antiguos, de que permite probar al mismo tiempo y en un mismo animal varios gérmenes diftéricos.

Técnica del experimento :

Emulsión del cultivo 1/10 } en inyección intracutánea de 0'1 c. c. Control de
» » » 1/100 } antitoxina : 0'05 c. c. de dilución de cultivo al
» » » 1/1000 } 1/10 más 1/2 unidad antitóxica en 0'05 c. c.

El suero antidiftérico se obtiene de caballos inmunizados por inyecciones repetidas de toxina, en pequeñas dosis al principio, que luego se van aumentando con intervalos convenientes. El máximum de antitoxinas se obtiene a los tres o cinco meses ; entonces se extraen de 4 a 8 litros de sangre de la vena yugular, o si el suero es de valor antitóxico muy elevado, se desangra por completo al caballo. Separado el suero, se le añade 0'5 % de fenol o 0'4 % de tricresol, para conservarlo estéril.

La seroterapia, generalizada desde el año 1894, ha conseguido, como es notorio, disminuir considerablemente la mortalidad por difteria.

21. Bacilo del muermo (bacillus mallei)

El contagio del muermo, epizootia conocida ya en la antigüedad, y transmisible al hombre en ocasiones, fué demostrado experimentalmente a fines del siglo XVIII (WOLLSTEIN, ABILGAARD, VIBORG). GERLACH, a fines del año 1860, antes de la época bacteriológica, ensayó la acción de desinfectantes sobre el presunto virus del muermo y trató de combatir con éxito la enfermedad con medidas de aislamiento. Pero sólo después del descubrimiento del bacilo, debido a LÖFFLER y SCHÜTZ, y la consiguiente certeza en el diagnóstico bacteriológico, pudo emprenderse una lucha racional contra esta infección.

El reconocimiento de formas latentes del muermo, que son frecuentes y desempeñan un papel importante en la extensión del mismo, se consiguió con el descubrimiento de la maleína (HELMANN y KALNING), substancia tóxica producida por el bacilo, que da lugar a una reacción específica característica en el hombre y en los animales enfermos de muermo (NOCARD). Con el empleo de la reacción de aglutinación de MAC FADYEAN y WLADIMIROFF, y las de precipitación y fijación del complemento de SCHÜTZE y MIESSNER, se perfeccionó por completo el diagnóstico del muermo.

El germen del muermo es un bastoncillo pequeño, recto o ligeramente arqueado, sin movimiento y con los extremos redondeados. La coloración se consigue con las soluciones acuosas ordinarias de colores básicos de anilina ; pero, algunas veces, el bacilo no toma tan fácilmente la coloración. Empleando el azul de metileno, puede observarse con frecuencia la coloración polar ; además, en el interior de algunos gérmenes, especialmente si los cultivos son viejos, se observan granulaciones intensamente teñidas y distribuídas de una manera irregular

Además de la reacción de la maleína, tienen también cada día mayor importancia en el diagnóstico del muermo los siguientes métodos de serodiagnóstico :

1. Aglutinación.

Plazo de observación, de 24 a 48 horas. Unicamente la infección queda demostrada, de una manera indudable, por la aglutinación con diluciones de suero al 1 : 1000 como mínimum, puesto que el suero normal de caballo puede dar reacciones positivas entre 1 : 250 y 1 : 400.

2. Precipitación.

Sobre una solución de antígeno, compuesta de maleína seca de Foth 0'025 gr. en 10 c. c. de solución fisiológica, y dispuesta en una copa cónica especial, se vierte cuidadosamente el suero sospechoso sin diluirlo de modo que forme una capa sobre el antígeno. Si el resultado es positivo, aparece, a las dos horas, un enturbiamiento anular en el punto de contacto de los dos líquidos.

3. Fijación del complemento.

Los anticuerpos que fijan el complemento aparecen lo más pronto a los siete días de la infección, pero hay que tener en cuenta que también pueden dejar de aparecer hasta las tres semanas.

4. Reacción de conglutinación de Pfeiler y Weber.

Por la acción común de los sueros normales de la vaca y del caballo se conglutinan los glóbulos rojos del carnero formando un coágulo íntimamente unido. El suero inactivado del caballo enfermo, que posteriormente se reactiva con suero de caballo sano, se mezcla con extracto de bacilos de muermo o maleína, con lo cual, si existieran anticuerpos de muermo en el suero, fijarían el amboceptor y la reacción de conglutinación ya no puede ser positiva, y los glóbulos rojos emulsionados producirían un enturbiamiento difuso en el líquido. Esta reacción se distingue de la fijación del complemento por su exactitud, así como por la sencillez de su ejecución y la rapidez con que se verifica (tres horas). Por la gran responsabilidad que lleva consigo un diagnóstico de muermo, es conveniente emplear en cada caso todos los métodos enumerados.

