cuestión estriba en conocer a tiempo el momento en que el proceso, latente al principio, se convierte en proceso activo.

Como la comprobación de bacilos en los esputos, tan valiosa para el diagnóstico en los casos de resultado positivo, no es practicable en casos incipientes, en tanto que se trate de focos aún cerrados, es preciso recurrir a las reacciones biológicas del organismo infectado por el virus tuberculoso. El empleo de la aglutinación y de otros medios serológicos no ha sido posible todavía. En cambio, la reacción a la tuberculina ha dado excelentes resultados para conocer en sus comienzos las afecciones tuberculosas. La inyección de pequeñas cantidades de tuberculina (tuberculina antigua), producto soluble de cultivos tuberculosos en caldo glicerinado, produce en el organismo tuberculoso, pero no en el sano, una reacción característica local y general, explicable en el sentido de una manifestación de hipersensibilidad por parte del organismo sensibilizado por los productos solubles de los bacilos que se encuentran en su interior (*V.* el capítulo de ANAFILAXIA en la Parte general, pág. 114). La reacción a la tuberculina administrada por la vía hipodérmica, según el método clásico de KOCH, es decisiva para reconocer la tuberculosis activa incipiente. Se comienza por dosis de 0'1 mgr., y observando con exactitud la reacción local y general (fiebre, tumefacción y enrojecimiento en las lesiones o síntomas locales), y cada cuatro días, aproximadamente, se aumenta la dosis poco a poco hasta 5 a 10 mgr. Si estas últimas dosis no producen reacción, debe considerarse al enfermo libre de focos de tuberculosis activa. De manera semejante puede observarse la reacción en la conjuntiva palpebral, instilando en ella una gota de solución de tuberculina al 1 %, pero esta oftalmo-reacción de CALMETTE produce, a veces, una inflamación local considerable. La aplicación de la tuberculina en la piel perfeccionó mucho el método; las insignificantes reacciones locales que produce demuestran no sólo la existencia de focos activos, sino también la de los focos enquistados, latentes, que carecen de significación clínica. Aplicado este método a los niños de las grandes poblaciones dió en casi todos, como ya hemos dicho anteriormente, un resultado positivo.

La tuberculina puede ser aplicada a la piel por los procedimientos siguientes:

1. Como reacción intracutánea (RÖMER), por inyección de la tuberculina en el dermis, en el cual, si el resultado es positivo, se forma una pápula característica. Algo menos sensibles, aunque más fáciles de realizar, son las dos pruebas siguientes:

2. Reacción cutánea (véase cuti-reacción de PIRQUET), por aplicación de algunas gotas de una disolución de tuberculina antigua al 25 % en dos puntos del brazo ligeramente escarificados; entre las dos escarificaciones se practica otra sin tuberculina, como control.

3. Método percutáneo (MORO, PETRUSCHKY), mediante fricciones durante un minuto con una pomada compuesta a partes iguales de tuberculina y lanolina.

Las reacciones cutáneas con la tuberculina no pueden ser repetidas en plazo breve, porque la sensibilización adquirida por la primera puede ser causa de una falsa interpretación en las reacciones posteriores.

23. Bacilo de la lepra

El germen de la lepra fué descubierto por ARMAUER-HANSEN en 1873 y estudiado más tarde por A. NEISSER especialmente. El bacilo de la lepra, lo mismo que el de la tuberculosis, pertenece al grupo de las bacterias ácido-resistentes, pero esta propiedad no es en él tan evidente como en aquél. Con frecuencia se consigue teñirlo, sometiéndolo durante diez minutos a la acción de las soluciones acuosas colorantes corrientes, que generalmente no tiñen el bacilo de la tuberculosis.

Sin embargo, no puede concederse gran valor a esta diferencia, y en caso de duda sólo la investigación en animales nos revelará si se trata de uno u otro de ambos gérmenes; el conejillo de Indias, tan receptivo a la tuberculosis por las vías subcutánea e intraperitoneal, se muestra completamente indiferente a la lepra, aunque se le inocule una gran cantidad de gérmenes. Las tentativas de contagio de animales con material procedente de lepra humana, aun en los cuadrumanos más semejantes al hombre, han dado hasta la fecha resultados completamente negativos o sólo manifestaciones dudosas en algunos casos. Tampoco se ha logrado, hasta la fecha, el cultivo del bacilo de la lepra; a pesar de los numerosos resultados negativos, algunos investigadores pretenden haberlo conseguido, pero las formas descubiertas, algo semejantes al bacilo de la difteria o a los estreptotrices, no han sido reconocidas como verdaderas por la generalidad. Para la práctica del diagnóstico no contamos, pues, con otro medio que la preparación microscópica.

La lepra se presenta en el hombre bajo dos formas diferentes: la tuberosa y la máculo-anestésica (nerviosa); existen, además, otras formas mixtas y de transición, especialmente la correspondiente al paso o tránsito de la afección tuberosa subsistente largo tiempo a la forma nerviosa. La forma tuberosa se caracteriza, como indica su nombre, por la presencia de nódulos o tumores (lepromas) que se localizan especialmente en la cara; además, aparecen en la piel, lo mismo que en la forma máculo-anestésica, manchas pigmentadas o sin pigmento, así como engrosamientos y degeneración de los troncos nerviosos periféricos con zonas anestésicas cutáneas. En la forma nerviosa estas lesiones nerviosas y tróficas son las que predominan en tanto que faltan los tumores. En ambas formas es muy frecuente, a veces, como primero y único síntoma de la enfermedad, la existencia de una úlcera cerca del extremo anterior del cornete medio, que debe considerarse, probablemente, como el chancro inicial de la lepra (R. KOCH y G. STICKER).

En esta úlcera, cuya secreción consiste a menudo en un líquido claro, purulento o gelatinoso, pueden comprobarse, por el examen de frotis teñidos, grandes cantidades del bacilo de la lepra amontonados en parte dentro de las células. En casos sospechosos de lepra nunca debe omitirse el examen de la cavidad nasal, valiéndose, si es preciso, de la rinoscopia. De igual manera hay que estar prevenido

contra la presencia de úlceras sospechosas en la boca y en la faringe, que contienen igualmente grandes cantidades de bacilos. Estos se encuentran también en las demás lesiones producidas por la lepra, tales como los nódulos, los engrosamientos de los nervios y, a veces también, en partes de la piel en apariencia sanas. La sangre puede contener, asimismo, bacilos de la lepra, especialmente durante las agudizaciones de la enfermedad, observándose entonces generalmente dentro de los leucocitos.

En la forma tuberosa de la lepra, por regla general, son muy numerosos los bacilos y su disposición es característica, mientras que en la

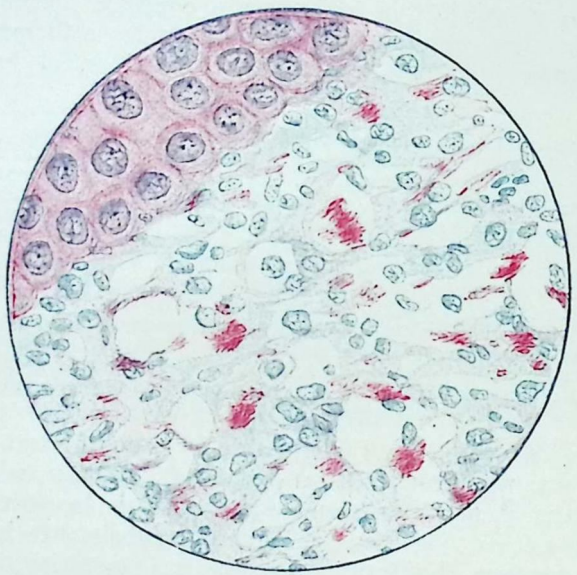


FIG. 130. Corte de un leproma. Coloración de ZIEHL-NEELSEN (aumento 1 : 500)

forma máculo-anestésica se encuentran pocos bacilos, y con frecuencia es preciso hacer numerosas preparaciones para conseguir ver algunos. En estos casos es recomendable valernos, para las porciones de tejido biopsiadas, del método de la antiformina, pero dada la escasa resistencia del bacilo de la lepra no se usará la antiformina en soluciones superiores al 10 %, ni su acción se prolongará más allá de media hora.

En casos de lepra tuberosa, la abundancia y disposición característica de los bacilos en los nódulos permite, generalmente, formular el diagnóstico bacteriológico sin tener en cuenta más que las preparaciones de frotis o, mejor aún, de cortes de las partes enfermas de la piel. El bacilo de la lepra se encuentra, por lo regular, agrupado en el interior de las células (células leprosas) y en masas espesas fuera de éstas, especialmente en las lagunas linfáticas que rodean los capilares ; es frecuente la comprobación de masas informes llamadas *globos*, resultantes de la agrupación de bacilos y de su substancia intercelular, masas que, mediante la coloración de ZIEHL, se tiñen como los bacilos típicos de la lepra. Si el resultado del análisis de partes sospechosas de la piel o de la cavidad nasal fuese negativo, será conveniente escindir un fragmento de nervio hipertrofiado y hacer cortes en serie para examinarlo, o bien emplear el método de la antiformina.

No existe por ahora un procedimiento serológico específico para diagnosticar la lepra ; como consecuencia de la afinidad del germen de la lepra con el bacilo tuberculoso, los enfermos de lepra reaccionan también a las inyecciones subcutáneas de tuberculina. Ha alcanzado gran importancia práctica para el diagnóstico de la lepra la reacción no específica de los leprosos, consistente en administrarles yoduro potásico, lo cual les produce fiebre y fenómenos de inflamación y enrojecimiento de los focos leprosos. Todavía no ha podido darse una explicación satisfactoria del mecanismo de esta reacción.

III. Vibriones patógenos

Vibrión del cólera asiático

El único vibrión patógeno para el hombre es el vibrión del cólera, descubierto por R. KOCH en el año 1883 en Egipto y en la India con motivo de la misión científica enviada por Alemania a estos países, y comprobado después en todas las epidemias de cólera observadas desde entonces independientemente de la localidad y de la estación del año en que se desarrollaron.

El vibrión del cólera asiático, llamado también bacilo del cólera y bacilo vírgula, es un bastoncito arqueado, o más bien representa un sector de vuelta de hélice, comprobándose, en algunos individuos, el encorvamiento según dos planos perpendiculares entre sí ; en cultivos en caldo, algo viejos, crece en forma de largos espirilos con numerosas vueltas. La forma y el tamaño varían algo según las distintas razas ; hay variedades cortas, gruesas, de forma oval o arriñonada, y otras más alargadas y delgadas, casi bacilares perfectas, en las que la curvatura apenas se distingue ; esta desviación de la forma normal es frecuente, especialmente en razas de laboratorio cultivadas largo tiempo. Pero en todas ellas siempre presenta el vibrión del cólera un solo flagelo que parte de uno de los polos ; esta propiedad es tan regular, que la presencia de varios flagelos en un vibrión excluye, sin más, el diagnóstico de cólera.

El vibrión del cólera posee movimiento propio muy vivo ; el cuadro que se observa en gota pendiente se ha comparado, con acierto, a un enjambre de mosquitos volando. El vibrión del cólera se tiñe fácilmente con los colores usuales de anilina, y mejor aún con fucsina diluída, pero no toma la coloración de GRAM. No forma esporos y ofrece poca resistencia a las influencias exteriores desfavorables ; es singularmente sensible a los ácidos y a la desecación, de manera que su propagación por el polvo seco está excluída en absoluto. También es muy sensible a temperaturas elevadas, y muere en pocos minutos a 56°. Respondiendo a su procedencia originaria (de las aguas tropicales del delta del Ganges) no se desarrolla a temperaturas de menos de 20°, pero

conserva la vida aun después de permanecer largo tiempo a temperaturas bajas y después de fríos intensos. Su temperatura óptima es la de 35° a 37° ; a los 38° se inicia ya la paralización de su desarrollo. El vibrión del cólera sólo se desarrolla directamente en presencia del aire, y en los medios líquidos se reúne en la superficie, donde, en virtud de su crecimiento, favorecido por la presencia de oxígeno, llega a formar un velo visible a simple vista. Como que en su origen procede del agua, le bastan soluciones nutritivas muy diluídas. Tan sensible como es a la acción de los ácidos, se muestra resistente al exceso de álcalis, y su crecimiento óptimo se obtiene con una alcalinidad del medio tan elevada (3 c. c. de una solución al 10 % de Na_2CO_3 cristalizado en 100 c. c. de medio neutro al tornasol) que las demás bacterias no la soportan o sólo se desarrollan con dificultad. Estas particularidades biológicas de crecimiento en medios líquidos poco nutritivos y muy alcalinos, y la necesidad de oxígeno, se aprovechan en los cultivos, y hacen del agua de peptona un medio electivo en alto grado para el vibrión del cólera, medio en el cual la mayor parte de las bacterias se desarrollan con dificultad y, en cambio, los vibriones del cólera crecen abundantemente, de modo que, con este método de enriquecimiento, es posible obtener en pocas horas cultivos de vibriones, aun siendo originariamente escasos. Los vibriones se reúnen en la superficie de esta solución nutritiva y, merced a su intenso desarrollo, a las seis u ocho horas de la siembra, pueden comprobarse al microscopio o por siembra en otros medios.

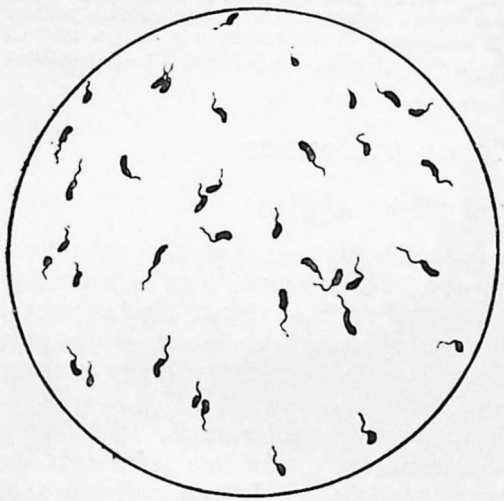


Fig. 131. Vibrión del cólera asiático. Flagelos (aumento 1 : 1000)

El agua de peptona se prepara en la forma siguiente : Se tiene preparada de antemano una solución concentrada de agua de peptona esterilizada, a la que se añaden 10 partes de agua común debidamente hervida, para poder diluirla antes de usarla. La solución concentrada debe contener, por cada 100 partes de agua, 10 gramos de peptona (Witte), 10 gramos de NaCl y 0'1 gramo de KNO_3 ; este último con objeto de comprobar la formación de nitritos a que da lugar la acción reductora del vibrión del cólera. Esta comprobación se verifica al mismo tiempo que la del indol en forma de la reacción indol-nitrosa o reacción roja del cólera ; añadiendo unas gotas de ácido sulfúrico o clorhídrico diluídos, aparece el color rojo. No se emplean ácidos concentrados para provocar la reacción, porque el color castaño resultante de la descomposición de substancias orgánicas podría perturbar la reacción o confundirnos al observarla.

Entre los demás medios empleados para el cultivo del vibrión del cólera merecen citarse los siguientes como más acreditados en la práctica : La gelatina y el agar deben ser empleados como de ordinario, pero con el grado de alcalinidad indicado anteriormente, que tanto favorece el desarrollo del vibrión colérico. En las placas de gelatina se desarrolla en colonias de aspecto muy característico, que a las veinticuatro horas y a 22° son visibles a simple vista en forma de puntos muy pequeños, y observadas con pocos aumentos, presentan un borde irregular y un aspecto abollonado y brillante, tal como si estuviesen compuestas de partículas de vidrio ; posteriormente, la gelatina se liquida

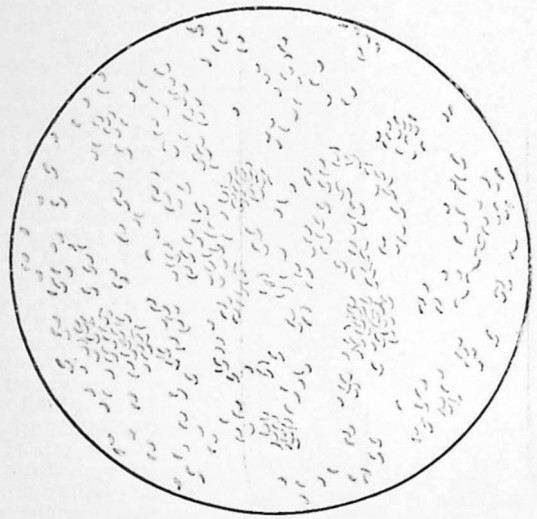


Fig. 132. Vibrión del cólera asiático. Cultivo puro. Coloración con fucsina fenicada diluída (aumento 1 : 500)

alrededor de la colonia formándose como un círculo o embudo. Esto mismo se observa también, de una manera típica, en los cultivos en gelatina por picadura; la fusión de la gelatina por el vibrión del cólera se diferencia de la que determinan otros vibriones saprofíticos por verificarse con más lentitud, pues en las primeras veinticuatro a cuarenta y ocho horas, únicamente se liquida, en forma de cáliz, la parte superior del cultivo por picadura, y encima presenta una burbuja de aire producida por la evaporación, mientras que, en el sentido de la profundidad, el crecimiento sólo se verifica a lo largo de la picadura sin llegar a fundir la gelatina. A pesar del aspecto extraordinariamente característico de las colonias de cólera en gelatina, se ha desistido, en los últimos años, de emplear este medio para el diagnóstico, porque actualmente poseemos otros más rápidos y que ofrecen mayor confianza. Entre ellos, figura, en primer término, la siembra en placas de agar, en las cuales crece el vibrión en forma de colonias planas de 2 a 3 mm. de diámetro, transparentes y de un color azulado opalescente cuando reciben la luz

directa. Los dos medios de cultivo siguientes, debidos a DIEUDONNÉ y ARONSON, poseen una acción electiva mucho mayor para los vibriones del cólera, que los medios de agar o gelatina muy alcalinizados descritos anteriormente.

El medio de DIEUDONNÉ se prepara de la manera siguiente : una cantidad de sangre desfibrinada de ternera se mezcla con una cantidad igual de solución normal de potasa (que contiene próximamente un 6 % de potasa cáustica), y la mezcla se esteriliza sometiéndola media hora al vapor circulante. De esta solución de sangre y álcali, que se conserva inalterable durante meses, se toman 30 partes que se mezclan con 70 partes de agar neutro al tornasol, y el todo se vierte en placas y se deja secar, estando éstas destapadas, durante media hora en la estufa. El medio no es utilizable hasta pasadas veinticuatro horas, y no antes, porque a consecuencia del gran desarrollo de amoníaco, se impediría el crecimiento de los vibriones. Las placas DIEUDONNÉ, así preparadas, se conservan en buen estado de ocho a diez días. Para preparar agar de DIEUDONNÉ que pueda utilizarse inmediatamente, LENTZ recomienda obtener un polvo seco de la mezcla de sangre y álcali y del agar neutro, el cual sirve para preparar las placas en el momento que se necesitan. En el medio de DIEUDONNÉ crecen muy pocas bacterias fuera de los gérmenes del cólera y de los vibriones semejantes a él ; las colonias de cólera son visibles a las diez o doce horas en forma de discos planos transparentes. En la práctica, es más cómodo aún el medio indicado por ARONSON, compuesto según el principio del agar de ENDO (*V.* el capítulo FIEBRE TIFOIDEA) ; pero que en lugar de contener lactosa contiene sacarosa y dextrina, y por su elevada alcalinidad es de una gran acción electiva para el vibrión del cólera. Se prepara de la manera siguiente : se toman 100 c. c. de agar líquido y neutro, y se añaden 6 c. c. de solución de carbonato sódico al 10 % ; la mezcla se esteriliza al vapor circulante, con lo cual el medio se enturbia y toma un color castaño, después se añaden 5 c. c. de sacarosa en disolución al 20 %, 5 c. c. de solución de dextrina también al 20 %, 0'4 c. c. de solución alcohólica saturada de fucsina y 2 c. c. de sulfito de sosa al 10 %. Se deja depositar el sedimento y se reparte en placas, que deben secarse dos horas en la estufa antes de usarlas. Las placas no deben exponerse a la luz del día, porque, de lo contrario, el medio, de color castaño claro, se vuelve rojo. En el medio de ARONSON las colonias de cólera aparecen a las quince o veinte horas en forma de discos rojos brillantes, con una zona marginal muy estrecha incolora. El resultado práctico es excelente, pues como son tan visibles, se descubren con gran facilidad las colonias coléricas, aun cuando existan en escasísimo número en las deposiciones.



FIG. 133. Reacción roja del cólera



FIG. 134. Vibrión del cólera. Cultivo en gelatina. Fusión a los tres o cuatro días

La propiedad electiva de estos medios comprende no sólo al vibrión colérico, sino también a los numerosos vibriones saprofíticos semejantes, como los que se encuentran algunas veces en las aguas impuras,

y que ingeridas en ocasiones por el hombre, pueden por este motivo ser hallados en sus deposiciones. Esto ocurre especialmente en los veranos rigurosos y, sobre todo, en los países de clima cálido, en donde los vibriones no específicos demostrables en las deposiciones son más frecuentes que en los países del centro de Europa. Muchos de estos vibriones no se distinguen del germen colérico, ni por su forma ni por sus propiedades de cultivo. En algunos es posible su diferenciación por su acción patógena en la paloma (vibrión de METSCHNIKOFF), por la fosforescencia de sus cultivos, por presentar varios flagelos, por la rapidez con que funden la gelatina, etc. La diferenciación absoluta sólo la proporcionan las reacciones serológicas específicas, ya sea por la prueba de PFEIFFER, ya por la aglutinación, aquilatando la titulación hasta el límite y empleando sueros específicos de absoluta garantía, como los de la Dirección general de Sanidad o los del « Instituto de enfermedades infecciosas Robert Koch » en Berlín, así como los procedentes de otros diversos Institutos oficiales de Seroterapia. (Acerca de la práctica de estas reacciones específicas, véase el capítulo V de la Parte general.)