Cuantos intentos se han realizado hasta la fecha para preparar un suero curativo del muermo, han fracasado por completo.

Bacilos ácido-resistentes

22. Bacilo tuberculoso

El contagio de la tuberculosis fué demostrado por experimentos en los animales en el año 1843 por Klencke y en 1865 por Villemin. Este último consiguió producir experimentalmente la tuberculosis pulmonar en los animales por aspiración de esputos pulverizados. El descubrimiento del germen fué realizado por R. Koch en 1882, empleando procedimientos especiales de coloración y de cultivo. Los resultados

de sus investigaciones fueron expuestos por R. Koch en un trabajo memorable acerca de la etiología de la tuberculosis.

El bacilo de esta infección pertenece al grupo de los llamados ácido-resistentes, los cuales, debido a su cubierta, compuesta de substancias grasas, toman con dificultad los colores de anilina; pero, una vez teñidos, retienen el color con tenacidad al tratarlos por los medios usuales de decoloración (ácidos y alcohol), y, en consecuencia, al recolorar con otra substancia no pierden el color primitivo, y aparecen



Fig. 123. Bacilos ácido-resistentes. Coloración con fucsina fenicada (aumento 1 : 500)

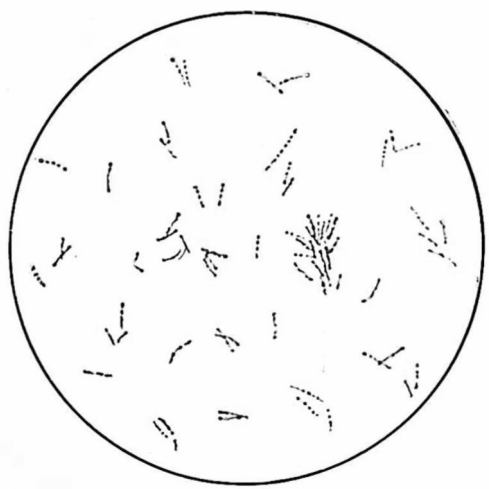


Fig. 124. Bacilos de la tuberculosis. Cultivo puro. Coloración de Much (aumento 1 : 500)

en la preparación formando contraste con los tejidos y las demás bacterias que han tomado el color de la substancia últimamente empleada (*V.* Coloración de bacilos ácido-resistentes en la Parte general, página 38).

El bacilo tuberculoso, como todas las bacterias ácido-resistentes, es positivo con la coloración de Gram, y presenta con especial frecuencia, al teñirlo por este método, la forma granular que se observa también muy a menudo al hacerlo por el procedimiento de Ziehl. Much cree que, además de la forma bacilar corriente, debe admitirse como propia del germen tuberculoso la forma granulosa. Esta forma de Much se hace visible mediante un procedimiento especial de este autor, que consiste en una modificación del de Gram prolongando la acción de la substancia colorante. De este modo, según Much, se obtienen a veces preparaciones en las que se observan únicamente formas granulosas sin las bacilares corrientes, pero esta afirmación no está completamente demostrada, y no es admisible establecer el diagnóstico de tuberculosis fundándose solamente en la observación exclusiva de las granulaciones de Much, si al mismo tiempo no existen los verdaderos bacilos tuberculosos coloreados según el procedimiento de Ziehl, porque no es posible diferenciar, con exactitud, estas granulaciones de otros productos no específicos de tejidos destruídos. Otras desviaciones de la forma normal están constituídas por las formas de maza y ramificadas que establecen una relación de afinidad entre el bacilo tuberculoso y los estreptotrices. Sin embargo, como el bacilo tuberculoso únicamente por excepción presenta esas «formas elevadas» de crecimiento en el organismo humano y aparece, por lo general, en figura de bastoncillo, es más ló-

y se comportan en el hombre de una manera distinta que el de la tuberculosis humana.

El bacilo tuberculoso de las aves (tipo aviario) se distingue por la irregularidad de su forma y, sobre todo, porque debido a su acomodación a la temperatura más elevada del cuerpo de las aves, es capaz de crecer con vigor a temperaturas de 45° a 50°. En el cultivo en agar aparece como una capa húmeda y grasienta; los ensayos en animales demuestran que la gallina y la paloma son muy receptivas al bacilo, que en cambio es poco patógeno para los cobayos.