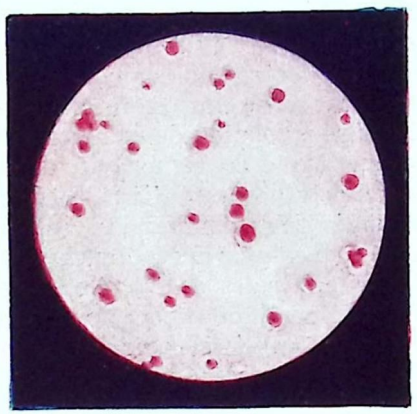


FIG. 135. Colonias de cólera en agar de ARONSON (tamaño natural)

En la aglutinación no deben emplearse cultivos más jóvenes de seis horas, porque con frecuencia se aglutinan espontáneamente, aun en solución fisiológica, y por otra parte puede ocurrir también que por el momento sean inaglutinables.

Antes de ocuparnos de la práctica del diagnóstico del cólera, debemos explicar la acción y efectos del germen en el organismo humano. El vibrión del cólera se localiza, específicamente, en la mucosa intestinal, en la cual produce una extensa infección del epitelio, y penetra también hasta el fondo de las glándulas, en donde, por cortes de la pared intestinal, puede comprobarse su localización característica ; en cambio, rara vez se le encuentra en la sangre y en los demás órganos. Así ocurre, que de las secreciones y excreciones de los enfermos de cólera, únicamente las heces contienen el germen, siendo muy raro encontrarlo en las materias vomitadas porque los ácidos del jugo gástrico lo destruyen. El desarrollo del vibrión en el intestino está favorecido cuando influencias extrañas disminuyen la resistencia del epitelio intestinal. Las formas clínicas de la infección colérica son muy diferentes, según la resistencia o receptividad del organismo. En los casos más leves, el cuadro clínico se limita a una diarrea sencilla (diarrea colérica), que, como diarrea premonitoria, puede iniciar el estado álgido con los graves síntomas que le acompañan, anuria, calambres, afonía, postración, fenómenos todos

debidos, en parte, a la disminución de agua en el organismo, consecutiva a la intensa diarrea líquida, y, en parte también, debidos a la intoxicación general. Esta intoxicación por el vibrión colérico se debe a las substancias tóxicas del cuerpo de la bacteria. En los cultivos, no se ha logrado comprobar toxinas solubles, y si algunas veces se ha conseguido, ha sido siempre con razas atípicas; en cambio, con los gérmenes muertos por el cloroformo se produce en los animales los mismos efectos tóxicos que con los cultivos vivos. Estas substancias tóxicas íntimamente unidas al protoplasma bacteriano, llamadas por PFEIFFER *endotoxinas* para diferenciarlas de las verdaderas toxinas solubles, como las de la difteria y el tétanos, son evidentemente reabsorbidas por la mucosa intestinal.

En los animales puede producirse experimentalmente de varias maneras en su mucosa intestinal un proceso análogo al del cólera en el hombre y seguido de intoxicación general del organismo. KOCH fué el primero que consiguió esta demostración en los conejillos de Indias, administrándoles cultivos de cólera por medio de una sonda esofágica, después de neutralizar la ácidez gástrica con solución de sosa y procurando disminuir la resistencia del intestino haciéndoles ingerir tintura de opio. En los conejos de leche se produce la infección natural de cólera a partir de la boca, lo mismo que en el hombre. En estos animales aparece también el cólera intestinal característico después de una inyección intravenosa de vibriones del cólera, los cuales asientan entonces y se desarrollan electivamente en el intestino delgado. La inyección intraperitoneal en el conejillo de Indias produce un cuadro clínico distinto, porque en este caso el proceso de infección queda en segundo término, ya que al inyectar una dosis de cultivo no muy superior a la dosis letal mínima, los vibriones inyectados no se desarrollan en absoluto, sino que mueren en el líquido de la cavidad peritoneal, y la reabsorción consiguiente de las endotoxinas que quedan libres al morir los gérmenes, inicia al mismo tiempo el proceso tóxico ; la infección colérica producida por vía intraperitoneal en el conejillo, no es, por consiguiente, igual en todo a la enfermedad en el hombre, sino análoga a su segunda fase, al estado álgido derivado del efecto tóxico de las endotoxinas.

No cabe dudar de la significación etiológica del vibrión del cólera respecto de esta enfermedad en el hombre, puesto que se conoce una serie de casos de autoinfecciones de laboratorio, voluntarias unas veces e impensadas otras, seguidas del cuadro clínico del cólera más o menos grave, hasta con desenlace mortal en algunos casos, y en una época en que la localidad estaba libre de esta enfermedad y, por lo tanto, no era posible atribuir este contagio a otras causas. Además de las afecciones coléricas clínicamente manifiestas, existe en el hombre, con frecuencia, una infección de cólera latente. En algunos casos es prácticamente imposible decidir si el hallazgo del germen colérico en las heces de una persona significa una afección clínica o una afección latente, pues, como ya hemos dicho, la enfermedad puede transcurrir en forma extraordinariamente leve, de tal suerte, que aun el mismo atacado no se dé cuenta de estar enfermo. Estos casos leves o ambulatorios son igualmente contagiosos, y tanto más peligrosos para la propagación de la enfermedad, cuanto que escapan por completo a la comprobación. Por otra parte, la presencia de vibriones coléricos en las heces de un individuo al parecer sano, puede provenir de una afección pasada, ya que el germen se mantiene en las heces hasta dos semanas después de la aparente curación completa. La eliminación prolongada de gérmenes en los convalecientes durante muchas semanas o meses, tal como sucede en la fiebre tifoidea, es muy rara, y no existe, o al menos se desconocen, eliminadores permanentes de gérmenes del cólera. Existe, en cambio, una infección latente, pasajera, que desaparece a los pocos días sin el menor síntoma de la enfermedad. Estos casos de infección latente, de verdaderos portadores de gérmenes coléricos, aparecen naturalmente después de haber estado en contacto con un enfermo de cólera, y casi siempre se observan entre los allegados de este último.

Además de las personas enfermas o infectadas en estado latente son también causas de contagio del cólera, las aguas o alimentos contaminados, especialmente la leche, porque el vibrión puede mantenerse vivo algún tiempo tanto en el agua como en los alimentos, y en circunstancias favorables es capaz hasta de reproducirse en ellos (véase el Capítulo VII de la Parte general). La comprobación del vibrión del cólera en el agua se ha conseguido, en varios casos, de manera indiscutible en absoluto. (Acerca de la técnica del análisis, véase más adelante.) Las epidemias de cólera producidas por el agua potable y las causadas de manera semejante por la leche, son distintas, epidemiológicamente, de las mucho más frecuentes debidas al contagio directo. En el primer caso, la existencia de un origen de contagio que afecta a la generalidad determina una verdadera explosión de la epidemia por las infecciones en masa causadas en el primer momento, mientras que en el segundo caso, en que cada enfermo crea a su alrededor nuevos focos de contagio, el desarrollo de la epidemia es más lento y los distintos casos están enlazados entre sí.

Respecto de las particularidades del diagnóstico del cólera, recomendamos las detalladas instrucciones oficiales dictadas por el Consejo del Imperio Alemán en 9 de Diciembre de 1915.

A continuación razonaremos y expondremos brevemente los rasgos fundamentales de este diagnóstico.

Como material de investigación se utilizan las heces; las materias vomitadas es un material menos adecuado (V. lo dicho anteriormente). Si en el momento del reconocimiento no pueden obtenerse heces, se aplica un supositorio de glicerina para provocar una evacuación. Esto se hace especialmente cuando se trata del reconocimiento en masa de las personas que rodean a un enfermo de cólera con el fin de determinar los casos de infecciones latentes. Lo mejor es emplear heces recientes, asegurándose en todo caso de que las deposiciones contenidas algún tiempo en un recipiente no han sido mezcladas con desinfectantes, pues como es sabido, los vibriones del cólera mueren con gran facilidad. Esto es de temer con excrementos evacuados tiempo ha, principalmente si se encuentran en estado de fermentación amoniacal. No es recomendable extraer el contenido intestinal de los cadáveres coléricos por medio de una sonda introducida en el ano o por un procedimiento semejante, porque en el intestino grueso y en el recto pueden haber muerto los gérmenes a consecuencia de la reacción ácida del contenido intestinal, o por la concurrencia de los bacilos de la putrefacción. Es preferible extraer de los cadáveres una porción

de intestino de 10 cm. de longitud, eligiéndolo de la parte inferior del intestino delgado ; para ello basta una pequeña incisión de algunos centímetros nada más, prescindiendo del resto de la autopsia. El envío de material sospechoso de cólera al laboratorio más próximo, se hace en recipientes especiales que se obtienen en las farmacias o de los médicos municipales. Estos recipientes deben ser de cristal, de cierre perfecto y contenidos en un sólido embalaje de madera. El envío se hará lo más rápidamente posible, y debe prevenirse por telégrafo. Para comprobar casos de cólera después de pasada la enfermedad, se utilizará el análisis serológico de una muestra de sangre de la persona sospechosa, según quedó descrito en el capítulo V de la Parte general. La sangre, en caso de necesidad, puede obtenerse como para la reacción de WIDAL en la fiebre tifoidea, por punción en el lóbulo de la

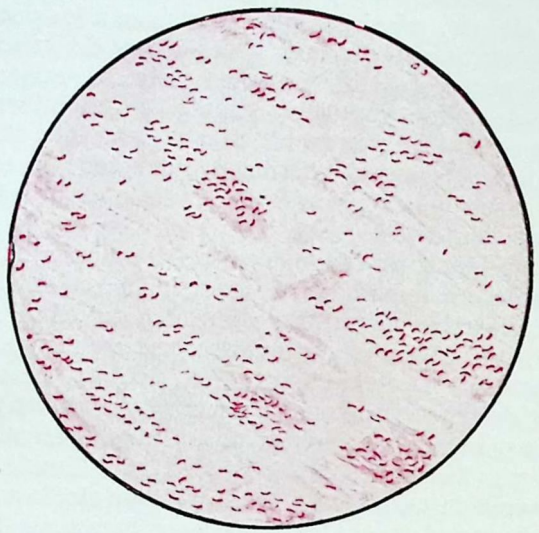


FIG. 136. Frotis de un coágulo mucoso con gran número de vibriones. Coloración con fucsina fenicada diluída (aumento 1 : 500)

oreja o en el pulpejo del dedo ; pero cuando la cantidad de sangre deba ser algo mayor (1 a 2 c. c.) será preferible extraerla por medio de una ventosa escarificada, o por punción venosa.

Para el diagnóstico bacteriológico del cólera es preciso :

1. El examen inmediato, que es el que ofrece mayores probabilidades de encontrar vibriones de cólera, si se hace directamente de las mucosidades que tanto abundan en las típicas heces del cólera (heces como agua de arroz). En este caso, con frecuencia, se encuentran los vibriones como en los cultivos, casi puros, y en una disposición característica («redada de peces») que, aunque no prueba el diagnóstico de cólera de manera indudable, le hace muy probable y justifica que se declare la sospecha. Pero a veces no se obtiene este resultado tan típico, especialmente, cuando se trata de heces fecales en lugar de mucoacuosas ; en tal caso, se encuentran las formas arqueadas en mayor o menor número en medio de una mezcla abigarrada de otras bacterias diferentes. Como se comprende, su ausencia nada prueba contra el cólera, de igual manera que los vibriones saprofíticos que aparecen

en las heces normales tampoco prueban nada en pro. Citaremos también un detalle secundario que merece consignarse. Es frecuente encontrar en las heces espiroquetos muy finos, que en muchos casos y especialmente en las heces típicas de cólera, se presentan en masas espesas semejantes a madejas de bacilos entrelazados entre sí y que nada significan como causa del cólera.

2. Los cultivos inmediatos en placas, hechos directamente de las heces en uno de los medios sólidos electivos descritos anteriormente, como gelatina o agar alcalinizados, o los medios de DIEUDONNÉ o de ARONSON. No ha de omitirse nunca la siembra en placas porque permite formarse una idea clara de la cantidad de vibriones existentes en las heces, lo que no se consigue con el método de enriquecimiento que describimos a continuación, el cual produce siempre el desarrollo de gran número de vibriones, cualquiera que sea la cantidad existente en las heces. Hay algunos casos, observados rara vez hasta hoy, pero que no deben dejarse de tener en cuenta porque en ellos sólo el resultado de las placas inmediatas o directas pone sobre la pista, en los cuales existen verdaderos vibriones de cólera, pero inaglutinables, esto es, sero-resistentes, como se ha observado a veces con el bacilo de la fiebre tifoidea; entonces el gran número de colonias de vibriones obtenidas directamente de las heces, aunque falle la aglutinación, debe despertar la sospecha de cólera e inducirnos a nuevas investigaciones, tales como la inmunización activa de un conejo y el examen de la acción recíproca del suero así obtenido frente a un cultivo verdadero de cólera.

3. El método de enriquecimiento mediante un cultivo previo en agua de peptona, es el más sensible y superior a todos los procedimientos de cultivo, por lo cual, a fin de ganar tiempo, debe practicarse antes que nada, aun antes del examen directo. Para acelerar este método y hacer pronto el diagnóstico que, sobre todo en los primeros casos de una epidemia conviene se establezca cuanto antes, es conveniente sembrar previamente el material sospechoso de cólera en agua de peptona caliente a la temperatura de la estufa. Cuanto más grande sea la cantidad de material sembrado, mayores serán, naturalmente, las probabilidades de comprobar la existencia del germen, aunque sean muy escasos. Por consiguiente, cuando se cuenta con la probabilidad de encontrar muy pocos gérmenes de cólera, como sucede en un material muy pútrido, o al reconocer portadores de bacilos, se mezclan una o dos cucharadas de heces en $^1/_4$ ó $^1/_2$ litro de agua de peptona en matraces de ERLENMEYER, teniendo cuidado de que los matraces no estén llenos, para disponer de la mayor cantidad posible de superficie de líquido, en la que puedan reunirse los vibriones para satisfacer su necesidad de oxígeno. Para la investigación de casos clínicos, se siembran generalmente 2 tubos, con 5 c. c. de agua de peptona cada uno, con 1 ó 2 asas de heces, si es posible, grumos mucosos. En los primeros casos, se siembran siempre 2 matraces con 25 a 30 c. c. de agua de peptona y 6 tubos, procurando tomar el material de diversos puntos de la muestra enviada. El examen de los cultivos en agua de peptona

se hace la primera vez a las seis u ocho horas de la siembra, y si no da resultado, se repite a las veinticuatro horas ; si ambos exámenes son negativos, es decir, si no se encuentran vibriones en frotis, ni en gota pendiente, está justificada la conclusión de que en la prueba enviada no existian ; no hay quizá en bacteriología otra prueba cuyo resultado negativo tenga un valor comparable.

La presencia de vibriones en el cultivo preliminar realizado en agua de peptona, no prueba todavía con seguridad que se trate de gérmenes del cólera, porque hay otros vibriones semejantes que se multiplican también en dicho medio. Permite, a lo sumo, expresar la sospecha de cólera, porque la afirmación absoluta sólo es posible después que los vibriones encontrados en el agua de peptona son cultivados en medios sólidos y luego, con ayuda de las reacciones específicas de inmunidad, puedan ser identificados como gérmenes del cólera (véase el capítulo V de la Parte general).

En los primeros casos de una epidemia, debe practicarse la aglutinación con dosis decrecientes hasta el límite de la titulación y además la prueba de PFEIFFER; más tarde, especialmente en medio de una gran epidemia, basta con el examen de la aglutinación; en ocasiones, sólo el examen da orientación sobre el portaobjetos, en el cual no deben faltar nunca controles de solución fisiológica y suero normal en solución diez veces más concentrada que la del suero específico.

En el examen de las placas, ya sean de cultivos directos o de las sembradas en el agua de peptona, nos fijaremos naturalmente, en primer término, en las colonias típicas, como se han descrito en la página 261; pero, si a pesar de que en el cultivo preliminar se hubiesen comprobado microscópicamente los vibriones no se observasen colonias típicas, se procurará hacer preparaciones de las colonias al parecer atípicas, porque a veces, como consecuencia de la existencia de variedades del vibrión colérico, crece éste en colonias de tipos diferentes como las « claras » y « turbias » en gelatina (KOSSEL, KOLLE) y las « opacas » en agar descritas por BAERTHLEIN.

El análisis de aguas sospechosas, con el fin de comprobar si contienen gérmenes del cólera, se verifica por el procedimiento ya descrito del agua de peptona y la consiguiente investigación serológica y por cultivos ; como en el agua contaminada se encuentran casi generalmente vibriones parecidos al del cólera, ha de procederse con sumo cuidado en el diagnóstico y practicar en todo caso el experimento de PFEIFFER.

Puede prescindirse de otros procedimientos de investigación. Como, por ejemplo, el examen de colonias sospechosas por la hemolisis en placas con sangre, pues aunque, según KRAUS, el bacilo del cólera no debe formar nunca hemolisinas, esta regla presenta sus excepciones. Puede prescindirse también del procedimiento rápido de DUNBAR-BANDI, que consiste en añadir suero específico al material de partida, y observar la aglutinación en gota pendiente del cultivo, en agua de peptona.

La investigación bacteriológica completa del cólera, incluso el experimento de PFEIFFER, desde la llegada del material al resultado definitivo, no dura más de cuarenta y ocho horas, por lo general unas treinta, y el resultado negativo puede darse con seguridad a las veinticuatro horas lo más tarde. El diagnóstico bacteriológico del cólera, por su gran responsabilidad, debe formularse únicamente por

bacteriólogos prácticos, en cuyas manos es una de las investigaciones más rápidas y seguras de la Bacteriología. Si, a pesar del resultado bacteriológico negativo, subsistiese la sospecha clínica del cólera y la justificasen los caracteres epidemiológicos de la infección (atacados por grupos, contagios en serie), se repetirá inmediatamente la investigación, con las mismas heces enviadas para el cólera, pensando al mismo tiempo en la posibilidad de una infección específica de otra naturaleza, especialmente del paratifus (*V.* el capítulo PARATIFUS).

B. Estreptotrices patógenos

Ya hemos tratado en la Parte general, página 3, de la situación, entre las bacterias y los hifomicetos, de los estreptotrices en el sistema natural de clasificación, así como de su estrecha afinidad con algunos grupos de bacterias, como los difteroides y los bacilos ácido-resistentes en los cuales se observan, lo mismo que en los estreptotrices, verdaderas ramificaciones. Otras relaciones de afinidad existen también con las llamadas bacterias filamentosas *(leptothrix* y *cladothrix)*, en las que no se observan verdaderas ramificaciones, pero como se desarrollan en forma de largos filamentos, al colocarse unos tras de otros, aparecen « falsas ramificaciones », así como también formas de maza, que se encuentran particularmente en las especies de *cladothrix* que viven en el agua. Algunos *leptothrix* parece pueden producir efectos patógenos en el hombre, encontrándose especialmente en la caries dentaria y en ciertas afecciones de las amígdalas (tapones tonsilares).

El examen morfológico y por cultivos de los estreptotrices se verifica según los mismos métodos que para las bacterias.

Entre los estreptotrices existen bastantes gérmenes patógenos que, teniendo por punto de partida la cavidad bucal, producen, en ocasiones, infecciones pulmonares, del oído medio y de las meninges, determinando un proceso patológico unas veces purulento, otras de aspecto tuberculoso.

La enfermedad tropical y subtropical llamada *pie de Madura (myceloma pedis)*, caracterizada por una gran tumefacción del pie, es producida por diversas especies de estreptotrices, que según su aspecto en los cultivos, se distinguen con el nombre de *streptothrix Madurae* blanco, rojo o negro.

Pertenecen al grupo de los estreptotrices, o al menos les son muy afines, los actinomicetos u hongos radiados, que son los gérmenes productores de las infecciones actinomicósicas del hombre y de algunas especies animales.

Actinomicetos

LANGENBECK fué el primero que ya en el año 1845 observó el actinomices en los casos de actinomicosis del hombre. Más tarde, RIVOLTA y PERRONCITO, en los años 1868 a 1875, le observaron en ciertas tumoraciones maxilares del ganado vacuno, y HANN, en 1875, le encontró en los casos de la llamada « lengua leñosa ». BOLLINGER, en 1877, describió con exactitud la actinomicosis del ganado vacuno. Otros trabajos de PONFICK e ISRAEL, de WOLFF y de BOSTROEM, pusieron de manifiesto la identidad de los hongos encontrados en los animales y en el hombre, así como la patogenia de la actinomicosis. Finalmente, BERESTNEW demostró la existencia del actinomices, fuera del organismo humano y animal, en las gramíneas y cereales.