Ya en 1898 señaló SMITH que el germen de la tuberculosis del hombre (tipo humano) era distinto del de la tuberculosis del ganado vacuno (tipo bovino), pero sus consecuencias prácticas no fueron apreciadas en todas partes hasta más tarde, con motivo de la discutida comunicación de KOCH, presentada al Congreso de la tuberculosis celebrado en Londres en 1901. Como consecuencia de las investigaciones realizadas por KOCH y SCHUTZ, se pudo comprobar que las reses vacunas inoculadas con bacilos humanos, presentan tan sólo leves procesos de infección local, mientras que las inoculadas con gérmenes de la tuberculosis bovina de otras reses mueren por tuberculosis general progresiva. Inversamente, debido a las experiencias de BAUMGARTEN se sabía que el hombre inoculado con bacilos de tuberculosis bovina (en ensayos de tratamiento de ciertos tumores malignos), se mostraba poco receptivo para estos gérmenes de procedencia animal. Desde entonces, la cuestión de la igualdad o diferencia de especies entre los bacilos tuberculosos del hombre y del ganado vacuno ha sido objeto de investigaciones muy extensas, especialmente por parte de la Dirección general de Sanidad de Alemania y de la Comisión Inglesa para el estudio de la Tuberculosis. Las diferencias entre ambos tipos, resultantes de los experimentos de laboratorio, pueden resumirse en la forma siguiente:

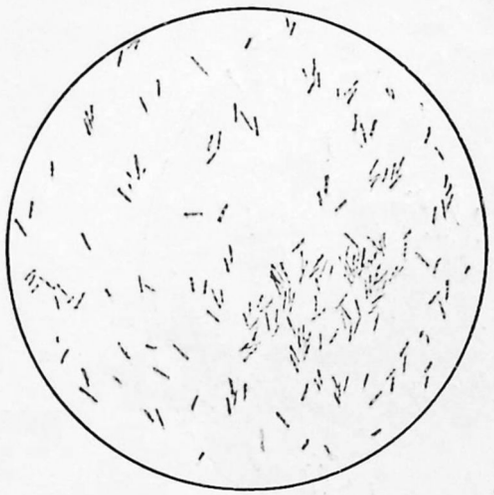


FIG. 127. Bacilo tuberculoso. Tipo humano. Cultivo puro. Coloración de ZIEHL-NEELSEN (aumento 1 : 500)

Estudiando el aspecto morfológico de los gérmenes cultivados en caldo glicerinado, se observa que el tipo humano aparece en forma de un bastoncito uniformemente alargado, con frecuencia arqueado y fácil de teñir, mientras que el tipo bovino es más corto y más grueso, más desigual, aparece granuloso al teñirlo, y cultivado en suero se observan algunos gérmenes muy cortos en forma de punto. El tipo humano se cultiva fácilmente en suero o caldo glicerinados, y su desarrollo se verifica en forma de una capa con gruesas arrugas; el tipo bovino, en cambio, recién

obtenido del animal y cultivado inmediatamente, ofrece un desarrollo muy precario en el suero glicerinado, y en el caldo se desarrolla también con mucha lentitud, formándose una capa seca y delgada con algunos espesamientos verrugosos. El conejillo de Indias, por su gran receptividad para ambos tipos, no sirve para diferenciarlos por el ensayo en animales. En cambio, la inoculación subcutánea en los conejos con cantidades de cultivo en caldo glicerinado, pesadas exactamente (0'01 gr.), proporciona diferencias características, pues a los tres meses de la inyección de bacilos humanos no se observa infección general, sino sólo un proceso local, mientras que el animal inoculado en igual forma con bacilos bovinos muere al cabo de una semana por tuberculosis generalizada. Las mismas diferencias entre ambos tipos se demuestran inyectando dos terneras con 0'05 gramos de cada tipo de bacilo.