Los actinomicetos están muy extendidos en la naturaleza. Se encuentran con frecuencia en las espigas de los cereales, en la paja y sobre todo en las gramíneas (BOSTROEM). La infección en los animales se ve-

rifica por vía traumática, porque al comer el pienso se les puede clavar en los tejidos de la boca porciones rígidas de paja, trozos de espiga

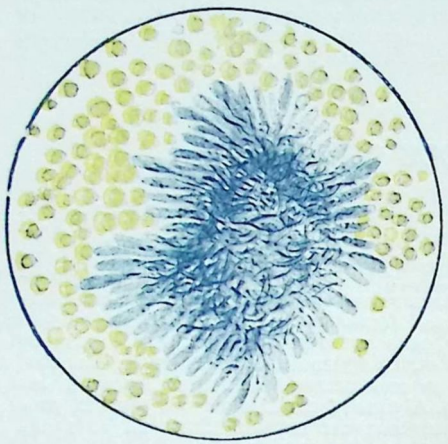


FIG. 137. Actinomices. Grano con formas de maza. Coloración de GRAM (aumento 1 : 1000)

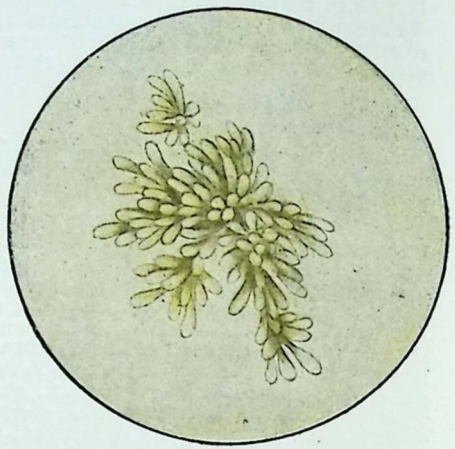


FIG. 138. Grano actinomicósico sin teñir (aumento 1 : 1000)

o aristas de cebada. También en el hombre ocurre la infección por espigas o aristas de cereales, en los que se halla adherido el hongo y debido

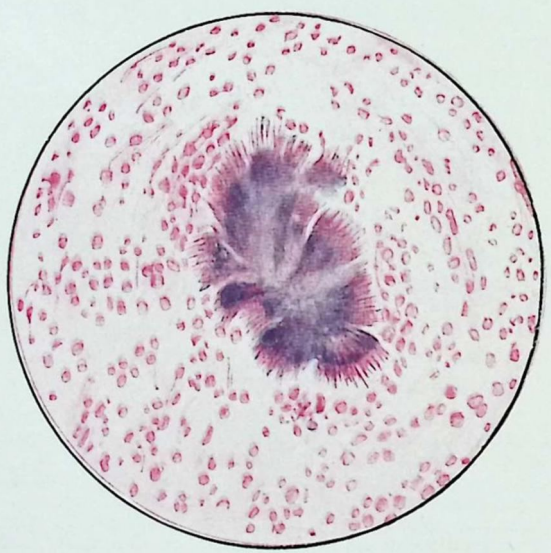


FIG. 139. Grano actinomicósico. Coloración con hematoxilina y eosina (aumento 1 : 500)

a la mala costumbre de introducirse en la boca briznas de paja, etc., se producen con frecuencia pequeñísimas heridas invisibles de la mucosa,

en las cuales se fijan los hongos, extendiéndose después a los tejidos próximos. BOSTROEM fué el primero que pudo comprobar, por investigaciones sistemáticas de cortes en serie de tejidos actinomicósicos, que la propagación del hongo había tenido su punto de origen, en un trozo de arista o en una brizna de paja.

En el hombre hay que tener en cuenta, además, según ISRAEL, varias puertas de entrada.

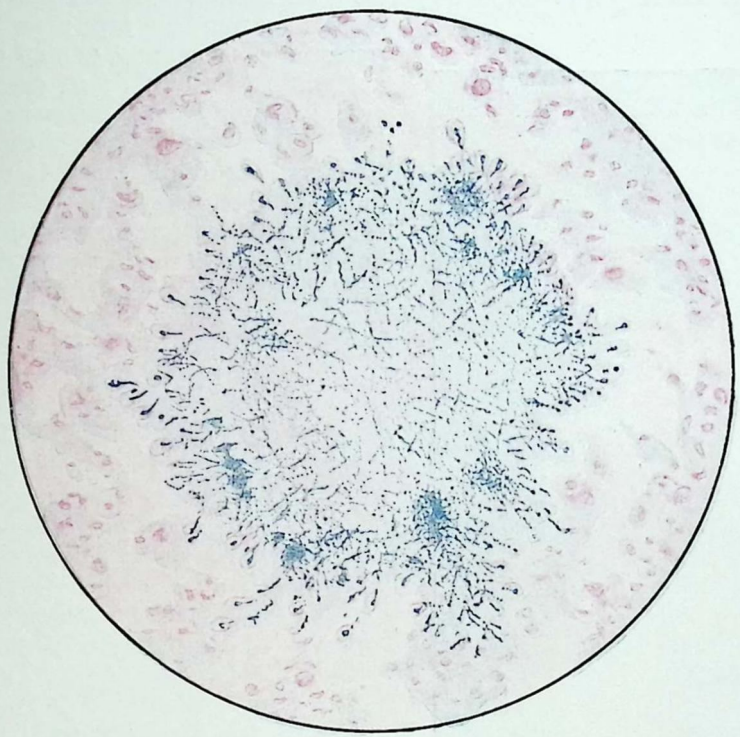


FIG. 140. Grano actinomicósico en los tejidos. Coloración con hematoxilina y eosina (aumento 1 : 500)

1. *Boca* y *faringe*. Por esta vía enferman la región maxilar y submaxilar, las mejillas, la lengua, la laringe, etc. El maxilar inferior en el hombre, sólo muy raramente es afecto. En la lengua se forman nódulos de infiltración que contienen, a veces, granos actinomicósicos calcificados.
2. *Vías respiratorias profundas*. La respiración de polvo que contenga actinomices puede ser causa de la infección de los lóbulos pulmonares inferiores.
3. *Aparato digestivo*. La deglución con los alimentos de hierbas infectadas, puede ser origen de la infección intestinal. El punto en que primero se fija el hongo, suele ser el apéndice, el íleon y el ciego, desde donde la actinomicosis puede extenderse a todo el organismo, en parte por propagación directa y en parte también, por la vía sanguínea. Con frecuencia produce, además, metástasis en la región de la vena porta, en el hígado, en el bazo y en la mucosa intestinal.
4. *Piel*. (Por heridas.)

Las tentativas de inoculación de la actinomicosis a los animales no han dado resultado. Unicamente se ha conseguido producir lesiones

común. También hay afecciones del hombre producidas por hifomicetos (micosis) ; en la mayor parte de los casos, se trata de afecciones poco penetrantes en las superficies interiores o exteriores del organismo, particularmente de la piel (dermatomicosis), como favus, herpes tonsurante, pitiriasis versicolor y tricofitia; existen también infecciones menos superficiales y hasta generales, como la esporotricosis y la aspergilosis.

Como medios de cultivo se emplean los de origen vegetal, de reacción ácida, tales como la patata, la papilla de pan, el agar y la gelatina

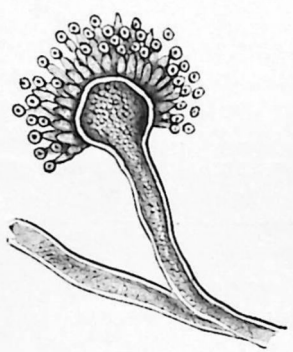


FIG. 143. Esporulación del *Aspergillus niger*



FIG. 144. Formación de clamidósporos terminada

con adición de infusión de ciruelas o mosto de cerveza. El cultivo de los hifomicetos y, sobre todo, la formación de esporos, apenas se consiguen sino en presencia de oxígeno libre. En conjunto, los hifomicetos exigen muy poco del medio, y crecen también en los medios pobres en agua ; de ahí su considerable extensión.

Los hifomicetos forman, por el crecimiento unilateral de sus células, largos filamentos o *hifas* que presentan una membrana con un doble contorno bien marcado. Estos filamentos se entrelazan en madejas enredadas que se llaman *talos*. Parte de los filamentos sirven para la nutrición (micelio); otra, atiende a la reproducción (hifas esporíferas). Estas forman esporos que se hallan protegidos contra la desecación y otros agentes desfavorables, gracias a una membrana resistente ; los esporos aseguran la persistencia de la especie aun contra circunstancias exteriores perjudiciales. La disposición de las hifas esporíferas y la distinta manera de formar esporos y de desarrollarse éstos, son características en las diversas especies y facilita la distinción entre los hifomicetos.

La reproducción de los hifomicetos se verifica :

1. En forma asexual, o sea por esporos.

a) En el interior del micelio (endosporos y ascosporos), éstos se encuentran dentro de unas células llamadas esporangios, que son de figura oval, redondeada, cilíndrica alargada, o en forma de huso *(ascus* = cápsula del esporo). Los esporos ya formados salen al exterior por una abertura del esporangio, o quedan libres por destrucción de éste.

b) Por división de los micelios o de las hifas esporíferas (conidias o exosporos). A veces, de la conidia surge un tallo (esterigma) sobre el cual se desarrollan los esporos.

Las conidias se desprenden por sí mismas de los hifos en que asientan, o son lanzadas por un mecanismo especial fuera de las hifas esporíferas.

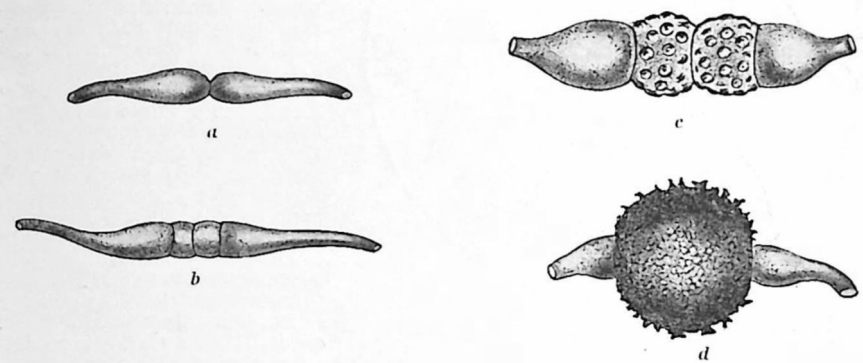


FIG. 145 *a-d*. Formación de cigosporos en el *Mucor mucedo*

c) Otras veces se forman abultamientos en los micelios (clamidósporos o yemas), en los cuales el protoplasma es tomado de la célula próxima, y mientras ésta muere, el abultamiento o mamelón se transforma en esporo, que queda libre.

2. En forma sexual, que puede ser :

a) Por formación de un cigosporo originado por la conjugación de dos abultamientos de hifas en forma de maza, no diferenciados sexualmente.

b) Por formación de oosporos originados por la conjugación de una célula masculina en forma de maza *(anteridium)* con otra femenina en forma de bola *(oogonium)*.

El examen de los hifomicetos se consigue muy bien en preparaciones sin teñir. Para disponerlas, lo más práctico es desleir las porciones halladas del hongo en una cubeta de cristal que contenga alcohol de 50°, porque el agua no penetra aquellas porciones. Practicado esto, con la aguja de platino se toma una partícula del material que quiere examinarse y se lleva al portaobjetos con una gota de glicerina. Después se coloca con cuidado el cubreobjetos, el cual, si se desea conservar la preparación, se cubre de parafina en todo el borde, poniendo sobre el mismo, además, betún de Judea para impedir en absoluto la entrada del aire.

El hifomiceto más frecuente es el *penicillium glaucum*, llamado así por la ramificación de las hifas esporíferas en forma de pincel, cada una de las cuales lleva en el extremo una serie de esporos redondeados. El micelio, blanco al principio, después de formados los esporos se transforma en un césped verde. La temperatura favorable para el desarrollo de este hongo es la de 15° a 20° ; a los 37° crece con dificultad, por lo cual no puede ser parásito del organismo humano.

El *penicillium brevicaule*, semejante al anterior, pero con esporos incoloros, se utiliza para comprobar cantidades muy pequeñas de arsénico. Si se añade al

Para la práctica del diagnóstico basta en muchos casos con la comprobación del efecto específico del suero del enfermo sobre los espiroquetos de la fiebre recurrente vivos (véase anteriormente). Fuera del organismo humano los espiroquetos se mantienen vivos en la sangre un día, a lo sumo, a la temperatura de la estufa y hasta 14, en cambio, a la del ambiente. En el huésped intermediario pueden vivir los gérmenes mucho tiempo, y pasar a los huevos y a la descendencia por infección germinativa, como se comprobó en el *ornithodorus moubata*, ácaro africano que extiende el contagio, perteneciente a la especie argas. Koch comprobó masas de espiroquetos agrupados en el ovario del ácaro infectado, y Moellers encontró espiroquetos en los ácaros, año y medio después de traerlos a Europa, espiroquetos que se habían transmitido durante todo ese tiempo a través de varias generaciones. También en los piojos del vestido se han comprobado microscópicamente los espiroquetos de la fiebre recurrente europea, no sólo en su contenido intestinal, sino también en los órganos, a los que emigran durante el proceso de su desarrollo (Toyoda). Al examinar insectos portadores de espiroquetos hay que prevenirse contra la posible confusión de estos últimos con otras formas, que pueden tener también movimiento propio, y especialmente con los espermatozoos.

Además del contagio por picadura de los insectos citados, los espiroquetos pueden también penetrar directamente a través de la piel sana del hombre, lo cual explica algunas infecciones de laboratorio ; de aquí que, al trabajar con espiroquetos de la fiebre recurrente, se pondrá especial cuidado en usar guantes de goma y evitar escrupulosamente que pueda escapar algún insecto, para lo cual se apoyará el recipiente que los contenga dentro de otro con ácido sulfúrico, porque las larvas jóvenes pueden trepar por las paredes del cristal.

La fiebre recurrente europea únicamente se transmite a los monos por inoculaciones de sangre del enfermo. La fiebre recurrente africana, en cambio, es transmisible directamente a ratones y ratas. Las diferentes subespecies de espiroqueto de la fiebre recurrente presentan, respecto de su acción patógena para los animales, ciertas diferencias no muy características, pero en cuyos detalles, dada la índole de la obra, no podemos entrar.

En casos graves, la fiebre recurrente se presenta en forma biliosa, que no debe confundirse con la enfermedad de Weil, que explicaremos más adelante, de la cual se diferencia por la presencia de espiroquetos recurrentes en la sangre.

2. Espiroqueto de las aves

Los gansos en Rusia y las gallinas en el Brasil y en el Norte de Africa sufren enfermedades, que, tanto por su evolución cíclica como por las propiedades del germen, presentan grandes semejanzas con la fiebre recurrente del hombre. El portador de la espiroquetosis de las

gallinas es una especie de ácaro, el *argas miniatus*. En el laboratorio el virus se transmite fácilmente de un animal a otro y se presta muy bien para demostraciones didácticas.



Fig. 158. Espirilos de las gallinas. Preparación a la tinta china (aumento 1 : 500)



Fig. 159. Espiroquetos de las gallinas. Sangre de ave. Coloración de Giemsa (aumento 1 : 700)

3. Espiroqueto de la enfermedad de Weil (Espiroqueto icterógeno)

La enfermedad de Weil, descrita por este autor en el año 1886, es una afección febril caracterizada por un complejo sintomático de ictericia, inflamación del bazo, nefritis y dolores musculares, particularmente localizados en las pantorrillas. El conocimiento de su etiología se alcanzó en los últimos años. El contagio de la enfermedad por inoculación de sangre del enfermo fué descrito por Hübener y Reiter, e independientemente, algunos días más tarde, por Uhlenhuth y Fromme. Estos últimos autores designaron desde el primer momento al germen como un espiroqueto, mientras Hübener y Reiter lo describieron como una forma parecida a los tripanosoma y flagelados, pero no como espiroqueto. Algunos meses más tarde Inada, Ido, Hoki, Kaneko e Ito publicaron sus trabajos acerca del descubrimiento de un germen completamente análogo, que se presenta en la ictericia infecciosa del Japón. (Estos trabajos aparecieron en revistas japonesas a fines del año 1914.) Sin embargo, todavía no se sabe si la forma de la enfermedad japonesa es idéntica a la europea o si también aquí, como en la fiebre recurrente, existen varios tipos de enfermedad distintos, aunque muy afines, pertenecientes a un mismo grupo natural. En favor de la variedad de tipos de la afección está el hecho de que la forma japonesa es de mayor mortalidad que la europea.

Como sucede en casi todas las enfermedades infecciosas, en la enfermedad de Weil hay casos atípicos y ligeros en los que sólo aparece una parte de los síntomas característicos indicados anteriormente. Precisamente en estos casos es decisiva la investigación bacteriológica.

La comprobación directa del germen en los órganos del hombre enfermo sólo ha sido posible hasta hoy en muy raros casos y como

excepción ; en cambio, se consigue esta comprobación con gran regularidad por la investigación en animales, con tal de que se procure examinar casos muy recientes, en los primeros días de la enfermedad. Sin duda los espiroquetos mueren muy pronto en el hombre enfermo, y los numerosos resultados negativos obtenidos mediante la inoculación en animales por investigadores anteriores se explican, en primer término, porque los enfermos examinados se encontraban ya en una fase demasiado avanzada de la enfermedad.

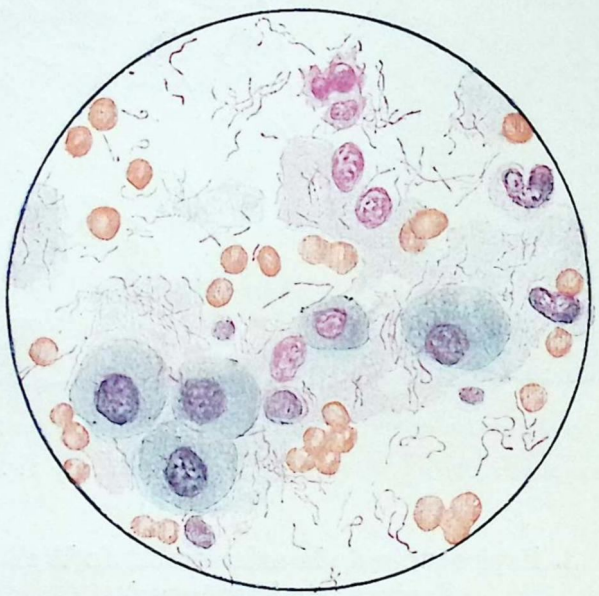


Fig. 160. Espiroquetos icterógenos. Coloración de Giemsa (aumento 1 : 500)
Frotis del hígado de un conejillo infectado

El animal más apropiado para experiencias es el cobayo, el método de investigación más sensible es la inoculación intracardíaca, con la cual fracciones de c. c. de sangre desfibrinada bastan para producir con seguridad la infección. Por inyección intraperitoneal se necesitan cantidades mayores (5 c. c.) ; la inyección subcutánea es muy insegura. El conejillo inoculado enferma a los cuatro o seis días, con graves síntomas generales e intenso color ictérico, que se presenta primeramente en la esclerótica y en las orejas. Los animales mueren casi todos a consecuencia de la infección, y las lesiones anatomopatológicas corresponden, en todo, a las de la enfermedad humana, intenso color amarillo de todos los órganos, pequeñas pero numerosas hemorragias en las mucosas y serosas, tumefacción turbia del hígado y los riñones y numerosos focos miliares en los músculos. El virus se encuentra en todos los órganos y líquidos orgánicos, como se demuestra

por inoculación a otros cobayos, en series tan numerosas como se quiera; donde más abunda es en el hígado, con el cual se obtiene también sin dificultad la comprobación microscópica directa del espiroqueto, sobre todo si el examen se hace con iluminación en campo obscuro, en el que los espiroquetos resaltan por su vivo movimiento. También son apropiadas las preparaciones a la tinta china, la coloración de Giemsa y el método de la plata según Levaditi. Los espiroquetos de la enfermedad de Weil ofrecen formas más delicadas que los de la fiebre



Fig. 161. Espiroquetos icterógenos. Coloración de Levaditi (aumento 1 : 500)
Corte de un hígado de cobayo

recurrente, y, como éstos, presentan sus vueltas de espiral planas. No tienen importancia para el diagnóstico los abultamientos nodulares o vesiculares, que se observan con frecuencia, principalmente en los extremos de los espiroquetos, descritos especialmente por Hubener y Reiter, porque también han podido observarse en otras especies. Mas bien deben considerarse como productos de degeneración a consecuencia de la plasmolisis.

El cultivo del germen que nos ocupa fué conseguido por primera vez por Ungermann en suero de conejo y en condiciones anaerobias (cubierto con una capa de parafina esterilizada). En una mezcla de 3 partes de suero con 2 partes de caldo se verifica todavía el desarrollo, pero no en diluciones mayores, ni en caldo puro. En cambio, según Uhlenhuth, el cultivo se logra también en diluciones de suero con agua común mucho mayores, hasta de 1 : 30 ; de este modo así se consiguen cultivos abundantes, que pueden ser empleados para inmunizar animales. La inyección de cultivos de espiroquetos en el conejillo

de Indias le produce la enfermedad típica de WEIL. El conejo y el mono son también receptivos, pero en ellos la infección no se produce con la misma regularidad que en los cobayos. La significación etiológica de los espiroquetos de que tratamos en la enfermedad de WEIL está fuera de duda, pues en los experimentos con los cobayos infectados han ocurrido ya en el hombre varias infecciones de laboratorio acompañadas de los síntomas típicos.

Como ya hemos indicado, la comprobación del germen de la enfermedad de WEIL no presenta dificultades en los casos recientes. Cuando se trata de casos antiguos, en los que el germen no se encuentra ya en la sangre, puede emprenderse la investigación inoculando animales con orina del enfermo, procedimiento que ha dado resultado en un cierto número de casos, o bien establecer el diagnóstico por procedimientos indirectos, comprobando la presencia de anticuerpos específicos en la sangre del enfermo, a cuyo fin se inyecta una mezcla de 0'1 c. c. de suero del enfermo o de convaleciente y de sangre virulenta de un animal infectado a un cobayo sano, y si éste no muere, habrá que admitir que el suero contenía los anticuerpos buscados.

A diferencia de la mayoría de los espiroquetos patógenos conocidos, el germen de la enfermedad de WEIL no es accesible a la acción quimioterapéutica del salvarsán y sus similares.

La resistencia del germen al calor y a los medios ordinarios de desinfección es muy escasa ; en cambio, el germen es capaz de mantenerse vivo algunos días en los órganos en putrefacción, y más de dos semanas en diluciones de sangre con agua común a la temperatura ambiente. El conocimiento de estos hechos es importante para la epidemiología, porque prueban la existencia del contagio directo, lo mismo que las infecciones de laboratorio y la infección en los establos de los animales de laboratorio. La demostración de UHLENHUTH de que el germen vive largo tiempo en el agua, explicaría la experiencia repetida de haberse adquirido la enfermedad al bañarse. Además, quizá también se verifica el contagio por las ratas portadoras del germen y por la picadura de insectos chupópteros, como inducen a creer las observaciones epidemiológicas y las experiencias de laboratorio realizadas por REITER con algunos insectos, pero aun en este caso parece tratarse de la transmisión mecánica de sangre infectada, y no del desarrollo del germen en un huésped intermediario (*V.* FIEBRE RECURRENTE).