La cuestión tan debatida de si estas diferencias permiten establecer especies distintas o si se trata sencillamente de una acomodación del mismo germen a distintos organismos y que, por consiguiente, el paso de uno a otro fuera fácil en ocasiones, puede resolverse hoy prácticamente diciendo que ambos tipos son de naturaleza muy estable y conservan con tenacidad sus propiedades, sin que esto afecte a su proximidad filogenética (1) y a la unidad de procedencia de ambos tipos, pudiendo considerarse cada uno, según la opinión primera de KOCH, como germen de una forma de enfermedad especial. En todo caso, las formas intermedias y las variaciones de un tipo aproximándose al otro son extraordinariamente raras, por lo cual, en las observaciones experimentales de paso aparente de un tipo a otro, ha de contarse aún con la posibilidad de una infección mixta o con la presencia fortuita de otros bacilos ácido-resistentes (véase más adelante). Esto no quiere decir que el bacilo bovino sea completamente inofensivo para el hombre. Es cierto que para la forma más frecuente de la tuberculosis humana, la tuberculosis pulmonar, sólo entra en consideración el tipo humano, y no llega al 1 % el número de casos en los que se han encontrado bacilos bovinos; pero, tanto en la tuberculosis miliar, como en la forma ósea y ganglionar, los bacilos tuberculosos bovinos se observan con mucha mayor frecuencia, especialmente en los niños, en los cuales está demostrada la posibilidad de adquirir la tuberculosis por vía intestinal por el virus bovino contenido en la leche de vaca. En las afecciones tuberculosas ganglionares de la infancia, se encuentran bacilos tuberculosos bovinos en un 40 % de los casos. También en el lupus se encuentran los dos tipos en un 50 % de los casos, pero ambos presentan ligeras modificaciones de sus propiedades normales. Así como en el hombre se encuentran bacilos tuberculosos de origen animal, de igual manera en los animales se encuentran alguna vez los bacilos de procedencia humana. Esto sucede con bastante frecuencia en el cerdo, y se ha observado también en el caballo, los perros y los loros, así como en los animales de los parques zoológicos, por la posibilidad que existe del contagio humano.

Además de los bacilos de la tuberculosis propios de los animales de sangre caliente, hay también bacilos ácido-resistentes semejantes en los animales de sangre

(1) La afinidad filogenética queda probada en el orden serológico, porque los distintos tipos de bacilo tuberculoso y las especies afines ácido-resistentes dan reacciones análogas a la tuberculina y respecto a precipitinas.

fría, que crecen vigorosos a 25° y hasta por debajo de 10°, así como especies saprofíticas muy repartidas en la naturaleza inanimada, y que tienen importancia en la práctica, por la posibilidad de confundirlas con los verdaderos bacilos tuberculosos. Estas especies saprofíticas ácido-resistentes se hallan en la hierba y en el estiércol, desde donde pueden pasar a la leche y a la manteca, y también se han encontrado en la superficie húmeda de las boquillas de los instrumentos de viento (bacilos de las trompetas) y en los grifos de las cañerías de agua. Muchas de estas especies saprofíticas se distinguen del bacilo de la tuberculosis porque se desarrollan a temperaturas bajas, y en sus cultivos se forman pigmentos; pero estas características pueden faltar, y da que pensar el hecho de que varias de estas razas en presencia de grasas (las cuales, como es sabido, constituyen la cubierta protectora del bacilo tuberculoso), inoculadas por vía intraperitoneal al conejillo de Indias, le producen enfermedades semejantes a la tuberculosis, lo que puede ser causa de error, por ejemplo al analizar leche o manteca, de confundirlas con los verdaderos bacilos de la tuberculosis. En estos casos sólo puede sacarnos de dudas el análisis histológico de las lesiones producidas, acompañado de un estudio detenido del germen. Es característico de estas razas ácido-resistentes el resultado negativo de la inoculación en la cámara anterior del ojo (Herr). Interesa también tener presente que estos bacilos seudotuberculosos se encuentran como epifitos inofensivos en la piel, las mucosas y partes próximas de los órganos genitales, así como en las axilas y en el cerumen (bacilos del esmegma), por lo cual al investigar la tuberculosis urogenital pueden ser una causa de error no despreciable. Se encuentran también bacilos ácido-resistentes en algunas infecciones de los animales que evolucionan sin alteraciones propiamente tuberculosas, como por ejemplo ciertas enteritis crónicas seudotuberculosas del ganado vacuno (Bang, K. F. Meyer), así como en la lepra de las ratas.

Para que la investigación del bacilo de la tuberculosis no conduzca a conclusiones erróneas, hemos de estar prevenidos contra el hallazgo frecuente de bacilos ácido-resistentes y también contra otros motivos de error que expondremos en seguida. Es fundamental ante todo en la investigación de productos sospechosos de tuberculosis, tener particular cuidado de alejar, tanto del producto que haya de examinarse como de los útiles e instrumentos que debamos emplear, cualquier posibilidad que más tarde pueda ser motivo de hacernos creer equivocadamente en la presencia del bacilo tuberculoso. Esto puede ocurrir, en primer término, con verdaderos bacilos tuberculosos, procedentes de material empleado en investigaciones anteriores, que hubieran podido deslizarse en alguna preparación, en la que, en realidad, no existe el virus tuberculoso. Como el bacilo de la tuberculosis es muy resistente a la influencia de los agentes exteriores y a los procedimientos usados ordinariamente para limpiar los cristales en el laboratorio, lo más conveniente es utilizar únicamente cubre y portaobjetos nuevos (1), pues, de lo contrario, podría suceder que los cristales usados tuviesen adheridos bacilos procedentes de análisis anteriores. Ha de cuidarse también que, al usar el aceite de inmersión, la varilla de vidrio no toque la preparación, porque se ha dado el caso de que, de esta manera, vayan a parar bacilos al frasco del aceite y desde él pasen a otras preparaciones. Del material investigado debe alejarse también, en cuanto sea posible, toda posibilidad de contaminación con otros bacilos ácido-resistentes. El agua de la cañería puede también contenerlos, por lo cual en todo análisis debe emplearse agua destilada. Con los alimentos, leche y manteca principalmente, pueden ingerirse bacilos ácido-resistentes, y por esta razón, en los análisis de heces, para mayor seguridad del diagnóstico, el paciente se privará de leche y manteca los dos o tres días anteriores a la recogida del material. Por último, en el análisis de orina y de heces ha de prevenirse toda posibilidad de contaminación con los bacilos del esmegma, y para evitarlo lo más conveniente será extraer la orina con sonda.

(1) Los cristales usados, como tubos de centrifugación, tubos para agitación empleados en el método de la antiformina, que explicaremos más adelante, placas de Petri, etc., que se desee volver a emplearlos en investigaciones de tuberculosis, deben permanecer antes varias horas sumergidos por completo en ácido sulfúrico concentrado, para destruir con seguridad los bacilos que pudieran existir de los análisis anteriores.

No sólo los bacilos ácido-resistentes pueden ser considerados erróneamente como bacilos de la tuberculosis, sino que también puede ocurrir la confusión con productos de la descomposición de los tejidos, cristales de ácidos grasos y otros cuerpos semejantes, todos los cuales, en determinadas circunstancias, pueden ser motivos del mismo error. Esto es lo sucedido en muchos de los casos publicados en los últimos años, en los que se creyó haber encontrado el bacilo de la tuberculosis en la sangre. La presencia del germen tuberculoso en la sangre no ha sido comprobada de manera indudable sino en los casos de infección grave, y especialmente en la tuberculosis miliar. Los escasos bacilos que alguna vez se encuentran en infecciones leves sólo han podido comprobarse con seguridad por la inoculación en los animales.

En el caso de encontrarse bacilos aislados en muy escaso número, sospechosos de tuberculosis, estará singularmente indicado atenerse con todo rigor a todas estas prescripciones. Es frecuente que el diagnóstico de tuberculosis pueda establecerse desde luego con seguridad por el gran número de bacilos encontrados y su disposición característica en montones dentro de las células o en pequeños acúmulos en que se hallan entrelazados, aunque, como ya hemos indicado, la presencia de formas semejantes al bacilo de la tuberculosis puede inducirnos erróneamente en un sentido positivo, lo cual debemos evitar, procurando afinar los procedimientos de investigación, a fin de que si los verdaderos bacilos son muy escasos en el material examinado, no por ello escapen a nuestra observación. Con este objeto es necesario, en primer término, elegir con acierto el material de análisis; si se trata del examen de la expectoración, ha de hacerse en verdaderos esputos pulmonares y no en las mucosidades de las vías respiratorias superiores. Es conveniente, para el análisis, remitir los primeros esputos obtenidos durante la madrugada, y todavía mejor toda la expectoración recogida durante la noche y la mañana. El esputo, en primer lugar, se extiende cuidadosamente en un recipiente de cristal plano (una caja de Petri) sobre fondo negro, para examinar si existen partículas necróticas de color blanco amarillento (granos riciformes o «lentes»), las cuales conviene desde luego extraer del esputo y colocarlas entre dos portaobjetos para aplastarlas y proceder a su reconocimiento. De estas partículas, que suelen presentar la forma lenticular, pueden obtenerse cultivos puros por siembra directa en medios especiales (véase página 244), sin que sea necesario acudir a la inoculación en los animales.