4. Espiroqueto de la sífilis (Espiroqueto pálido)

Tras el fracaso de las tentativas de muchos investigadores, consiguió SCHAUDINN, en el año 1905, comprobar en productos de enfermos sifilíticos un espiroqueto característico, y luego, en colaboración con E. HOFFMANN, demostró que se trataba del verdadero germen de la sífilis. Investigaciones posteriores confirmaron en absoluto el papel etiológico de este espiroqueto.

El espiroqueto pálido, únicamente podría confundirse con el germen de la frambesia (espiroqueto *pertenuis)*, enfermedad de la piel propia de los trópicos, muy parecida a la sífilis en su aspecto clínico, de la cual, sin embargo, se aparta mucho por su benignidad y por el resultado de las reacciones de inmunidad. El espiroqueto de la sífilis se diferencia de todos los demás espiroquetos conocidos por las siguientes características morfológicas: extraordinaria finura de su forma, múltiples ondulaciones breves, bruscas y regularmente espaciadas, de modo que la figura en espiral, no sólo se percibe cuando el espiroqueto se mueve, sino también en estado de reposo, apareciendo entonces como «torneado» (SCHAUDINN). Cuando mejor resaltan estos caracteres morfológicos es por el examen con iluminación en campo obscuro, por lo cual este es el procedimiento preferible para comprobar los espiroquetos de la sífilis. A falta de un aparato de iluminación en campo obscuro, la preparación a la tinta china de BURRI le suple hasta cierto punto. Su coloración se obtiene con dificultad con las soluciones acuosas de anilina, tan usadas en bacteriología ; siendo indispensable la acción intensa, durante quince minutos, de la substancia colorante tal como se hace con el método de HERXHEIMER, en el cual se utiliza una solución caliente y saturada de violeta de genciana. El espiroqueto se tiñe también por el método de coloración de flagelos (LÖFFLER) ; SCHAUDINN logró comprobar por este medio 1 ó 2 flagelos, extraordinariamente finos, implantados en los extremos del espiroqueto. Las mejores preparaciones se obtienen por la coloración de GIEMSA, que conviene hacer con lentitud (en 12 horas) y a 37° de temperatura ; lo más práctico es emplear la solución de GIEMSA ya preparada por G. GRUBLER (Leipzig), para cuyo uso se diluye en la proporción de una gota de la solución por cada centímetro cúbico de agua destilada. Acerca del fundamento de la coloración ROMANOWSKY-GIEMSA, véase el capítulo PROTOZOARIOS. Con esta coloración no sólo aparece muy clara la típica figura del espiroqueto, sino que también es característico el tono de la coloración, ya que el espiroqueto de la sífilis adquiere un rojo pálido especial distinguiéndose de las bacterias y de los otros espiroquetos saprofíticos, que con el método de GIEMSA se tiñen en violeta azulado. Por esta característica, así como por el aplanamiento de las vueltas y su intensa refringencia en estado vivo, se distingue especialmente del espiroqueto pálido, el espiroqueto *refringens*, que aparece con frecuencia como epifito en las mucosas y en las superficies ulceradas y que también puede presentarse asociado al sifilítico, circunstancias que es preciso recordar siempre para no confundirlos.

En cortes de tejidos, utilizando el procedimiento de LEVADITI, se consigue la demostración del espiroqueto de la sífilis, de manera muy característica; los espiroquetos aparecen teñidos en tonos desde el castaño obscuro hasta el negro intenso, en forma de espiral, rígidos, y resaltando con marcado contraste de los tejidos que aparecen coloreados en amarillo claro o siena. Respecto de las reglas técnicas para la coloración de LEVADITI, véase pág. 282.

Schereschewski fué el primero que consiguió cultivar el espiroqueto de la sífilis en condiciones anaerobias en cultivo mixto con otros gérmenes, utilizando suero de caballo semicoagulado. Mühlens obtuvo los primeros cultivos puros sembrando porciones de tejido de los bordes del chancro, en los cuales el espiroqueto pálido penetra más rápidamente que los gérmenes que pudieran acompañarle. Los cultivos puros son completamente inodoros, a diferencia de los de espiroquetos saprofíticos, que se caracterizan por su olor desagradable.

La inoculación en los animales de cultivos puros de espiroquetos produce el mismo cuadro morboso característico que la inoculación de productos sifilíticos

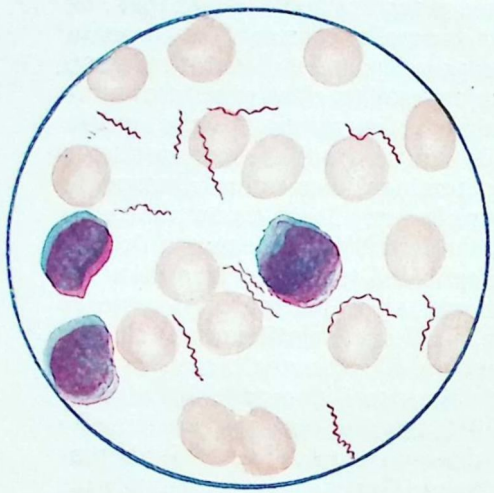


Fig. 162. Espiroqueto pálido. Coloración de Giemsa (aumento 1 : 1000) Frotis



Fig. 163. Espiroqueto pálido. Corte de hígado. Método de Levaditi (aumento 1 : 1000)

del hombre (Noguchi, W. H. Hoffmann). De los cultivos puros Noguchi ha logrado obtener un extracto, la luetina, que fija el complemento con suero del enfermo sifilítico. Aunque todos estos experimentos son muy interesantes en teoría, porque confirman de una manera indudable la significación etiológica del espiroqueto pálido, no ha sido posible, sin embargo, aprovecharlos clínicamente para el diagnóstico, porque el cultivo del espiroqueto pálido tropieza con grandes dificultades y generalmente entre un gran número de tubos sembrados son pocos los que se consiguen.

La inoculación de la sífilis a los animales fué conseguida, casi al mismo tiempo, por Metschnikoff y Roux en los antropoides y Nicolle en los prosiminos ; en los antropoides, el proceso de la infección es análogo al del hombre, con formación de una esclerosis inicial en el punto de infección, después de un período de incubación de unas tres semanas, y con aparición, dos meses más tarde, de los síntomas secundarios típicos. En los prosiminos, el resultado de la inoculación se reduce a la formación de manchas rojas, nódulos o úlceras en el punto de infección, que donde mejor resulta es en las cejas y en el monte de Venus. En los monos, la sífilis puede ser inoculada de unos a otros, como así lo ha demostrado Neisser por experiencias en gran escala, realizadas en Java.

Entre los animales ordinarios de laboratorio, el único receptivo de manera regular es el conejo ; primero, Bertarelli consiguió producir por inoculación en la córnea, una queratitis típica con gran número de espiroquetos ; más tarde, Uhlenhuth y Mulzer estudiaron la sífilis experimental de los conejos, logrando producir orquitis por inoculación directa de productos sifilíticos, en los testículos, así como provocar, por inyecciones intravenosas a conejos jóvenes, el cuadro de una infección sifilítica generalizada con manifestaciones en la piel y en las mucosas. Sin embargo, a pesar de todo, la inoculación en los conejos no se consigue con regularidad, porque la receptividad de este animal para el contagio, varía mucho con las diversas razas del germen. En parte, por esta razón, y también por la dificultad

y elevado coste de los experimentos en los monos, no ha sido posible hasta hoy generalizar el empleo de las experiencias en animales para el diagnóstico de la sífilis, aunque en este sentido su importancia es innegable.

En la práctica del diagnóstico ocupan el primer lugar, la comprobación de espiroquetos y el examen serológico por la reacción de Wassermann. Depende de las circunstancias, que expondremos a continuación, la elección de cuál de los dos métodos ha de emplearse, o si convienen ambos y en qué período de la enfermedad tiene su indicación cada uno de ellos.

Con práctica suficiente y constancia por parte del investigador, la comprobación de germen es relativamente fácil, y se logra, casi con regularidad, en las lesiones primarias y secundarias de la infección. En la investigación del chancro, así como la de las pápulas y ulceraciones secundarias se procurará obtener, si es posible, serosidad de los tejidos profundos, no erosionados, para evitar contaminaciones superficiales. La mejor manera de obtenerla es por cuidadosa escarificación, raspando con un escalpelo o con el borde de un cubreobjetos procurando evitar que salga sangre. Con la serosidad clara así recogida se hacen preparaciones a la tinta china y con la coloración de Giemsa se examina en campo obscuro. El espiroqueto pálido se mantiene vivo horas enteras y hasta días, con su movimiento propio, si se tiene cuidado de impedir la entrada del aire, cubriendo con vaselina el borde del cubreobjetos. El espiroqueto es muy sensible al acceso de oxígeno del aire y a las influencias perjudiciales, como temperaturas superiores a 50° o soluciones desinfectantes, que lo matan rápidamente. También en la serosidad obtenida por punción de los infartos ganglionares de la región se comprueban fácilmente los espiroquetos. Se les encuentra en la sangre en pleno período secundario ; aunque esta comprobación es difícil de conseguir, siendo preciso examinar una gran cantidad de sangre, que se mezcla con 10 partes de ácido acético al 0'1 % y luego se centrifuga para obtener el sedimento (Noeggerath y Staehelin). En productos del tercer período hay muy pocos espiroquetos, por lo cual su comprobación no es aplicable a la práctica, y en este caso es preferible emplear la reacción de Wassermann. En las afecciones del sistema nervioso central (parálisis progresiva y tabes) designadas antiguamente como parasifilíticas, por considerarlas enfermedades tóxicas consecutivas a la sífilis, también se ha conseguido la comprobación del espiroqueto en las células ganglionares, así como por punción lumbar en el líquido cefaloraquídeo obtenido (Forster y Tomasczewki) ; aunque para el diagnóstico en la práctica se emplea también en este caso la reacción de Wassermann. En la sífilis congénita, empleando el procedimiento de Levaditi, se encuentra el espiroqueto en gran cantidad, especialmente en el hígado de fetos sifilíticos.

En tanto que la comprobación de espiroquetos queda limitada a los períodos de fenómenos manifiestos de la enfermedad y, practicamente, sólo se tiene en cuenta en el primero y segundo período, la investigación serológica de Wassermann puede utilizarse durante todo

el curso de la misma, a excepción de las primeras semanas, en cuyo tiempo no da resultado, y sólo es utilizable para el diagnóstico la comprobación del espiroqueto. (Por lo que se refiere a la teoría y práctica de la reacción de WASSERMANN, véase en la Parte general, página 104). La sangre se obtiene por punción de una vena del brazo por medio de una jeringuilla esterilizada : en los niños y en las personas obesas se extrae por ventosas escarificadas. Tan pronto como sea posible se separa el suero, por reposo o centrifugando, e inmediatamente se inactiva durante media hora a 56°. Una vez inactivado, puede conservarse largo tiempo mantenido en lugar fresco y obscuro. Un ligero enturbiamiento o un débil color rojizo no alteran la reacción ; el enturbiamiento intenso o la coloración fuerte de hemoglobina indican, en cambio, alteraciones de importancia, hasta el punto de no ser el suero aprovechable. Debe investigarse siempre si el suero por sí solo provoca o impide la reacción ; también se ha de hacer siempre la reacción con varios (2 a 3) antígenos perfectamente comprobados y, además de los controles del sistema hemolítico, se practica generalmente un control con suero humano seguramente positivo y otro con suero seguramente negativo. El resultado positivo de la reacción verificada con todas estas precauciones demuestra con gran seguridad la existencia de sífilis, salvo la excepción de tratarse de algún caso que sufriese o hubiese padecido lepra, escarlatina o fiebre recurrente, enfermedades clínicamente distintas de la sífilis, pero en cuyos procesos, probablemente a consecuencia de alteraciones en el metabolismo de los lipoides, se forman en el suero del enfermo substancias que dan reacción de WASSERMANN positiva. Por el contrario, el resultado negativo de la reacción nada demuestra, puesto que en ciertos períodos del proceso sifilítico la reacción de WASSERMANN puede ser negativa. Por lo general, esto acostumbra a suceder en los comienzos de la enfermedad ; el resultado positivo no es de esperar en la mayor parte de los casos hasta pasadas seis semanas de la infección. Durante el primer período, la proporción de resultados positivos varía mucho, según distintos autores, desde el 40 hasta el 100 % de los casos, dependiendo de la infección más o menos generalizada del organismo. Más frecuente es el resultado positivo en el período secundario (70 a 100 % de los casos) ; asimismo la reacción es casi siempre positiva en la sífilis congénita manifiesta. En el tercer período, así como en la tabes y la parálisis, el suero sanguíneo da resultado positivo en un 70 % de los casos ; para el diagnóstico oportuno de estas dos graves afecciones del sistema nervioso tiene más importancia todavía el análisis del líquido céfalo-raquídeo obtenido por punción lumbar, que en los comienzos de ambas enfermedades da ya reacciones positivas en más del 90 % de los casos. La técnica de la reacción es la misma que con el suero sanguíneo ; únicamente las cantidades de líquido empleadas son mayores (0'5 c. c.) y no es preciso inactivar el líquido porque carece de complemento.

La reacción de WASSERMANN no sólo es de gran valor práctico en el diagnóstico de casos dudosos de sífilis, sino que resulta decisiva también para determinar si una afección sifilítica debe considerarse curada definitivamente o no, pues aun cuando no existan síntomas clínicos y hasta en los casos en que el enfermo niegue en absoluto la infección sifilítica (lo cual es explicable, en algunas ocasiones, aun sin mala fe del enfermo, por el proceso muy leve o casi sin síntomas de la enfermedad mientras subsista una reacción de WASSERMANN positiva se ha de contar con la persistencia de espiroquetos vivos en el organismo y con la posibilidad de nuevas manifestaciones clínicas. Para percatarse de la gravedad de las consecuencias del diagnóstico en estos casos, basta recordar como ejemplos el consentimiento para el matrimonio después de adquirir la sífilis y el reconocimiento de nodrizas. El tratamiento debe, pues, prolongarse hasta que la reacción, repetida en distintas ocasiones, sea negativa. Con frecuencia, inmediatamente después de una inyección de salvarsán aumenta la intensidad de la reacción de WASSERMANN o reaparece la reacción positiva que antes no se presentaba ; este hecho paradójico se explica porque, a consecuencia de la influencia quimioterapéutica del salvarsán, mueren numerosos espiroquetos existentes en el organismo y estimulan con ello la formación de anticuerpos en la sangre. Esta provocación del resultado positivo se emplea precisamente para descubrir las infecciones latentes (HERXHEIMER). Continuando el tratamiento específico desaparecen los anticuerpos de la sangre, porque su presencia, así como la inmunidad contra la sífilis, está rigurosamente ligada a la existencia del germen vivo dentro del organismo. Como es sabido, la sífilis no confiere inmunidad, sino únicamente una disminución o ausencia de la reacción ante una reinfección, en tanto subsiste el proceso de la enfermedad antigua. Por otra parte, la posibilidad de una reinfección es la señal más cierta de la curación consumada, como se ha visto en casos ocurridos en estos últimos años poco tiempo después de una primera infección, comprobándose por ello que el tratamiento con el salvarsán había hecho posible la curación rápida. En relación con estos hechos es comprensible, que en la sífilis maligna, en la cual ya el proceso clínico demuestra poca tendencia curativa, la reacción de WASSERMANN dé un resultado negativo la mayor parte de las veces.

5. Espiroquetos en la angina de Plaut-Vincent

PLAUT en el año 1894 y VINCENT en 1899 describieron una forma particular de angina ulcerosa semejante a la difteria, que se diferencia de ésta, sin embargo, por su benignidad, así como porque el suero antidiftérico carece de influencia sobre ella, y en la cual se hallan con regularidad espiroquetos finos de vueltas planas y bacilos fusiformes especiales. Espiroquetos parecidos se encuentran en la cavidad bucal de casi todos los individuos sanos (espiroqueto *dentium*), especialmente en el borde gingival de los últimos molares ; también se hallan espiroquetos semejantes en ciertos procesos ulcerosos de la boca, particularmente en el noma, en cuya afección se encuentran enormes cantidades

de espiroquetos en los tejidos descompuestos. En la angina de PLAUT-VINCENT, sin embargo, hay que conceder a los espiroquetos una significación etiológica, puesto que la enfermedad mejora con el tratamiento por el salvarsán. MUHLENS logró cultivos puros de estos espiroquetos en medios con suero y por procedimientos anaerobios. Los cultivos desprenden un olor repugnante, y las colonias aparecen en forma de nube con el centro amarillento y presentan finas prolongaciones.

Como los bacilos fusiformes, con sus extremos puntiagudos y su cuerpo con frecuencia curvado, a veces en forma de S, ofrecen cierta semejanza con los



FIG. 164. Angina de PLAUT-VINCENT. Bacilos fusiformes y espiroquetos. Coloración con fucsina fenicada diluída (aumento 1 : 1000)

espiroquetos, y como, además, los cultivos puros de ambos microbios son parecidos por su forma y mal olor, se ha pensado en que quizá representaban únicamente fases distintas del desarrollo de un mismo germen; pero esta opinión debe rechazarse, puesto que, según MÜHLENS, puede obtenerse por separado el cultivo de ambos microbios, sin que aparezca ninguna forma intermedia. El bacilo fusiforme teñido con azul de metileno o con la coloración de GIEMSA, presenta con frecuencia fajas o bandas intensamente teñidas, que alternan con sectores incoloros; con el GIEMSA, los corpúsculos de cromatina aparecen teñidos de rojo resaltando sobre el protoplasma coloreado en azul. Este bacilo carece de movimiento propio y es negativo al GRAM.

Para el examen de productos sospechosos de angina de PLAUT-VINCENT basta una preparación corriente de fucsina fenicada o el procedimiento a la tinta china. Como pudiera ocurrir que se encontrasen bacilos fusiformes y espirilos en membranas diftéricas, para evitar errores de diagnóstico es indispensable realizar siempre, además, la investigación del bacilo diftérico.

E. Protozoarios patógenos

El conocimiento de los agentes morbosos monocelulares pertenecientes al reino animal, comprendidos con el nombre de protozoarios, ha ido adquiriendo importancia en los últimos años, desde que los progresos de su estudio han demostrado que los protozoarios no representan, como parecía, un caso excepcional entre los microparásitos, sino que para la epidemiología de los países cálidos tienen una importancia de igual valor por lo menos que el de las bacterias patógenas. A continuación, únicamente nos ocuparemos de las formas que interesen la patología humana ocupándonos sólo brevemente de las especies propias de países no europeos, mientras que describiremos detalladamente las especies que deben tenerse en cuenta para el diagnóstico práctico en nuestro país, aun cuando se trate de casos importados. Precederán a la descripción algunas observaciones de orden general acerca la morfología y la biología de los protozoarios patógenos y que son indispensables para la debida comprensión del siguiente capítulo especial.

Los protozoarios se diferencian de las bacterias por una diversidad mucho mayor en cuanto a la forma y el tamaño; la diferenciación orgánica más elevada de estos seres se da a conocer porque determinadas partes del cuerpo celular están configuradas de manera especial para encargarse de particulares funciones; así encontramos con frecuencia substancias paraplásticas en el interior, y otras a manera de membranas en la superficie de los protozoarios. Es, además, muy frecuente la separación entre un endoplasma granuloso y un ectoplasma hialino; en algunas especies se observan también espacios especiales para la recepción de las substancias nutritivas y para su digestión (vacuolas). El movimiento en los protozoarios se verifica de manera muy variada. Este se consigue mediante flagelos de estructura mucho más complicada que los de las bacterias, unidos con frecuencia a una membrana ondulante, o por movimientos amiboideos por medio de seudópodos. Ante todo existe siempre una diferenciación morfológica entre el núcleo y protoplasma; a veces se observan varios núcleos, o bien junto al núcleo principal existe una formación nuclear particular, llamada blefaroplasto, de la cual parten los flagelos. La división del núcleo se verifica, con frecuencia, de una manera complicada. En muchas especies existen formas de resistencia (quistes), que se distinguen por su mayor persistencia y que, en circunstancias exteriores desfavorables, sirven para la conservación de la especie.

La complicada y delicada estructura trae consigo que los métodos apropiados para teñir y fijar las bacterias no sean suficientes en los protozoarios. Tales métodos proporcionan imágenes desfiguradas e incompletas, y por eso es preciso recurrir para la coloración de los protozoarios a los métodos usuales en histología: fijación con alcohol o con vapores de ácido ósmico y coloración con hematoxilina férrica, según HEIDENHAIN o por el método de ROMANOWSKY-GIEMSA.

Este último método es el más utilizado en el estudio morfológico de los protozoarios, porque proporciona una bella diferenciación entre el protoplasma y la cromatina, de lo cual resulta clara la demostración del aparato nuclear. El fundamento de este método se comprende perfectamente siguiendo el proceso de su descubrimiento. Se había comprobado que con las soluciones de azul de metileno débilmente alcalinizadas (LOFFLER) guardadas largo tiempo, y empleadas con eosina, para coloraciones de contraste, ciertas partes de los protozoarios se teñían de rojo brillante mientras que el protoplasma aparecía azul; el color rojo de aquellas partes era debido a una nueva substancia colorante formada por la acción del ál-

cali sobre el azul de metileno o sea el azur de metileno en unión con la eosina. Entre las numerosas modificaciones del método primitivo de ROMANOWSKY, la más recomendable por su sencillez y la confianza que ofrece es la de GIEMSA, que parte de reactivos químicamente puros, el azur y la eosina ; lo mejor es emplear la solución alcohólica concentrada de GIEMSA (G. GRUBLER, Leipzig) diluída en 20 partes de agua destilada, mezclando una gota de solución GIEMSA por cada c. c. de agua. Esta solución diluída se altera pronto por formación de precipitados ; para teñir es suficiente un cuarto de hora o una hora, pero, aunque la acción se prolongue veinticuatro horas, no por eso resulta excesiva la coloración, pues es suficiente lavar después con agua pura, por lo cual este procedimiento largo es recomendable para preparaciones de difícil tinción, como el espiroqueto de la sífilis. La coloración puede reforzarse dejándola algún tiempo a la temperatura de 37° o añadiendo un poquito de álcali ; en cambio, las cantidades más ínfimas de ácidos producen un efecto perjudicial. Para conservar las preparaciones se montan con bálsamo del Canadá, libre completamente de ácidos.

La multiplicación de los protozoarios tiene lugar, en parte, por vía sexual y, en parte también, por vía asexual. El ciclo del desarrollo sexual se completa siempre en un huésped intermediario (insectos o arácnidos), en el cual muchas veces aparecen formas que no se observan en el organismo infectado, fenómeno conocido también en parásitos superiores (vermes) con el nombre de « generación alternante ». La reproducción asexual, a su vez, se verifica por división en dos o más individuos (esquizogonia), tanto transversal como longitudinalmente, o por esporulación en el interior de quistes.

Respecto de su nutrición, algunos protozoarios, tales como las amibas, se alimentan exclusivamente de elementos formes, mientras que la mayoría admiten substancias disueltas. El cultivo de los protozoarios sólo se consigue en medios con sangre humana, y aun en estas condiciones, para algunas especies, resulta incompleto. Para los fines prácticos del laboratorio sólo es preciso tener en cuenta el sostenimiento del protozoario en el organismo animal, siempre que se trate de infecciones para las cuales se disponga de animales receptivos. Es de notar, especialmente, la acomodación rigurosa de algunas formas parásitas, no sólo a su existencia parasitaria obligada, sino también a su desarrollo en determinadas células o partes de tejidos ; entre estas formas son de notar, en primer término, los parásitos endoglobulares, que viven en el interior de los glóbulos rojos, como son los gérmenes del paludismo humano y animal, así como los de algunas epizootias (fiebre de Texas), llamados *piroplasmas* por su configuración en forma de pera. Es muy notable que algunos protozoarios (véase más adelante al tratar de los tripanosomas) vivan parasitarios en un organismo animal, sin producir síntoma morboso alguno en su huésped ; en ciertas especies, este estado de infección latente es desde luego expresión de un proceso crónico persistente, como sucede en el paludismo de las aves. De esto depende que la inmunidad frente a los protozoarios está ligada con frecuencia a la existencia de la infección latente y no persiste después de la curación definitiva, en analogía con lo dicho en la página 293 para las infecciones de espiroquetos. Por este motivo poco puede esperarse de la aplicación práctica de la inmunización para combatir y precaver las infecciones de los protozoarios. Por eso es más de apreciar que los protozoarios sean accesibles a los efectos quimioterapéuticos con mucha mayor frecuencia que las bacterias, como se comprende con sólo recordar la acción curativa específica de la quinina en el paludismo, de la emetina en la disentería amibiana y de las combinaciones orgánicas del arsénico, especialmente el salvarsán, en las infecciones de tripanosomas y en las tercianas palúdicas, así como también la acción de ciertas substancias colorantes en la tripanosomiasis (*V.* Parte general, página 131).

La clasificación sistemática de los protozoarios se hace, en primer lugar, desde el punto de vista morfológico, que lo mismo aquí que para las bacterias (véase página 3) es la base más segura para establecer un sistema natural. Algunas familias de protozoarios carecen de especies patógenas para el hombre y para los mamíferos, estando compuestas únicamente de especies saprofíticas, que viven en el agua y en los detritus orgánicos y que fueron descritas hace ya más de un siglo, por EHRENBERG, con el nombre de infusorios ; otras muchas especies son parásitas de animales de sangre fría y de otros animales de orden inferior. Entre las familias con representantes patógenos para el hombre merecen citarse las siguientes :

Rizópodos: de los cuales son patógenos para el hombre las amibas de la disentería.

Mastigóforos (flagelados) : entre éstos son patógenos para el hombre los tripanosomas y los leishmanias muy próximos a los anteriores, pues en su ciclo de desarrollo hay formas semejantes a los tripanosomas. Además, las especies tricomonas y lamblias, habitantes de las mucosas del tubo intestinal y del aparato genital.

Esporozoarios : subdivisión *hemosporidios* ; a la que pertenecen los parásitos del paludismo humano. Son afines a éstos los pirosomas o piroplasmas, parásitos endoglobulares en forma de pera con ciclo de desarrollo exógeno en los ácaros, que no contienen especies patógenas para el hombre, pero sí para los animales (fiebre de Texas) : subdivisión *coccidios* ; parásitos habitantes en las células fijas de los tejidos, no patógenos para el hombre, pero muy frecuentes en los conejos, por ejemplo.

Ciliados : parásitos bastante inofensivos de la mucosa intestinal del hombre *(balantidium coli)*.

1. Amibas de la disentería

A diferencia de la disentería bacilar propia de nuestras latitudes, la disentería endémica de los países tropicales y subtropicales, es debida a ciertas amibas, como la entamiba histolítica de SCHAUDINN y la entamiba tetrágena de VIERECK. Ya en el año 1875, había encontrado LOSCH amibas en las heces de enfermos de disentería, pero probablemente se trataba de la inofensiva *amiba coli*. Sólo después de las investigaciones de R. KOCH y KARTULIS, en Egipto, se demostró que en la disentería tropical aparecen constantemente determinadas amibas, con las cuales lograron producir la disentería en los gatos por infección intrarrectal.

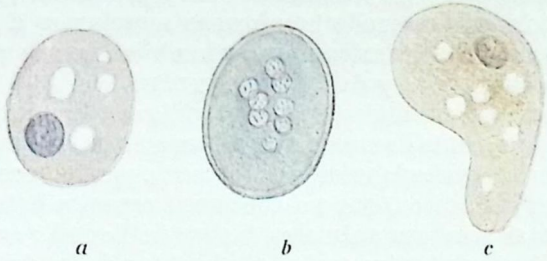
Para la significación etiológica de las amibas de la disentería, es de particular importancia, el hecho de haberse conseguido también producir la infección en los gatos con la inoculación de productos de abscesos del hígado, complicación muy frecuente en la disentería tropical, cuyos productos sólo contienen amibas sin bacilo ninguno (KRUSE y PASQUALE). Por un estudio morfológico profundo, llegó SCHAUDINN a diferenciar la inofensiva amiba coli, que aparece en ocasiones en el intestino del

hombre de la amiba de la disentería designada por él con el nombre de entamiba histolítica, que sólo se encuentra en la disentería ulcerosa. No se conoce aún con exactitud la relación de afinidad entre la entamiba histolítica de SCHAUDINN y la entamiba tretágena descrita más tarde por VIERECK, en el año 1907. Respecto de las particularidades de estas diversas formas (véase el cuadro de la pág. 300).



FIG. 165. Entamiba tetrágena.
Del Atlas de von R. O. NEUMANN y M. MAYER (aumento 1 : 1000)

Las amibas son organismos monocelulares que varían de forma al moverse, y también cuando las rodea un líquido nutritivo, por lo cual aparecen en las células prolongaciones protoplasmáticas en una



a *b* *c*

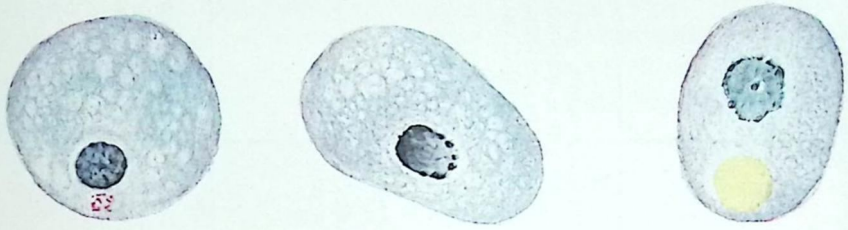
FIG. 166. Entamiba coli. *a*, Forma vegetativa. Coloración con hematoxilina férrica. Núcleo con anillo cromático y vacuolas. *b*, Quiste. Coloración con hematoxilina férrica. *c*, Forma vegetativa. Núcleo y vacuolas sin teñir.
Del Atlas de NEUMANN y MAYER (aumento 1 : 1000)

u otra parte llamadas seudópodos. La forma de éstos puede ser ancha, lobulada, puntiaguda, etc. La forma de las amibas, como indica su nombre (αμειβω = cambiar), está sometida a variaciones constantes.

En las amibas se distingue generalmente un ectoplasma transparente y un endoplasma, finamente granuloso, dentro del cual se halla el núcleo y la vacuola contráctil. El núcleo presenta, ordinariamente, una forma vesicular, está provisto de cariosoma central y se tiñe con hematoxilina.

Las amibas pueden cultivarse, si no en cultivos puros, al menos en cultivos mixtos con bacterias, puesto que para su nutrición necesitan elementos corpusculares formes.

A diferencia de la amiba coli inofensiva, las amibas de la disentería necesitan para su nutrición, glóbulos rojos, que con frecuencia se encuentran en su interior. Al colocarlas en un medio de vida desfavorable, cesa inmediatamente su movimiento, y, por último, se consti-



a *b* *c*

FIG. 167. *a* y *b*, Entamiba histolítica. Núcleo con anillo cromático compuesto de muchos puntos y un centriolo. *c*, Entamiba histolítica con un glóbulo rojo.
Del Atlas de NEUMANN y MAYER (aumento 1 : 1000)

tuyen formas enquistadas que, a diferencia de las formas vegetativas descritas, ofrecen mucha mayor resistencia a la desecación y a otras influencias perjudiciales, y de este modo pueden mantenerse vivas largo tiempo fuera del organismo. Con productos que contengan estas formas enquistadas puede producirse la infección por la boca, según demostró SCHAUDINN, mientras que las formas vegetativas mueren al penetrar por esta vía a consecuencia de la acción del jugo gástrico ; de este modo sucede probablemente el contagio natural.

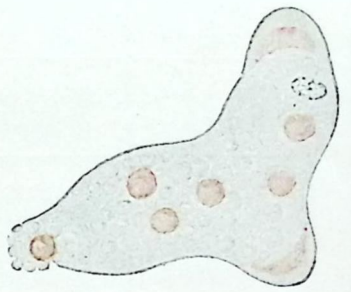


FIG. 168. Amiba en movimiento

En casos sospechosos de disentería amibiana el diagnóstico indudable sólo se consigue con la ayuda del microscopio y de los procedimientos biológicos. El material más adecuado para el examen microscópico son las heces recién evacuadas, sin reacción ácida. El examen debe hacerse en gota pendiente, a ser posible sin añadir solución fisiológica. Como las amibas suspenden su movilidad por debajo de 37°, a falta de platina caliente, es recomendable colocar las preparaciones en la estufa un momento antes de examinarlas. Al examen microscópico con pocos aumentos, aparecen las amibas como discos de brillo apagado. Con inmersión pueden observarse las inclusiones celulares, la aparición de los seudópodos y el movimiento.

Para obtener preparaciones que se quieran conservar se procede de la manera siguiente : extendidas las heces, se hace la fijación por vía húmeda, ya sea con alcohol y sublimado, con líquido de HERMANN o con vapores de ácido ósmico. Después de lavadas con agua, se tiñen

	Formas vegetativas						Formas de reproducción	
	Riqueza en cromatina del núcleo	Tamaño del cariosoma	Proceso cíclico en el cariosoma	Refringencia	Diferenciación del ecto y del endoplasma	Acción patógena en el hombre	Multiplicación	Tamaño	Multiplicación
Entamiba coli	rica en cromatina	grande	manifiesto	escasa	no reconocible	no patógena	dos divisiones y ocho divisiones	grande, pero más pequeño que las formas vegetativas	esporogonía casi siempre en quistes con ocho núcleos, rara vez con diez y seis. Reproducción doble autógama
Entamiba tetrágena	con moderada proporción de cromatina	mediano	»	moderadamente intensa	clara	patógena	dos divisiones	»	esporogonía en quistes con cuatro núcleos. Reproducción autógama
Entamiba histolítica (1)	pobre en cromatina	pequeño	insignificante	intensa	muy clara	»	dos divisiones y por brotes o yemas	pequeño, mucho menor que las formas vegetativas	formación de quistes y brotes, o yemas

(1) Sólo observada por SCHAUDINN.

con hemateína aluminosa, hematoxilina férrica, hematoxilina, eosina o azul de metileno.

Para mayor seguridad del diagnóstico, puede hacerse, además, ensayos en animales en la forma indicada anteriormente. Una forma semejante a las amibas (amiba *buccalis*) se encuentra casi siempre en la cavidad bucal del hombre, ordinariamente en número muy escaso, pero muy abundante cuando hay caries dentaria. Para fines didácticos, cuando no dispongamos de amibas parasitarias vivas, podremos

FIG. 169. Amibas en un absceso hepático. Coloración con hematoxilina y eosina (aumento 1 : 500)

servirnos de las especies saprofíticas que se encuentran con frecuencia en las infusiones de paja.

A manera de apéndice describiremos, además, algunos otros protozoarios parásitos también de las mucosas, que generalmente no producen afecciones graves.

Las origina con mayor frecuencia que los demás el *balantidium coli*, perteneciente a los ciliados, protozoarios portadores de pestañas vibrátiles, que aparece alguna vez como el agente causal de una enteritis en el hombre, la cual, en determinadas circunstancias, presenta carácter disentérico. Los parásitos de dimensiones hasta de 100 μ, aparecen con movimiento muy vivo, tienen todo el cuerpo cubierto de pestañas y presentan una abertura bucal en forma de embudo destinada a recibir los alimentos, así como dos pequeñas vacuolas contráctiles, y junto al núcleo principal, de forma de habichuela, otro pequeño núcleo secundario. Los parásitos conservan su movilidad en las heces sólo durante algunas horas. Se comprueban con entera claridad en los cortes de las

úlceras intestinales. Una forma semejante, quizá idéntica, se encuentra con frecuencia en el intestino del cerdo.

A la clase de los flagelados pertenecen los siguientes parásitos con forma de pera y provistos de 4 a 8 flagelos ; su tamaño varía de 10 a 25 μ.

Trichomonas intestinalis, que vive en el intestino del hombre.

Trichomonas vaginalis, que se encuentra en la vagina y en la vejiga.

Lamblia intestinalis.

Formas muy parecidas, utilizables con fines didácticos, se encuentran generalmente en el intestino terminal del lagarto y en el ciego del ratón gris casero.

2. Tripanosomas

Los tripanosomas, del griego τρυπανου = cuerpo en forma de tornillo, son flagelados de forma alargada, pisciformes, que tienen una existencia parásita en la sangre de determinados animales de sangre caliente y fría. A veces no producen síntoma alguno de enfermedad, otras los ocasionan más o menos graves. La longitud de los tripanosomas es bastante mayor que el diámetro de un glóbulo rojo. El extremo anterior se termina en un flagelo que ejecuta un movimiento de barrena. Este flagelo parte de una especie de núcleo, el blefaroplasto o raíz de flagelo, y se prolonga por el borde del cuerpo a manera de ribete. Entre el flagelo y el protoplasma existe un espacio que se llama membrana ondulante, que sirve también para la movilidad del microorganismo. En el cuerpo del tripanosoma se distingue ya sin teñir, pero se observa mejor la coloración de Romanowsky empleando un gran núcleo bien limitado, el cual se tiñe de rojo intenso lo mismo que el blefaroplasto. También los flagelos toman el color rojo. En muchos ejemplares se distingue un protoplasma granuloso a veces con vacuolas.

La reproducción se verifica en la sangre del animal huésped, asexualmente, por división longitudinal sencilla o a veces múltiple; la reproducción sexual se realiza en los mosquitos o tábanos que sirven de huésped intermediario. Se ha logrado cultivar los tripanosomas en el agar sanguíneo o en el agua de condensación del mismo.

Además del contagio de la tripanosomiasis por los insectos que sirven de huésped intermediario *(glossina, stomoxys* y algunas especies de tábanos), puede ocurrir también el contagio directo por contacto, especialmente por el coito, modalidad ordinaria y única para el contagio de la durina y probable, en ocasiones, para la enfermedad del sueño.

En el cuadro de la página 306 están comprendidos los tripanosomas más importantes, patógenos y no patógenos, con huésped e intermediario.

Las diversas especies de tripanosomas se distinguen por su morfología, especialmente por la disposición del aparato nuclear, y sobre todo biológicamente por su acción patógena y su acomodación específica a un huésped intermediario ; pero estas propiedades varían en grado

considerable en algunas especies, de modo que la diferenciación y perfecta limitación tropieza con dificultades. A continuación damos alguna otra referencia acerca de las especies más importantes en la práctica y de las que aparecen también en Europa, pues la mayor parte son propias de los climas tropicales y subtropicales.

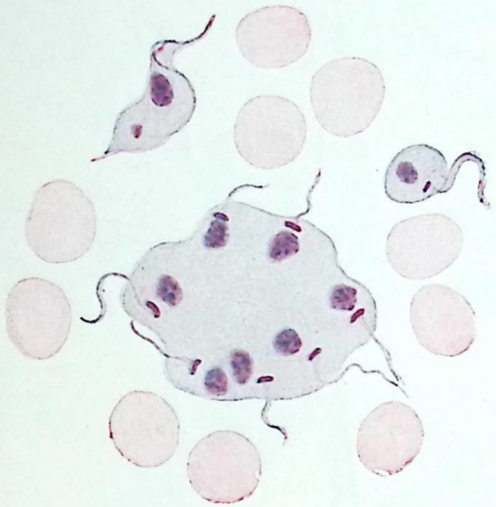


Fig. 170. Diversas fases de división múltiple del tripanosoma Lewisi-Kent (aumento 1 : 1300)
De Hartmann-Schilling, « Los protozoarios patógenos »

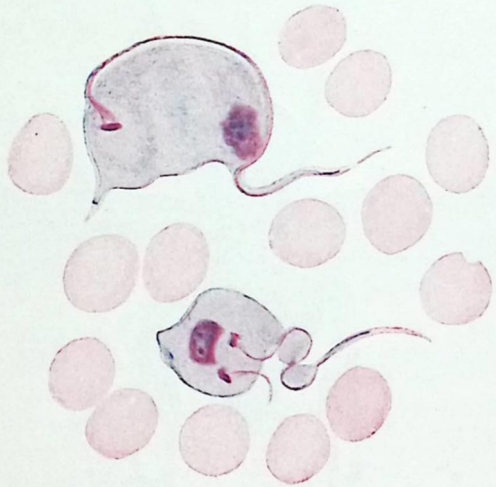


Fig. 171. Diversas fases de división múltiple en el tripanosoma Lewisi-Kent (aumento 1 : 1300).
De Hartmann-Schilling, « Los protozoarios patógenos »

El tripanosoma Lewisi, descubierto por Lewis en la India el año 1878 en la sangre de las ratas, es un parásito muy extendido entre dichos roedores. No produce síntomas morbosos.



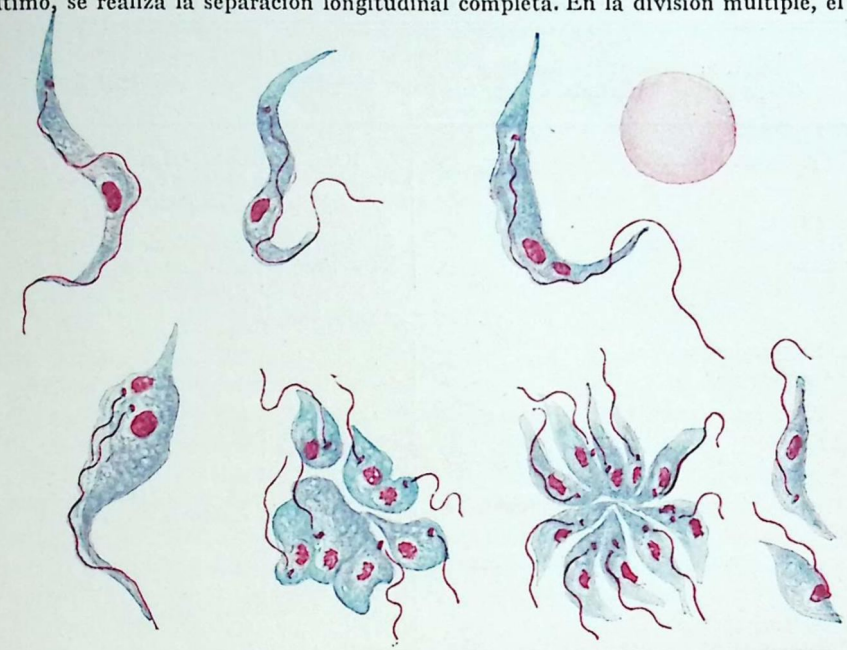
Fig. 172. *Glossina morsitans.* De Hartmann-Schilling, « Los protozoarios patógenos » (aumento 1 : 4)

En el tripanosoma Lewisi, el núcleo ovalado se encuentra en el tercio anterior del cuerpo. La parte posterior de éste es puntiaguda, el blefaroplasto es transversal



Fig. 173. *Glossina palpalis.* De Hartmann-Schilling « Los protozoarios patógenos » (aumento 1 : 4)

al eje del cuerpo. La reproducción ordinaria tiene lugar por división longitudinal, separándose primero el núcleo, luego el blefaroplasto, más tarde el flagelo y, por último, se realiza la separación longitudinal completa. En la división múltiple, el



División sencilla incipiente — División múltiple — Formación de rosetas — Elementos de una roseta

Fig. 174. Tripanosoma Lewisi (aumento 1 : 1500)

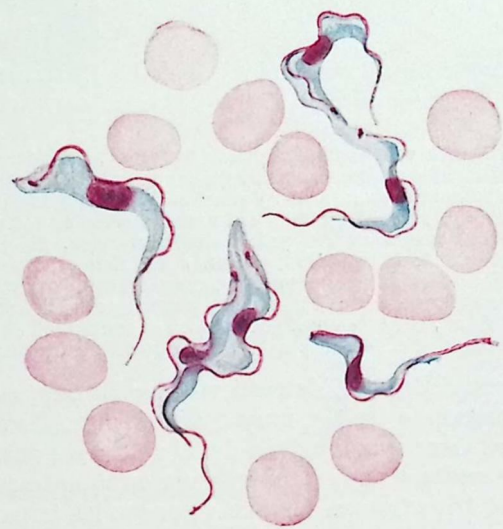


Fig. 175. Tripanosoma Brucei. División longitudinal. De Hartmann-Schilling, « Los protozoarios patógenos » (aumento 1 : 1300)

Tripanosomas de los mamíferos

I. Sin acción patógena manifiesta

Nombre del parásito	Nombre de la enfermedad	Huésped	Contagio por
Tripanosoma Lewisi	—	Rata	Piojo *(Hæmatopinus spinulosus)* y pulga de la rata *(Ceratophyllus fasciatus)*
Tripanosoma Theileri	—	Ciertos bóvidos	Probablemente por los tábanos

II. Patógenos

1. *Tripanosomas de los animales*			
Trip. *equiperdum*	Durina	Caballo	Coito
» *equinum*	Mal de caderas		?
» Evansi	Surra		Moscas de las especies *stomoxys* y *tabanus*
» Brucei	Nagana o Tse-tse	Buey, caballo, asno y mulo	Glosinas
2. *Tripanosomas del hombre*			
Trip. *gambiense*	Enfermedad del sueño	Hombre	*Glossina palpalis*, con menor frecuencia la *glossina morsitans* (algunas veces directamente por el coito)
Trip. *rhodesiense*	»	»	*Glossina morsitans*
Schizotrypanum Cruzi	Schizotripanosomiasis del Brasil	»	*Conorhinus megistus* (Chinche)

tripanosoma da origen a muchos individuos (fig. 174). La formación de rosetas no es frecuente. Este tripanosoma se contagia de unas ratas a otras por una especie de piojo, el *hæmatopinus spinulosus*, y por las pulgas de los mismos animales.