Para la investigación del germen en la orina se utiliza el sedimento obtenido por centrifugación. El examen de las heces se facilita administrando opio al enfermo para conseguir excrementos sólidos, de cuya superficie se recogen luego fácilmente grumos mucopurulentos procedentes de las úlceras tuberculosas intestinales, y de este modo obtendremos un material muy adecuado para la investigación microscópica, en vez de utilizar las heces diarreicas tan frecuentes en la tuberculosis intestinal.

En la punción lumbar, puede aumentarse el contenido en bacilos, ordinariamente muy escaso en el líquido extraído, manteniéndolo, según TREMBUR, una o dos semanas en la estufa en tubos cerrados a la lámpara.

Para los análisis de leche y manteca se utiliza el sedimento obtenido al centrifugar, y de la leche se empleará, además, la nata que se reúne en la superficie después de tratarla mecánicamente, en la cual son también numerosos los bacilos de tuberculosis.

Cuando en el examen directo del producto sospechoso no se encuentren bacilos por ser escasos, se intentará aumentar su número por un tratamiento apropiado del material, que consiste en transformarlo en un líquido claro y homogéneo, del cual se obtienen los bacilos por sedimentación o, mejor aún, centrifugándolos. Todos los procedimientos empleados para aumentar el número de bacilos (métodos de « enriquecimiento ») han sido abandonados en la práctica bacteriológica por la preferencia concedida al método de la antiformina debido a UHLENHUTH. La antiformina (de DIRCKSEN, Berlín), solución de hipoclorito de sosa y sosa cáustica, disuelve casi sin dejar residuos todas las substancias orgánicas excepto las substancias lipoides ; en los productos líquidos o histológicos tratados con ella son disueltas las partículas de tejidos y todas las bacterias, a excepción de los esporos y los bacilos ácido-resistentes, por lo cual estos últimos se obtienen fácilmente del sedimento obtenido por centrifugación, sobre todo si al líquido homogéneo tratado con la antiformina se le añade previamente alcohol para disminuir su peso específico. El procedimiento consiste en lo siguiente :

El material en cuestión, esputos por ejemplo, se mezcla a partes iguales con antiformina al 50 % ; se agita la mezcla fuertemente y si es preciso se hierve, y dejándola reposar luego de media a dos horas, se le añade alcohol por partes iguales y se centrifuga durante un cuarto a media hora ; el sedimento obtenido, a fin de que se adhiera al portaobjetos, se pone en éste con esputo sin tratar o con una gota de una solución albuminóidea, luego se fija y se tiñe como de ordinario. Según STAUBLI, a fin de obtener de la sangre gran número de bacilos, conviene disolver los glóbulos rojos en ácido acético al 3 % y centrifugar después. Es preciso tener cuidado de no confundir en el campo del microscopio los bacilos de tuberculosis con partículas extrañas (residuos histológicos) (*V.* anteriormente).

El procedimiento de la antiformina ofrece la ventaja de poder emplearse también para la comprobación de los escasos bacilos que puedan existir en los órganos, cuyo hallazgo en preparaciones de cortes, sería muy difícil cuando no imposible de obtener, como sucede en los trozos de tejido en caso de lupus y en las granulaciones de las artritis tuberculosas. Los trozos o partículas de tejidos se mezclan

con una solución de antiformina al 25 % agitándolos con frecuencia hasta que se disuelvan. Para su examen se procede como anteriormente.

Cuando tampoco con el procedimiento auxiliar de enriquecimiento se consigue comprobar la existencia de bacilos, hay que acudir como reactivo más sensible a la inoculación en los animales. Es conveniente hacer la inoculación con el producto homogeneizado con la antiformina y lavado después con solución fisiológica, ya que la antiformina en las soluciones y tiempo de actuación indicados no destruye los ba-

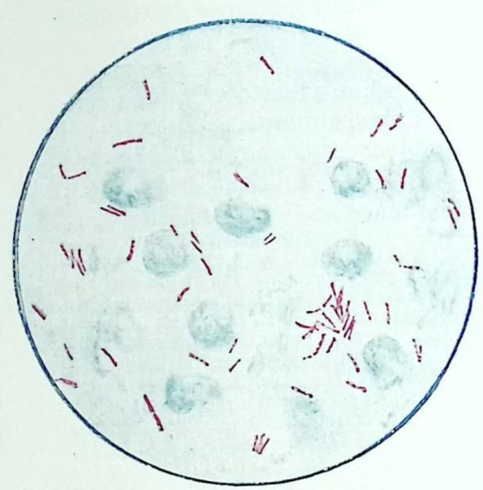


FIG. 128. Bacilos de la tuberculosis en un esputo sin enriquecimiento por la antiformina. (Coloración de ZIEHL - NEELSEN)