El tripanosoma *equiperdum*, germen del mal del coito en los caballos, llamado durina, está muy extendido en los países mediterráneos. El animal infectado, a los ocho o quince días de la infección, presenta un edema del pene o de la vulva, placas en la piel, afecciones de las mucosas, y, como síntomas posteriores, demacración, anemia y parálisis de las extremidades posteriores. En estos tripanosomas de 25 a 28 μ de longitud, el núcleo ovalado está en el centro del cuerpo. El extremo posterior es redondeado y el blefaroplasto está reducido a un punto.

El tripanosoma Brucei, descubierto por Bruce, es el germen de la enfermedad nagana o tse-tse, muy extendida en Africa entre los solípedos y bóvidos. Tiene una longitud de 25 a 35 μ ; el extremo posterior es relativamente redondeado ; la membrana ondulante es bastante más ancha que en el tripanosoma Lewisi ; por eso los tripanosomas de la nagana, tienen una figura más achatada. En el protoplasma se encuentran corpúsculos de cromatina aislados; el núcleo está en el centro del

cuerpo, y el blefaroplasto se halla próximo al extremo posterior y sobre el eje longitudinal del cuerpo. Delante de la raíz del flagelo se comprueba generalmente una vacuola. La multiplicación es longitudinal, y se verifica casi siempre de una manera regular en dos individuos. No se ha observado en él la formación de rosetas. El contagio se lleva a cabo por las moscas *tse-tse* o glosinas *(glossina morsitans, fusca* y *pallidipes)*. Según Koch, los tripanosomas recorren su ciclo de desarrollo y se reproducen dentro de las especies nombradas.

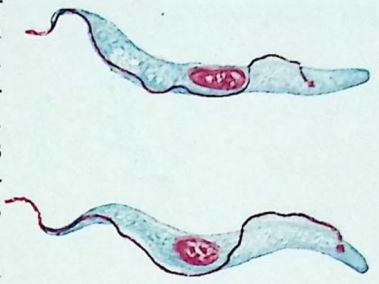
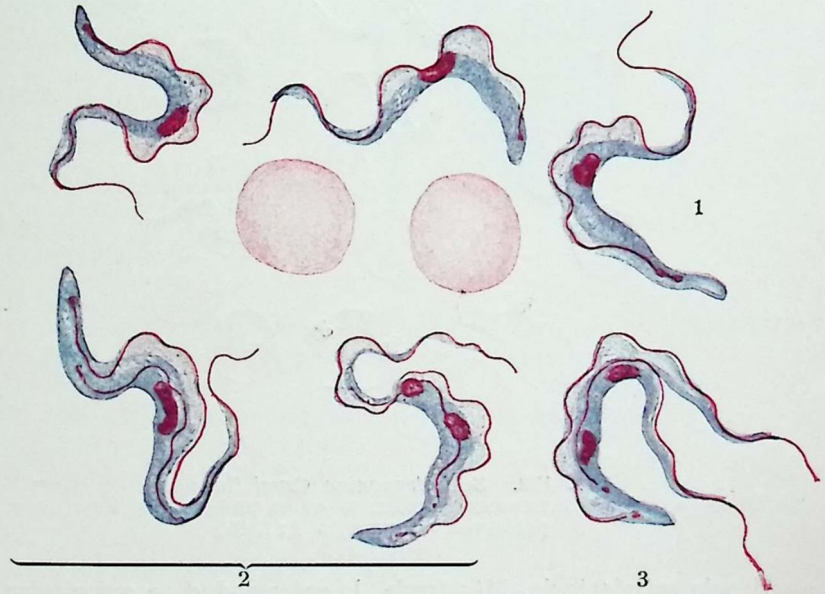


Fig. 176. Tripanosoma *equiperdum* (aumento 1 : 2000)

La mayor importancia práctica corresponde al tripanosoma *gambiense*, germen de la enfermedad del sueño en el hombre, enfermedad muy extendida en el Africa tropical (Africa oriental inglesa, Uganda, Congo, Africa occidental). El tripanosoma *gambiense* tiene de 15 a 30 μ de longitud por 1'5 a 2 μ de anchura. El núcleo está situado en el centro del cuerpo. Además del blefaroplasto ovalado, por lo general, es perfectamente visible una vacuola. La forma del tripanosoma *gambiense* es muy variada. Según Doflein, en la sangre del hombre, además de formas del tipo medio, con los extremos achatados y flagelos cortos, se encuentran ejemplares más alargados provistos de largos flagelos.



1. Comienzo de la división : blefaroplasto en forma de halterio. 2. División avanzada. 3. Separación incipiente

Fig. 177. Tripanosoma de la nagana (aumento 1 : 2000)

La infección sigue una marcha crónica. Los síntomas pueden aparecer al cabo de años. En la mayoría de los casos, la afección termina con una meningitis cerebroespinal purulenta e infección mixta por estreptococos.

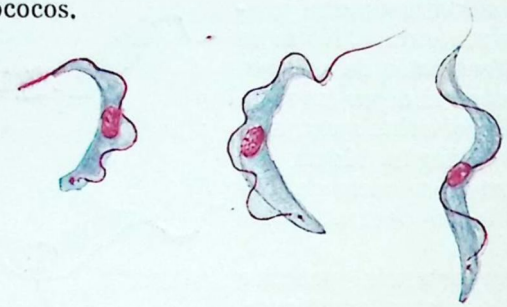


FIG. 178. Tripanosoma *gambiense* (aumento 1 : 1500)

En todos los casos se presenta una meningitis o encefalitis crónica. Como síntoma precoz aparecen infartos ganglionares en el cuello y en la nuca, cuando, por lo demás, el estado de salud es en

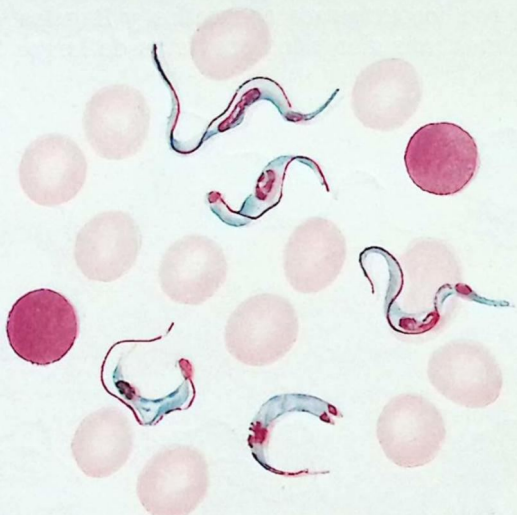


FIG. 179. *Schizotrypanum Cruzi* CHAGAS. De HARTMANN-SCHILLING, « Los protozoarios patógenos » (aumento 1 : 1300)

apariencia satisfactorio. Más tarde, la enfermedad se exterioriza con dolores de cabeza, fiebre, mareos y laxitud general. Los enfermos adelgazan, la cara se hincha, aparecen edemas en el tronco y extremidades

y el bazo aumenta de tamaño. En el último período, los enfermos caen en un sueño casi constante.

La comprobación de los tripanosomas se consigue mediante el examen microscópico, valiéndose de la coloración de GIEMSA, o del método de la tinta china, de los materiales siguientes :

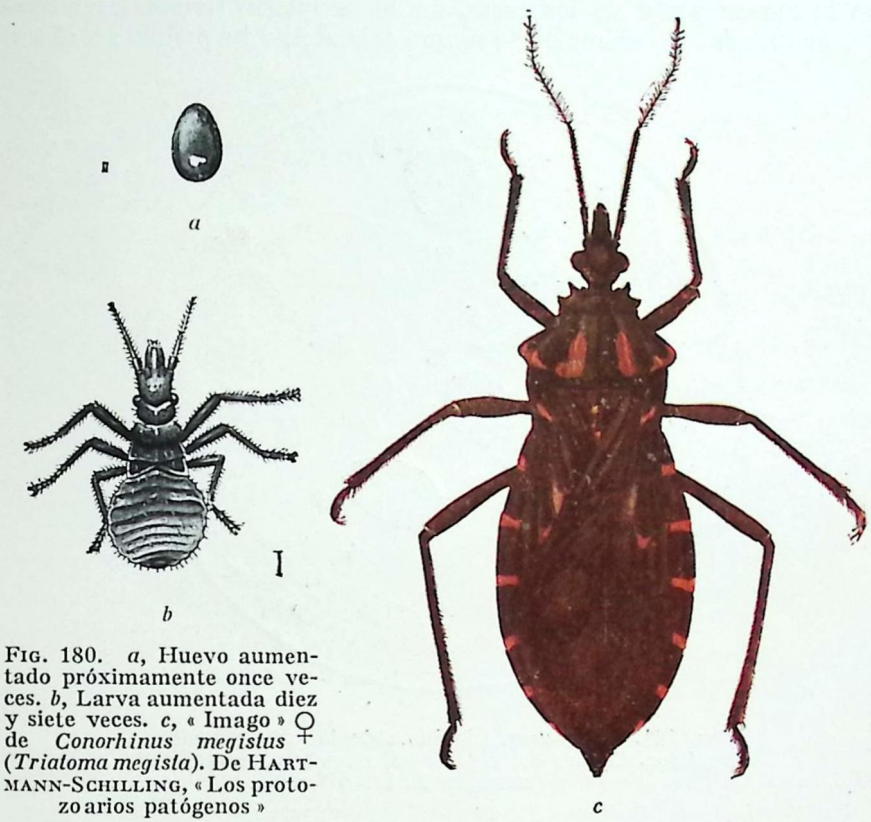


FIG. 180. *a*, Huevo aumentado próximamente once veces. *b*, Larva aumentada diez y siete veces. *c*, « Imago » ♀ de *Conorhinus megistus* ♀ (*Triatoma megista*). De HARTMANN-SCHILLING, « Los protozoarios patógenos »

1. Serosidad obtenida por punción de un ganglio infartado, de importancia especialmente para el diagnóstico precoz.
2. Sangre.
3. Líquido céfalo-raquídeo obtenido en el período en que predominan los síntomas cerebrales.

El contagio del tripanosoma *gambiense* en el hombre se verifica por picadura, generalmente por la *glossina palpalis* y también por la *glossina morsitans* ; rara vez por vía directa en la relación sexual.

Otra especie de tripanosoma, el *rodesiense*, se ha comprobado ser en muchos casos, el agente patógeno de la enfermedad del sueño en Rodesia septentrional y en Niasalandia. Es bastante más corto que el tripanosoma *gambiense* y se diferencia de él por ser más virulento en

las experiencias en animales, y porque ciertos ejemplares presentan el núcleo en la parte posterior del cuerpo detrás del blefaroplasto.

El contagio se verifica por picadura de la *glossina morsitans*.

El tripanosoma *cruzi (Schizotrypanum)*, descubierto por CHAGAS en el año 1907, es el germen de la tripanosomiasis del Brasil, la tiroiditis infecciosa. Se distingue por sus formas alargadas, que presentan, en la mayor parte de los casos, un blefaroplasto terminal relativamente grande. En animales de sangre caliente no ha podido ser obser-

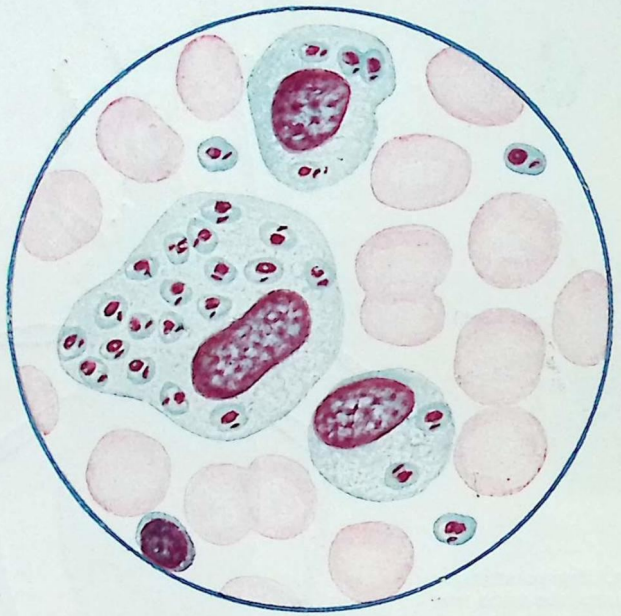


FIG. 181. *Kala-azar*. Líquido obtenido por punción hepática. Células del hígado con numerosos parásitos (aumento 1 : 1500)

vada la división longitudinal de los tripanosomas, pero sí que algunos individuos adquieren una forma redondeada, y la esquizogonía, conduce a la formación de 8 esquizontes, circunstancia que ha podido ser comprobada en los capilares y en el endotelio pulmonares, en el miocardio, en la neuroglia y en otras células del organismo de los animales enfermos.

El contagio tiene lugar por intermedio de una chinche, *conorhinus megistus*, en la cual se consiguió comprobar el germen primeramente (véase fig. 180).

3. Leishmanias

Son afines a los tripanosomas ciertos parásitos, observados solamente en el hombre y el perro, agrupados en el género *leishmania*, al cual pertenecen :

1. La *Leishmania Donovani*, llamada así por sus descubridores LEISHMAN y DONOVAN ; la cual es el germen del kala-azar o esplenomegalia tropical, enfermedad muy extendida en la India, Ceilán, China y también en Africa, de desenlace frecuentemente mortal.

2. La *Leishmania infantum*, germen de una enfermedad que aparece con frecuencia en los niños de los países ribereños del Mediterráneo ; quizá idéntica a la anterior.

3. La *Leishmania trópica, furunculosa*, germen del botón de Oriente,

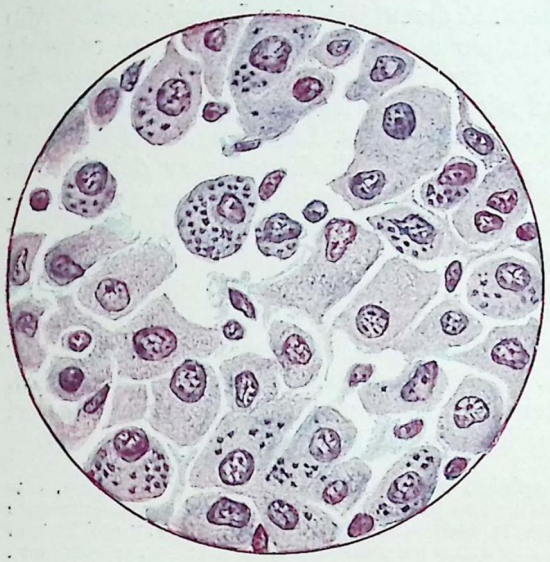


FIG. 182. *Kala-azar*. Corte de hígado. Coloración por la hematoxilina (aumento 1 : 500)

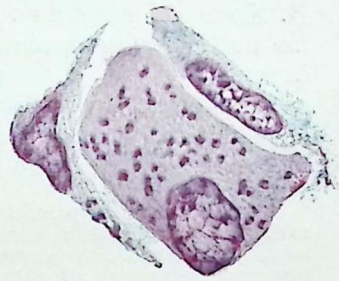


FIG. 183. *Kala-azar*. Corte de hígado. Coloración por la hematoxilina (aumento 1 : 700)

enfermedad de Asia y Africa, de la cual se observan de vez en cuando algunos casos esporádicos en los países europeos del Mediterráneo, durante cuya evolución aparecen bubones en diversas partes del cuerpo.

Estos tres parásitos son generalmente intracelulares. En las preparaciones sin teñir, aparecen como corpúsculos muy refringentes, inmóviles y en forma de pera. En preparaciones por el GIEMSA, sobre el protoplasma teñido de azul se distingue un núcleo ovalado rojo y un blefaroplasto, en forma de bastoncito, teñido de violeta obscuro. En el botón de Oriente, los gérmenes se encuentran amontonados en el interior de los corpúsculos de pus. En el kala-azar, el análisis de la sangre da resultado negativo en la mayoría de los casos, y los gérmenes únicamente se comprueban en el interior de las células del bazo y el hígado. En las preparaciones de sangre, una leucopenia considerable autoriza la sospecha de infección de *leishmania*.

Las formas descritas cultivadas en agar N-N-N (NOVI-NICOLLE-MC NEAL), o sea en agar adicionado de sangre desfibrinada de hombre

o de conejo, se desarrollan formas alargadas semejantes a los tripanosomas, movibles y provistas de un flagelo.

Como vectores del contagio han de tenerse en cuenta los insectos chupópteros, tales como las chinches y las pulgas del perro; éstas últimas especialmente para las *leishmania infantum* ; en el botón de Oriente, el contagio se verifica, directa o indirectamente, por las moscas.

4. Plasmodio del paludismo

El germen del paludismo fué descubierto por LAVERAN en el año 1880 ; fué éste el primer ejemplo de una infección humana causada por un protozoario. El estudio morfológico detallado del germen del paludismo se debe, principalmente, a los investigadores italianos CELLI, GOLGI y MARCHIAFAVA, entre otros. Los trabajos de R. ROSS acerca del desarrollo del parásito del paludismo fuera del hombre enfermo, en ciertas especies de mosquitos, constituyeron un gran progreso para el conocimiento completo del germen ; el estudio de su desarrollo sexual exógeno, fué completado más tarde por GRASSI y R. KOCH, de manera que hoy poseemos un acabado conocimiento de las particularidades de este germen dentro y fuera del organismo humano, lo cual es de importancia capital para prevenir y combatir racionalmente el paludismo. En la mayor parte de los países cálidos, el paludismo está muy extendido. En Alemania, especialmente en el Noroeste, se encuentran también algunos focos endémicos.

En frente de la primitiva opinión unitaria, representada por LAVERAN, que sostenía que las distintas formas de los gérmenes del paludismo son únicamente modificaciones de una misma especie, esencialmente una en el fondo, y que de una forma puede pasarse a las otras, hoy desde un punto de vista práctico, se considera que, a pesar de la relación filogenética entre las diferentes formas del paludismo, se trata, sin embargo, de enfermedades rigurosamente distintas. Abonan esta opinión, no sólo las observaciones epidemiológicas, como la de que en ciertas islas apartadas existe una sola forma de paludismo, sino que también las características morfológicas, que más adelante describiremos, de cada uno de los tres gérmenes y, finalmente, el efecto quimioterapéutico completamente diferente del salvarsán en las tercianas, de una parte, y en las cuartanas y paludismo tropical, de otra.