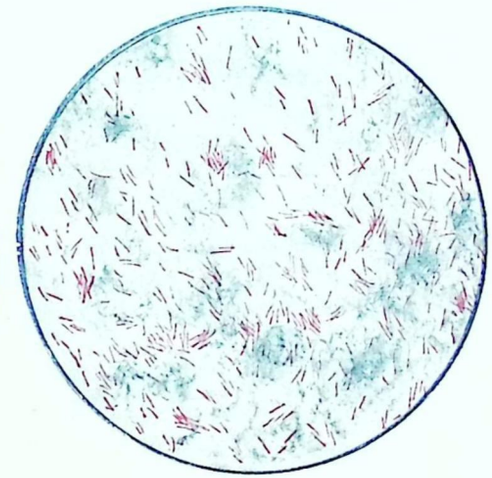


FIG. 129. Bacilos de la tuberculosis en esputo con enriquecimiento por la antiformina. (Coloración de ZIEHL-NEELSEN)

cilos y, además de proporcionarnos mayor número de gérmenes, ofrece la ventaja de que permite eliminar otros gérmenes capaces de producir una infección mixta (estreptococos), que daría lugar a la muerte prematura del animal inoculado. Con fines diagnósticos se utiliza exclusivamente el conejillo de Indias, que es muy receptivo, al cual se inocula el producto sospechoso por inyección intraperitoneal o hipodérmica (en el pliegue de la ingle). Los animales mueren al cabo de seis u ocho semanas, presentando desnutrición general progresiva, además de inflamación de los ganglios de la región y, frecuentemente también, alteraciones tuberculosas en el punto de inoculación. Nunca recomendaremos bastante que no se formule el diagnóstico de tuberculosis por el simple resultado de la autopsia, pues hay enfermedades, cuyas lesiones examinadas a simple vista son semejantes a las tuberculosas, y, sin embargo, han sido causadas por gérmenes muy distintos. A esta clase pertenece especialmente la seudotuberculosis de los roedores, espon-

tánea y frecuente en el cobayo, en el que determina numerosos nódulos en el bazo y cuyo germen, afín al de la peste, pertenece al grupo de los de la septicemia hemorrágica de coloración bipolar. También el germen de la seudotuberculosis del carnero, semejante al anterior y que es preciso tener en cuenta al examinar carnes sospechosas, puede infectar al cobayo y producirle lesiones anatomopatológicas muy parecidas, aunque de curso mucho más rápido. Es preciso, por consiguiente, comprobar en todo caso, por el examen microscópico, la existencia de bacilos en los órganos, y cuando el examen directo no proporcione un resultado satisfactorio se recurrirá a los cultivos. Para ello se extirpan los nódulos con instrumentos estériles, se hacen siembras de ellos en agar glicerinado, y se mantienen en la estufa, catorce días por lo menos, en tubos herméticamente cerrados mediante un capuchón de goma o con parafina. Si los animales inyectados no han muerto a las ocho semanas, se les mata, y se practica una autopsia minuciosa para comprobar las escasas lesiones tuberculosas que se producen al inyectar un número de bacilos reducido.

Varios son los procedimientos intentados a fin de abreviar la duración de la investigación en los animales. Es conveniente desde luego pesar semanalmente a los cobayos, y cuando la disminución es intensa y el infarto de los paquetes ganglionares se percibe claramente por el tacto a través del abdomen, puede practicarse inmediatamente la autopsia. No es admisible el procedimiento de aplastar entre los dedos o malaxar los ganglios de la región en el momento de la inoculación, para crear así un lugar de mínima resistencia donde se localice con más rapidez el proceso tuberculoso, porque con ello pueden determinarse adenitis que equivocadamente tomaríamos por tuberculosas, con lo cual al proceder a la autopsia nos hallaríamos con que se dió por terminada la experiencia antes de tiempo. El procedimiento más sensible para comprobar la tuberculosis incipiente en el conejillo, consiste en inyectarle por vía intracutánea 0'02 c. c. de tuberculina (Römer, Esch, Schürmann); por este medio puede comprobarse la tuberculosis a los diez o catorce días de la inoculación; si el resultado es negativo, debe esperarse a lo que resulte de la autopsia, que se verificará transcurridas cuatro semanas.