Es común a las tres formas del germen del paludismo el que todas ellas recorren su proceso de desarrollo asexual (esquizogonia) dentro del organismo humano, mientras que las formas sexuales (gametos), aunque aparecen en la sangre del hombre, no continúan en él su desarrollo, ni tampoco verifican en él la copulación ; el ciclo del desarrollo sexual se termina exclusivamente en el organismo de determinadas especies de mosquitos, que sirven de huésped intermediario. Fuera del organismo humano o del de los mosquitos, los gérmenes del paludismo no son capaces de desarrollarse ni de mantenerse vivos largo tiempo. Este conocimiento tiene una gran importancia para la epidemiología y la lucha contra el paludismo, porque para el estudio de la enfermedad sólo hay que tener en cuenta estos dos factores, el hombre y el mosquito infectado. El paludismo de los animales, observado alguna vez en los mamíferos y con mayor frecuencia en las aves (véase más

adelante «Paludismo de las aves») es completamente distinto del paludismo del hombre, y el de éste no es transmisible a los animales. Se ha observado en ocasiones cierta multiplicación de los parásitos del

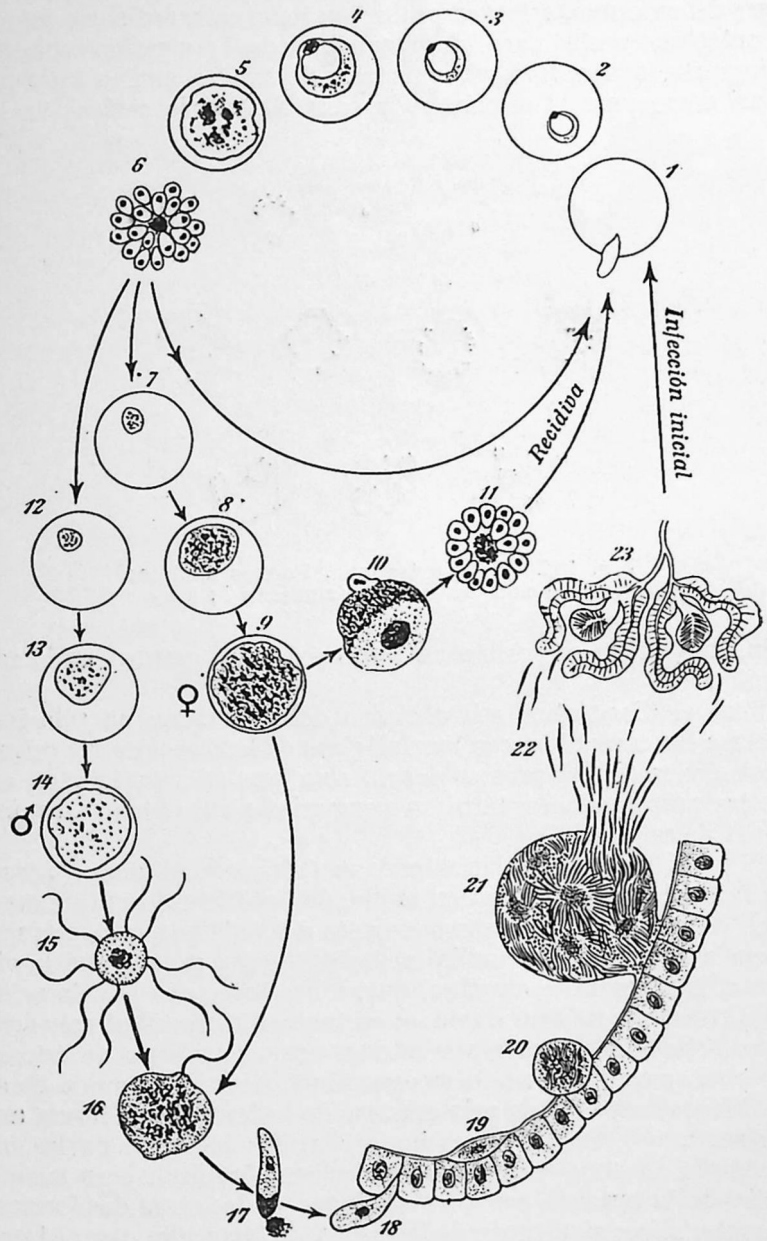


FIG. 184. Ciclo de desarrollo del *plasmodium malariae*. De HARTMANN-SCHILLING, «Los protozoarios patógenos»

paludismo, durante poco tiempo, en medios artificiales con sangre humana; pero, hasta la fecha, estos ensayos de cultivos carecen de valor para el diagnóstico práctico. Para establecerlo, no poseemos otro medio que la comprobación microscópica de los gérmenes en la sangre del enfermo; esta comprobación tiene extraordinaria importancia práctica, tanto para el diagnóstico de la afección como para distinguirla, con seguridad, de otras de cuadro clínico muy parecido, así como para el pronóstico y para obtener la certeza de la curación, la cual no es posible en tanto exista el germen en la sangre del enfermo.

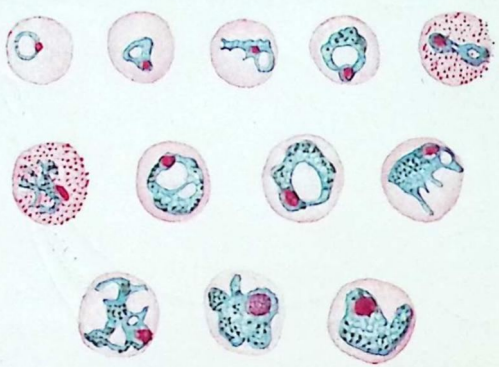


FIG. 185. Malaria terciana. Formas anulares. Coloración de GIEMSA (aumento 1 : 500)

Para el diagnóstico microscópico del paludismo no sólo han de conocerse las características morfológicas de las especies del germen y sus relaciones con el proceso febril, sino que además han de observarse las prescripciones técnicas necesarias para obtener las preparaciones de sangre.

El parásito de la malaria terciana *(plasmodium vivax)*, presenta, en su fase inicial, una forma en anillo, de un diámetro próximamente, de una cuarta parte del correspondiente a un glóbulo rojo; con mucha frecuencia una mitad del anillo es bastante más gruesa que la otra y contiene la masa de cromatina, que, sobre todo, con la coloración de GIEMSA, resalta con gran claridad, en tanto que la mitad más delgada carece de ella o únicamente presenta un pequeño nódulo de esta substancia; estas configuraciones se denominan «formas en anillo de sello» *(Siegelringformen)*. En la primera fase de la terciana, la forma anular puede ser muy difícil, a veces imposible, de distinguir de la misma forma de la cuartana y de la del paludismo tropical; pero cuando el parásito de la terciana crece, se distingue de las otras dos formas por las características siguientes: de los parásitos tropicales, por el tamaño, que en la terciana llenan casi por completo el glóbulo rojo, y más tarde aparecen como discos redondos o irregulares; y de los gérmenes

de cuartanas, así como de los del paludismo tropical, por la hipertrofia y punteado característico de la célula húesped; esta hipertrofia puede llegar al doble del diámetro normal de un glóbulo rojo. El punteado (SCHUFFNER) aparece en las preparaciones de GIEMSA en forma de granulaciones rojas intensas, repartidas uniformemente por el cuerpo de los eritrocitos. Estas granulaciones no son, precisamente, partes componentes del organismo de los parásitos, sino que se hallan fuera de los mismos y dependen de alteraciones de la substancia colorante de la sangre; su formación coincide con la palidez del glóbulo rojo atacado, característica también de la terciana. Los restos de la substancia colorante de la sangre consumida por los parásitos, aparecen, en las tres variedades de parásitos, en el interior de los mismos, a partir de los anillos de tamaño medio, en forma de gránulos o grumos más o menos grandes de pigmento.

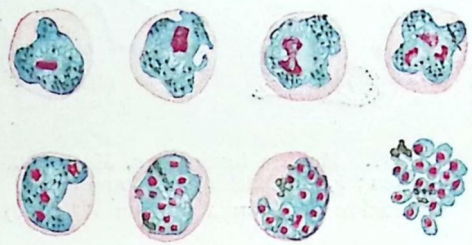


FIG. 186. Malaria terciana. División. Coloración de GIEMSA (aumento 1 : 500)

La división del parásito de la terciana, una vez desarrollado, se verifica, unas veces, mientras aún está rodeado de una estrecha orla formada por lo que resta del glóbulo rojo; otras, después de destruído éste por completo, cuando el parásito queda libre en la sangre. La división ocurre de la manera siguiente: la formación de segmentos se inicia en los bordes, con lo cual resulta la forma de mórula en cuyo centro se halla agrupado el pigmento; los granos de la mórula, cuyo número (de 15 a 24) es característico del parásito de la terciana, se definen cada vez más y terminan por separarse para penetrar en otro glóbulo rojo y comenzar de nuevo el proceso de desarrollo descrito. La división de los parásitos desarrollados se denominó y sigue llamándose *esporulación*, por lo cual, la clase de protozoarios a que pertenecen los del paludismo ha recibido el nombre de *hemosporidios;* pero como la palabra esporulación puede inducir a error ya que pudiera hacer pensar en la formación de esporos en las bacterias o con la esporogonia sexual en los protozoarios; por eso hemos creído preferible usar el término *merulación*, y llamar a los nuevos individuos resultantes de la división, *merozoitos* y no *esporozoitos*.

Además de la reproducción asexual, que puede prolongarse indefinidamente y que produce un ataque de fiebre en cada ciclo (figura 184,

números 1 a 6) se encuentran también formas sexuales en el organismo humano (gametos), cuyo desarrollo posterior no se realiza en el hombre, sino en los mosquitos. Estos gametos, situados dentro y fuera de los glóbulos rojos, se parecen mucho a los esquizontes, y presentan como éstos, la forma de discos; pero, a diferencia de las grandes

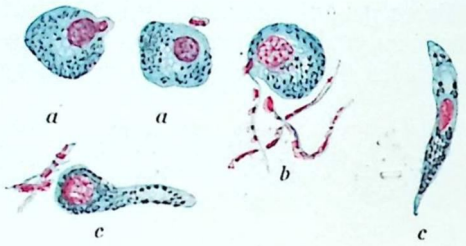


Fig. 187. Malaria terciana. *a*, Macrogametos; *b*, copulación, ; *c*, ooquineto
Coloración de Giemsa (aumento 1 : 500)

formas asexuadas no ofrecen señales de segmentación, y presentan una distribución más regular del pigmento. Hay dos clases de gametos, que se diferencian claramente entre sí por la disposición de la cromatina. Las formas masculinas, llamadas *microgametocitos* porque fuera

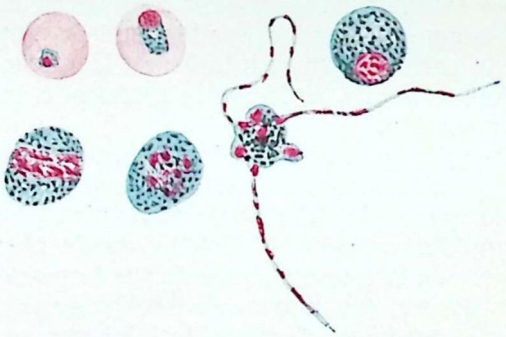


Fig. 188. Malaria terciana. Microgametocitos y microgametos
Coloración de Giemsa (aumento 1 : 500)

del organismo humano salen de ellos los *microgametos*, semejantes a los espermatozoos, presentan la cromatina en fragmentos gruesos aislados (fig. 184, números 12 a 15); y las formas femeninas, *macrogametos*, que ofrecen la cromatina finamente repartida por todo el protoplasma (figura 184, números 7 a 9); de ellos puede partir, por división partenogenética, el desarrollo de nuevos esquizontes dando origen a recidivas de la infección (fig. 184, números 10 y 11).

El parásito de la forma palúdica cuartana no se diferencia, en sus formas anulares de tamaño pequeño y medio, del de la terciana; en cambio, son muy características del parásito de la cuartana las formas

de cinta que aparecen más adelante en su crecimiento y se extienden de través, en una anchura mayor o menor de los glóbulos rojos. Recordemos otra vez que, en la cuartana, no se han observado en los glóbulos rojos atacados, las alteraciones tales como el aumento de tamaño, la palidez y el punteado, producidas por los parásitos de la terciana. También la manera de comportarse durante la división es diferente en ambos parásitos, pues el germen de la cuartana se subdivide en menor número de partes, 6 a 12 a lo sumo, que inmediatamente antes, se agrupan con frecuencia alrededor del pigmento en forma semejante a las hojas de una margarita. Los gametos de los parásitos de la cuartana son muy semejantes a los de la terciana, pero en ellos no se observan formas tan grandes que excedan del diámetro de los eritrocitos.

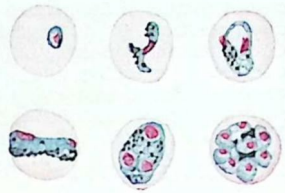


Fig. 189. Malaria cuartana. Coloración de Giemsa (aumento 1 : 500)

El germen del paludismo tropical fué clasificado por R. Koch como especie independiente; observadores anteriores habían descrito varios gérmenes distintos en la «fiebre estío-otoñal» en el «paludismo maligno», etc., pero no los habían diferenciado exactamente. El pará-

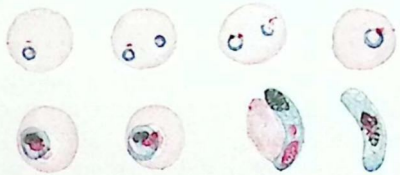


Fig. 190. Paludismo tropical. Coloración de Giemsa (aumento 1 : 500)

sito del paludismo tropical es bastante más pequeño que los dos nombrados anteriormente, de manera que sus formas anulares grandes pueden confundirse con las de tamaño pequeño y medio de la terciana y cuartana. Las formas anulares pequeñas del parásito del paludismo tropical, presentan un diámetro aproximado de $^1/_8$ del correspondiente a un glóbulo rojo, y por su pequeñez pueden distinguirse desde luego de las formas jóvenes de aquéllas. Las formas de división de los parásitos del paludismo tropical se observan rara vez en la sangre; pero son, en cambio, muy numerosas en frotis y cortes del bazo, médula, de los huesos y masa encefálica; los capilares del cerebro, especialmente, se presentan muchas veces llenos de estas formas en roseta; esta localización explica los graves síntomas nerviosos de la fiebre tropical. Los gametos de los parásitos del paludismo tropical, por su forma de media luna, son muy característicos, por lo cual se les llama formas semilunares sencillamente. Sus extremos son redondeados; el pigmento y la cromatina se agrupan en el centro. En el contorno cóncavo, se reconoce con frecuencia, un resto del glóbulo rojo atacado como una porción de muy débil coloración, pero la mayoría de

las formas semilunares están completamente libres de ello y ofrecen una longitud bastante mayor que la de un glóbulo rojo.

La interpretación del aspecto microscópico de la sangre en el paludismo puede complicarse, a veces, porque un glóbulo rojo puede estar infectado a un mismo tiempo por varios parásitos de la misma especie, como se observa con frecuencia en las formas anulares jóvenes del parásito tropical, y también porque pueden ocurrir infecciones mixtas en un mismo enfermo, ya sean producidas por generaciones distintas del mismo parásito, como sucede en la forma cotidiana, debida a dos generaciones de parásitos de terciana cuyo ciclo de desarrollo está distanciado de veinticuatro horas, o por tres generaciones de parásitos de cuartana; o bien cuando la infección mixta es causada por gérmenes diferentes, como, por ejemplo, el de la fiebre tropical y el de la terciana. Algunas veces se encuentran también formas completamente atípicas del parásito, como sucede especialmente, según RUGE, en las fiebres irregulares (véase fig. 185).

Las relaciones entre las diferentes formas del desarrollo de los parásitos del paludismo y el curso de la enfermedad en el hombre pueden concretarse, generalmente, diciendo que, el nacimiento de una nueva generación de esquizontes corresponde al comienzo de un acceso febril. Un gran número de glóbulos rojos son atacados por los numerosos parásitos recién formados, y consecutivamente tiene lugar la elevación de la temperatura. El carácter cíclico del proceso patológico, tal como lo refleja su antigua denominación de fiebre intermitente, corresponde al ciclo del desarrollo del parásito. Sin embargo, este carácter sólo se observa, en toda su pureza, en los casos recientes, sin complicaciones, y aparece muy claro en las fiebres tercianas y cuartanas que, como sus nombres indican, presentan un intervalo bien determinado entre cada dos accesos febriles.

En la terciana, el desarrollo del germen requiere cuarenta y ocho horas, y por eso cada tres días se presenta un acceso y un intervalo de veinticuatro horas sin fiebre.

En la cuartana el desarrollo del germen se verifica en setenta y dos horas, y por consiguiente, el ataque se sucede cada cuatro días y un intervalo de cuarenta y ocho horas sin fiebre.

En el paludismo tropical, la duración del ataque, así como, sobre todo, la del intervalo apirético son irregulares, pero también en él se cumple la ley de que el principio del acceso coincide con la aparición de una nueva generación de esquizontes. En el fastigio o máximo de la elevación febril, se encuentran, en las tres formas del paludismo, las formas anulares pequeñas de los parásitos, mientras que al descender la fiebre y especialmente en los intervalos apiréticos, pueden verse las de tamaño medio y las plenamente desarrolladas. Como los parásitos grandes son mucho más fáciles de encontrar que las formas anulares pequeñas, los cuales escapan fácilmente a la observación poco ejercitada, es recomendable, siempre que sea posible, emprender el análisis de la sangre no durante el ataque febril, sino en los intervalos, siendo el momento preferible seis horas antes del ataque subsiguiente. Desde luego debemos asegurarnos de que en los últimos días no se ha tomado quinina, porque en tal caso el resultado negativo puede inducirnos a error.

El examen de la sangre, con objeto de investigar los gérmenes del paludismo, puede hacerse en fresco o en preparaciones teñidas.

En la práctica sólo se emplean estas últimas, aunque el estudio de los parásitos en estado vivo es indispensable, sobre todo cuando se desea conocer sus manifestaciones vitales y observar sus movimientos y su reproducción. El examen en vivo ofrece el inconveniente de que no se percibe la cromatina, y, por otra parte, cuando lo practican principiantes puede ser causa de toda una serie de errores. Es particularmente difícil diferenciar las plaquetas de los parásitos del paludismo porque, dada su semejanza, incluso en preparaciones teñidas, pueden

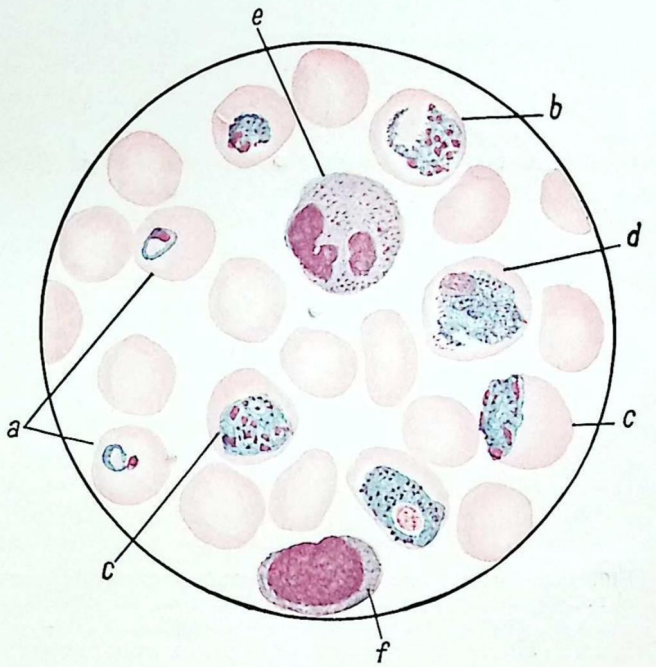


FIG. 191. Aspecto microscópico de la sangre en la forma terciana (compuesto reuniendo distintos campos visuales) (aumento 1 : 700) *a*, forma anular pequeña; *b*, forma anular grande; *c*, gameto macho; *d*, gameto hembra; *e*, polinuclear neutrófilo; *f*, gran mononuclear

llegar a confundirse, sobre todo si aparecen superpuestas a los glóbulos rojos. También el examen del movimiento puede inducirnos a error, especialmente si empleamos la platina caliente, porque en estas condiciones, los glóbulos rojos normales pueden presentar cierta movilidad, originada por corrientes plasmáticas, semejante al verdadero movimiento del parásito. Es de gran interés teórico la observación en las preparaciones en vivo del comienzo del desarrollo sexual, singularmente la salida a manera de enjambre de los microgametos en forma de flagelos, semejantes a espermatozoos, procedentes de los gametos masculinos *(microgametocitos)*. El gameto, inmóvil al principio, en el que sólo el pigmento tiene un movimiento vibratorio, ofrece de pronto un movi-

miento de oscilación y palpitación, apareciendo en su periferia cierto número de flagelos que terminan por soltarse y quedar libres entre los glóbulos rojos. El desarrollo sexual posterior se verifica en el organismo de los mosquitos (véase página 325).

Las preparaciones teñidas pueden hacerse en forma de frotis ordinario (fig. 191) o de « capa espesa » (fig. 192). Este último método permite el examen de la sangre en capa espesa, y hace posible el hallazgo de parásitos en los casos en que los frotis fracasan. Para ello se dejan secar sobre el portaobjetos varias gotas de sangre formando una capa espesa,

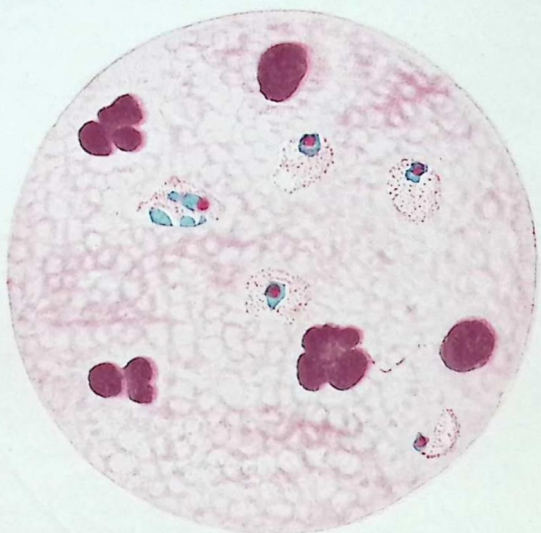


Fig. 192. Malaria terciana. « Capa espesa » coloreada, por el método de Romanowski. Protoplasma de los parásitos azul, núcleo rojo, punteado de Schüffner en rojo.
Original de Hartmann-Schilling « Los protozoarios patógenos»

y sin previa fijación se tiñe con la coloración de Giemsa (véase más adelante) ; después de lavar escrupulosamente con agua destilada los portaobjetos se colocan verticalmente para secarlos, pues el empleo de papel de filtro usado en otros casos no es aplicable en éste porque la capa de sangre adherida débilmente al cristal se pegaría al papel. También al hacer preparaciones en capa espesa, puede procederse en la siguiente forma : se introduce la preparación unos minutos en solución acuosa de formalina al 2 % adicionada de $^1/_2$ a 1 % de ácido acético. De este modo se elimina la hemoglobina. Se fija en alcohol por espacio de dos a cinco minutos y se tiñe por el método de Giemsa. En las preparaciones en capa espesa que resulten bien, los glóbulos rojos han desaparecido casi por completo, y los parásitos del paludismo, colocados entre los leucocitos y las plaquetas, se reconocen claramente por su cromatina que se tiñe de rojo y el protoplasma en azul. Los parásitos aparecen en formas algo alteradas por la violencia del tratamiento, y

quien únicamente conozca las formas típicas de las preparaciones de frotis necesita antes practicarse para interpretar acertadamente las formas que aparecen en las gotas grandes.