Si todos los medios auxiliares del diagnóstico dan resultado negativo, no por ello queda probado que el enfermo de quien procede el producto examinado esté libre de tuberculosis. Prescindiendo de los casos de tuberculosis abiertas (esto es, de los casos en que la infección está en comunicación franca con el exterior), que a veces, sobre todo en los casos benignos y en los incipientes, no eliminan bacilos sino en determinados momentos (dificultad que puede salvarse repitiendo el examen), es preciso tener presente que hay casos de tuberculosis cerradas en que los ganglios linfáticos o los focos pulmonares enquistados no eliminan bacilo alguno al exterior. Estas afecciones tuberculosas cerradas pueden mantenerse así durante largo tiempo en la mayor parte de los casos o transcurrir indefinidamente sin síntomas. La extraordinaria frecuencia de estos casos se deduce de las investigaciones sistemáticas realizadas por Nageli, quien, examinando en varias localidades personas cuya muerte era notoriamente causada por una afección no tuberculosa, encontró en más de un 90 % focos de tuberculosis latente. Esta infección latente se adquiere ya en la infancia, y según veremos más adelante al exponer el procedimiento de Pirquet, por lo que a la población urbana se refiere, bien puede afirmarse

que al llegar a la pubertad casi todos los individuos han sido infectados. Se ha discutido mucho las vías de contagio por las que el bacilo llega a producir esta infección latente tan generalizada. Koch y Flugge sostienen la opinión de que la principal puerta de entrada está en las vías respiratorias, mientras que Behring, Calmette y Weichselbaum afirman que el virus penetra por la mucosa intestinal, muy permeable hasta la adolescencia, y que desde ésta pasa secundariamente a los ganglios y pulmones. Si consideramos las circunstancias cuantitativas de la infección, expuestas anteriormente, según las cuales en la investigación en animales, la infección por el intestino requiere dosis millones de veces mayores que la infección por la vía respiratoria, y si recordamos, por otro lado, que los bacilos de origen bovino apenas intervienen como causa de la tisis pulmonar, y, finalmente, si comparamos las circunstancias exteriores de infección respecto de ambas vías de contagio, adoptaremos incondicionalmente el punto de vista de Koch-Flugge, que consideran las vías respiratorias como la principal puerta de entrada de la tuberculosis.

El contagio puede verificarse al inspirar polvo seco infectado, o directamente por las partículas expulsadas por los enfermos al toser, e inspiradas luego por las personas que los rodean. Este segundo mecanismo de contagio es, según los estudios de Flugge, el más frecuente, porque el esputo no se transforma tan fácilmente en polvo infectado, y, además, al respirarlo no llega a los pulmones con tanta facilidad como las partículas finamente pulverizadas expulsadas con la tos. Por suciedad (especialmente en los niños que todo lo manosean y todo lo revuelven) pueden también llegar a la boca, por contacto directo, partículas de expectoración tuberculosa y producir la tuberculosis de la garganta. La ocasión de contagio es, por consiguiente, muy frecuente en la infancia, sobre todo en las familias donde hay enfermos.

Para que de la infección latente sobrevenga una afección tuberculosa manifiesta y especialmente el cuadro característico de la tuberculosis pulmonar crónica, son necesarias, en la mayor parte de los casos, ciertas condiciones previas, que consisten esencialmente en determinadas circunstancias mecánicas, que al dificultar la circulación linfática y la renovación del aire en los vértices pulmonares, hacen que éstos ofrezcan condiciones para que el bacilo tuberculoso se localice en ellos, así como para la retención de elementos corpusculares como, por ejemplo, el polvo de carbón. Entre estas circunstancias mecánicas, las principales son: el estrechamiento de la abertura superior del tórax por acortamiento del primer cartílago costal (Freund y Hart), y la depresión del plano de la misma abertura superior del tórax (Bacmeister), bien sea por debilidad muscular, por vida sedentaria, por anomalías respiratorias consecutivas a catarros crónicos, etc. Estas circunstancias favorables a la localización del germen tuberculoso en los vértices pulmonares, explican, según Birch-Hirschfeld, el hecho de la frecuencia de esta localización primitiva de la tuberculosis pulmonar. Desde los vértices se extiende el proceso al resto de los pulmones. Para el clínico toda la