Para reconocer la fina estructura de los parásitos del paludismo son indispensables los frotis, por lo que éstos deben hacerse siempre en primer término. El frotis se hace sobre un portaobjetos porque el cubre es demasiado frágil y sólo permite extender una pequeña cantidad de sangre. Las preparaciones en cubreobjetos sólo se emplean para investigaciones numerosas, cuando, por ejemplo, se trata de examinar la sangre de todos los habitantes de una localidad, en cuyo caso entre cada dos cubreobjetos utilizados se pone un trocito de papel con un número, que se repite también en una lista aparte que se llevará al mismo tiempo.

Para obtener sobre el portaobjetos un frotis muy delgado y uniformemente extendido, lo mejor es proceder en la forma siguiente : se extrae la sangre del pulpejo del dedo, después de lavarlo previamente con alcohol y éter, o mejor aún del lóbulo de la oreja, que es menos doloroso; para pinchar, puede utilizarse una pluma ordinaria de acero después de quitarle una de las puntas y afilar la otra (R. Koch); la sangre que brota se recibe en el borde de un portaobjetos, previa y escrupulosamente lavado con alcohol, evitando, al tomar la sangre, que el cristal toque directamente la piel ; después se apoya el portaobjetos por el borde manchado sobre otro porta, bien limpio también, formando un ángulo de unos 45° y se extiende la sangre de una sola vez (véase fig. 193). Debe evitarse el frotar repetidas veces la misma preparación, así como el aplastar la capa de sangre entre dos portaobjetos. Cuando se desea obtener varias preparaciones de sangre de un mismo enfermo, nunca se utilizará el mismo borde del portaobjetos empleado para recoger la sangre, sino que deberá cambiarse de borde empleando uno cada vez ; el frotis debe hacerse inmediatamente después de tomar la sangre, para que la coagulación u otro cambio cualquiera de los glóbulos sanguíneos no dé origen a preparaciones defectuosas. Si la gota de sangre tomada con el borde del portaobjetos fuese demasiado grande, se evitará que el frotis resulte excesivamente espeso, apoyando rápidamente un par de veces el borde manchado sobre el portaobjetos antes de proceder a la extensión. El conocimiento de estos detalles, al parecer nimios, es muy necesario, sobre todo, cuando se desea obtener buenas preparaciones. Es claro que también en preparaciones imperfectas podrán encontrarse en muchos casos zonas utilizables. Cuando no es posible teñir inmediatamente la preparación, se dejan secar los frotis al aire y se les envuelve en papel de escribir ordinario bien limpio. En caso contrario, se fijan las preparaciones, durante un cuarto de hora en alcohol absoluto y mejor aun en una mezcla a partes iguales de alcohol y éter o con alcohol metílico. Las tinciones más bellas se obtienen por el método de Romanowsky-Giemsa, cuyo fundamento se ha descrito anteriormente (pág. 289). En una preparación teñida por el método de

GIEMSA que resulte perfecta, aparecen los eritrocitos de color rojo claro, el protoplasma de los mononucleares de azul claro con pequeñas granulaciones rojas aisladas, el protoplasma de los polinucleares, de azul gris con granulaciones rojizas y los núcleos, de violeta rojizo que puede llegar hasta el rojo obscuro ; las plaquetas aparecen, en parte, con sus formas pequeñas, angulosas, compuestas totalmente por cromatina, y en parte también, con sus formas mayores redondas o alargadas, presentando una doble coloración típica, es decir, el protoplasma en azul y rojas las porciones de cromatina, no siendo en este caso fáciles de distinguir de los parásitos del paludismo, sobre todo

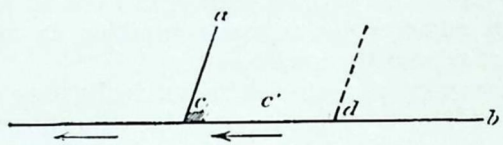


FIG. 193. Obtención de un frotis de sangre
a, Primer portaobjetos. *b*, Segundo portaobjetos.
c, Sangre en la cara posterior del primer portaobjetos.
c', Capa de sangre ya extendida (según RUGE).
d, Lugar en que se apoyó el primer portaobjetos.

si éstos se hallan sobrepuestos a los glóbulos rojos. Los parásitos aparecen con el protoplasma teñido de azul celeste y la cromatina de rojo brillante, ofreciendo en cada fase de su desarrollo la disposición característica descrita anteriormente.

Aunque con la coloración por el método de GIEMSA se obtienen las preparaciones más claras y hermosas, sin embargo, para los fines ordinarios del diagnóstico, es suficiente la coloración con azul de metileno boratado de MANSON, que se realiza de la manera siguiente : de una solución colorante concentrada (compuesta de 2 gramos de azul de metileno medicinal diluída en caliente en 100 c. c. de solución de bórax al 5 %), se prepara en un tubo de ensayo, inmediatamente antes de emplearla, una dilución en agua destilada, de tal modo que empiece a hacerse transparente ; con esta dilución se tiñen las preparaciones durante unos quince segundos y luego se lavan con agua hasta que tomen un color verdoso. Los glóbulos rojos aparecen entonces en color verde claro, el protoplasma de los leucocitos, en azul claro, y los núcleos, así como los parásitos, en azul obscuro.

Para un práctico, los parásitos del paludismo son fáciles de encontrar, sobre todo al examinar preparaciones de casos recientes; en los casos antiguos, tratados con quinina largo tiempo, a veces, hay que repetir las investigaciones para lograr encontrar alguna de las formas parasitarias. Sin embargo, aun cuando en estos casos no se encuentren parásitos, muchas veces pueden reconocerse alteraciones en los elementos celulares sanguíneos, que, aunque no bastan para afirmar que se trate de paludismo, dan, no obstante, cierta probabilidad de existencia de la infección. A esta clase de alteraciones pertenece el aumento en el número de los grandes mononucleares que se observa en el paludismo, y, en general, en todas las infecciones producidas por protozoarios ; otra alteración consiste en la presencia de glóbulos rojos de tinción metacromática (violeta azulado en la coloración de MANSON, violeta rojizo en la de GIEMSA) ; por último, aparecen también en los eritrocitos, granulaciones especiales, muy finas, las cuales fueron consideradas erróneamente por PLEHN, como formas jóvenes parasitarias, pero que seguramente nada tienen que ver con el germen del paludismo, sino que más bien representan verdaderas alteraciones patológicas de la sangre consecutivas a dicha infección, y de significación semejante a las que se observan en distintos procesos de anemia.

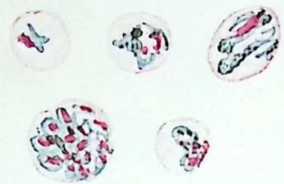


FIG. 194. Formas de parásitos del paludismo después de administrar quinina. Coloración por el método de GIEMSA (aumento 1 : 500)

Para la epidemiología y lucha contra el paludismo, además del examen del enfermo, es imprescindible también, en las comarcas infectadas o sospechosas de paludismo, el examen de los mosquitos. Con ello el práctico podrá comprobar si existen especies de *anofeles*, que son las únicas capaces de llevar el contagio al hombre o si solamente se encuentran especies de *culex* ordinarias que no transmiten la infección. Para distinguirlas hay que examinar tanto los mosquitos adultos, como las formas de desarrollo no terminado aún o sea las larvas y ninfas que se encuentran en el agua. Cuando se trata del mosquito ordinario *(culex)*, se hallan los huevos reunidos en montones y la larva pende casi perpendicularmente de la superficie del agua ; en el mosquito del paludismo *(anofeles)*, los huevos están separados y la larva se encuentra en posición paralela a la superficie del agua. Los mosquitos adultos presentan, cuando están posados, diferencias de actitud muy características según la especie, y que ya desde el primer momento permiten a los ejercitados distinguirlas ; en el *culex*, se vé el abdomen paralelo a la pared mientras que la cabeza y el tórax se encorvan inclinándose hacia el muro ; en el *anofeles*, la cabeza, el tórax y el abdomen están en línea recta y el conjunto dispuesto oblicuamente con respecto al muro. Para coger los mosquitos posados podremos servirnos del siguiente artificio (R. KOCH) : sobre el mosquito posado se pone un ancho tubo de ensayo en cuyo fondo se vierten antes algunas gotas de alcohol ; al echarse a volar el mosquito queda pegado al cristal húmedo, y con un poco más de alcohol se le vierte dentro de

un frasco donde se guardan todos. El examen microscópico comparado de la trompa de los mosquitos sirve para diferenciarlos de una manera

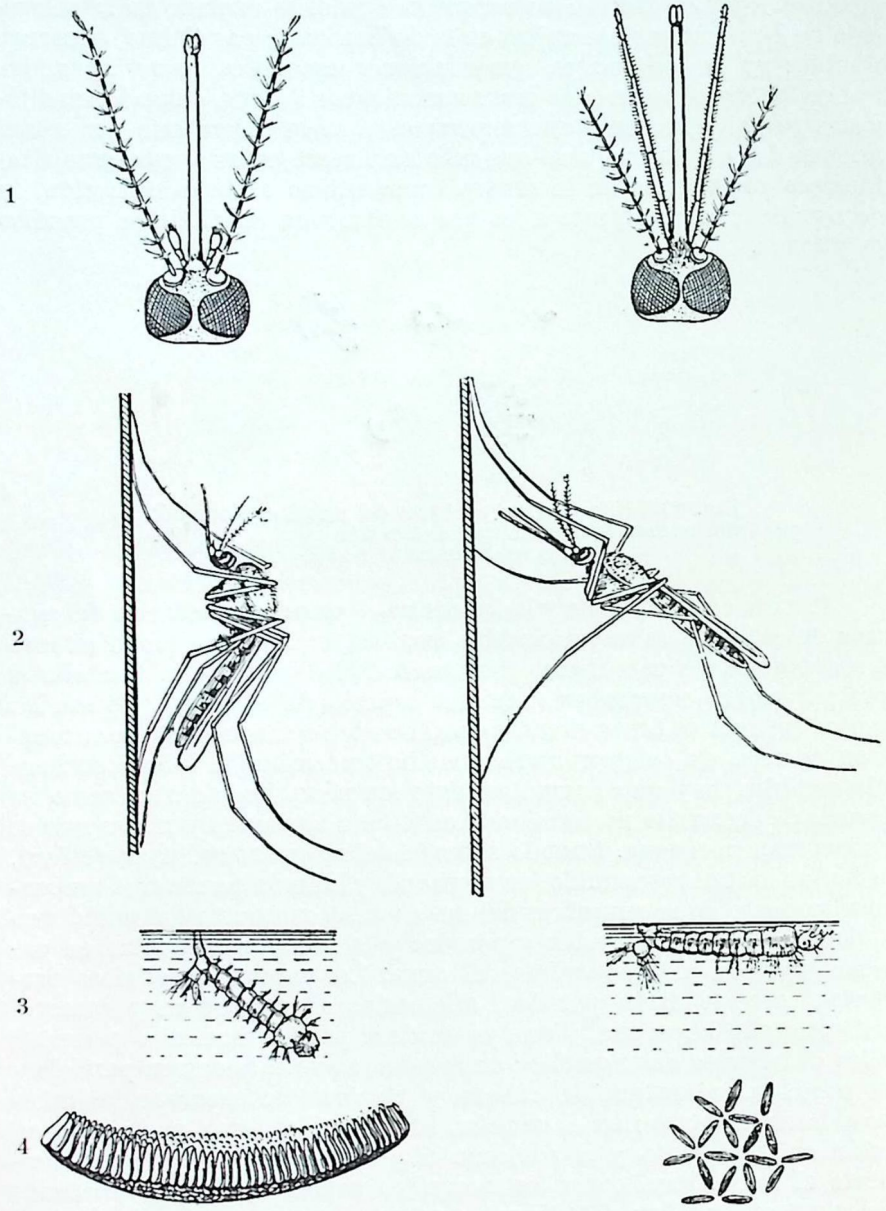


Fig. 195. Diferencias entre el *culex* (a la izquierda) y el *anofeles* (a la derecha). De Hartmann-Schilling, « Los protozoarios patógenos »

1. Trompa. 2. Actitud del mosquito posado en la pared. 3. Actitud de las larvas en la superficie del agua. 4. Disposición de los huevos en el agua

indudable, para lo cual es suficiente el aumento proporcionado por la lupa ; en la hembra del *culex*, los dos palpos, que se hallan a cada lado de la trompa, son muy cortos, y, en cambio, en el macho, son más largos que la trompa, mientras que en el *anofeles*, los palpos y la trompa, son próximamente de la misma longitud en ambos sexos. Los palpos no deben confundirse con las dos antenas vellosas situadas más al exterior. También la configuración de las alas sirve para diferenciar la mayor parte de las especies de *anofeles* de las de *culex*, porque en los primeros las alas suelen ser maculadas y en los últimos, no; sin embargo, hay excepciones en este punto.

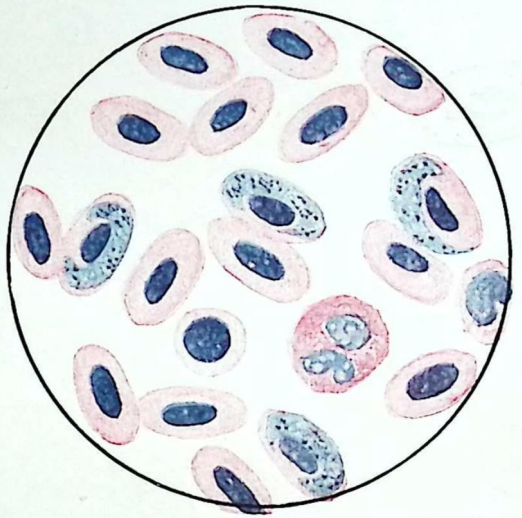


Fig. 196. *Halleridium*. Coloración por el método de Giemsa (aumento 1 : 1000)

Finalmente tiene gran interés teórico el conocimiento de las fases del desarrollo de los parásitos del paludismo en el mosquito, las cuales sólo esbozaremos, ya que su comprobación no es incumbencia del clínico por las considerables dificultades técnicas que presenta (preparaciones del estómago y de las glándulas salivares del mosquito), véase la fig. 184, núms. 16 al 22. De igual modo que el examen de sangre en gota pendiente, puede observarse también en el estómago de los mosquitos la salida en enjambre de los microgametos, semejantes a espermatozoos; cada uno de estos corpúsculos, en forma de flagelo, penetra en un gameto hembra, y por copulación surgen los ooquinetos vermiformes, que atraviesan la pared del estómago del mosquito y forman en la cara exterior un quiste, el cual sirve de origen a otros que se desarrollan a su alrededor. En el interior de éstos se forman a su vez una multitud de corpúsculos falciformes, que al abrirse los quistes se dispersan y llegan a las glándulas salivares, desde donde pasan a la sangre del hombre al ser picado por el mosquito, produciendo así la infección inicial. El ciclo del desarrollo sexual del parásito en el mosquito requiere unos doce días, a una temperatura de 25°.

Plasmodias del paludismo de las aves

Creemos necesario hacer, por lo menos, una breve descripción de estos protozoarios; en primer lugar, porque por su abundancia en nuestro clima constituyen un material apropiado utilizable en cualquier momento para fines didácticos, y además, porque el ciclo completo de su desarrollo se conoció antes que el del paludismo del

hombre, y por esta razón adquirieron gran importancia en la investigación de este último. A diferencia de los parásitos del paludismo del hombre, que ofrecen formas redondeadas y anulares, los parásitos del paludismo de las aves presentan



FIG. 197. *Halleridium noctuae.* Coloración por el GIEMSA (aumento 1 : 1000)



FIG. 198. *Halleridium noctuae.* Macrogameto con cariosoma (aumento 1 : 1000)



FIG. 199. *Halleridium.* Parásito extraglobular (aumento 1 : 1000)

la forma de vermes alargados o de halterios. En Alemania, el parásito más frecuente en las aves, es el *halleridium Danilewsky;* en verano, la infección está muy extendida entre los cernícalos, pinzones y otras aves, sin que los animales



FIG. 200. Proteosoma *praecox* (aumento 1 : 1000)

atacados presenten síntomas patológicos de ninguna especie. Los parásitos se encuentran en los glóbulos rojos, junto al núcleo, que no es destruído ni desplazado por el crecimiento del parásito. Las formas jóvenes, de las cuales se encuentran con frecuencia varias en un mismo glóbulo, son pequeñas y de contorno irregular; los parásitos desarrollados tienen la forma de halterio, no suele haber más de uno en cada glóbulo, a lo sumo dos, y al llegar a su completa madurez llenan casi totalmente el glóbulo, apareciendo arrollados alrededor del núcleo. En esta infección, generalmente crónica, el desarrollo por esquizogonia no se observa en la sangre periférica; en cambio, ha sido observada recientemente por WASIELEWSKI y WÜLKER, en los capilares de los órganos internos de las aves atacadas de infección aguda en las primeras semanas de su vida; «los parásitos se observan, al principio, en formas mono o polinucleares, en los leucocitos mononucleares; al crecer, destruyen la célula huésped, transformándose en células redondas polinucleares, que quedan libres en los capilares. Hay células redondas de gran tamaño, que contienen hasta 100 núcleos. De su destrucción surgen numerosas formas jóvenes, que al principio, probablemente, vuelven a atacar a los leucocitos, y que más tarde producen, directamente o por elementos intermediarios desconocidos hasta hoy, una infección de los glóbulos rojos» (según WASIELEWSKI y WÜLKER, Beihefte zum Archiv fur Schiffs-und Tropenhygiene, Band 22 Beiheft 2). Llama poderosamente la atención la observación del desarrollo sexual del *halleridium* visto en el portaobjetos, pero puede estudiarse mucho mejor en gota pendiente, colocando los glóbulos sanguíneos infectados en una mezcla de una parte de sangre de paloma y nueve de solución fisiológica; de este modo puede observarse cómo las formas de halterio maduras salen de la célula huésped y se transforman en gametos masculinos y femeninos, y cómo de los primeros surgen a manera de espermatozoos los microgametos los cuales penetran en los femeninos, resultando de todo ello, finalmente, los ooquinetos de aspecto vermiforme. El desarrollo posterior de éstos se realiza en insectos chupópteros, particularmente en la especie de mosca *carnus hemapterus.* En el *culex* es probable que no.

En cambio, el proteosoma *praecox*, parásito muy frecuente en los gorriones y pinzones del sur de Europa, y que ha sido estudiado principalmente por GRASSI, se desarrolla en el *culex nemorosus* de una manera semejante al parásito del paludismo humano en el *anofeles.*

F. Gérmenes patógenos ultramicroscópicos

El primer ejemplo de agente patógeno fuera del límite de visibilidad microscópica fué debido a la comprobación realizada por LÖFFLER y FROSCH de que la fiebre aftosa podía transmitirse de un animal a otro por inoculación del contenido de la vesícula, completamente claro y libre de gérmenes por filtración, con la circunstancia de que el contagio se sostiene ilimitadamente en experiencias en serie, lo cual excluye con seguridad la objeción de que se trate no de un virus vivo, sino de una toxina soluble. Posteriormente se comprobaron gérmenes patógenos de esta clase en numerosas enfermedades. A continuación describiremos brevemente algunos de los más importantes desde el punto de vista del diagnóstico práctico.

Algunos de estos gérmenes se encuentran dentro del límite de visibilidad microscópica y sólo pueden ser vistos con los más grandes aumentos (por encima de 2000 diámetros), aun cuando nada concreto puede decirse de su forma. A esta clase pertenece el germen de la perineumonía del ganado vacuno, descubierto por NOCARD y ROUX, que aparece en pequeñas formas ovaladas y puede obtenerse en cultivos puros en sacos de colodión en la cavidad peritoneal del animal vivo. Al mismo género pertenecen probablemente también las granulaciones encontradas por PASCHEN en el contenido filtrado de las pústulas virulentas de la viruela y de la vacuna. Otros agentes patógenos

genos ultramicroscópicos son desgraciadamente invisibles por los medios ópticos actuales, incluso por el ultramicroscopio (véase pág. 26). KRUSE designa oportunamente a estos gérmenes con el nombre de *afanozoarios*. A este grupo pertenece el germen del coriza del hombre. KRUSE pudo demostrar el contagio de esta afección, conocido ya por la experiencia diaria, así como el carácter ultramicroscópico del germen, produciendo experimentalmente la afección en el hombre con la secreción nasal filtrada y, por tanto, desprovista de gérmenes. DOLD confirmó este resultado y logró el cultivo anaerobio del germen en caldo-suero, logrando también con este cultivo infecciones experimentales. A continuación enumeramos brevemente algunas enfermedades propias de países cálidos y templados producidas por agentes patógenos invisibles, cuyo contagio es debido a un insecto intermediario.

Fiebre amarilla, enfermedad endémica en América Central y del Sur, en Africa occidental y alguna vez también observada con carácter epidémico en España. Casos aislados importados se han observado también en los puertos marítimos de Europa. El contagio es debido a un mosquito, el *Stegomya fasciata*.

Dengue, enfermedad propia de los países mediterráneos y de los trópicos. Se contagia también por un mosquito, el *Culex fatigans*.

Fiebre Pappataci, enfermedad de los países mediterráneos y frecuente en Dalmacia. Su propagación se debe a una pequeña mosca, *Phlebotomus Pappataci*.

Mientras que en las enfermedades enumeradas no es visible el germen, ni en el hombre enfermo ni en el huésped intermediario, y sólo puede deducirse su existencia por el carácter infeccioso de la sangre filtrada y, por consiguiente, desprovista de gérmenes, el agente patógeno del tifus exantemático ocupa una posición única, porque, si bien es cierto que no ha podido comprobarse en el hombre enfermo, se le percibe ya a los 1000 diámetros con figura bien caracterizada morfológicamente en el piojo del vestido, que es su huésped intermediario (véase más adelante, pág. 338).

Hay también agentes morbosos de naturaleza submicroscópica y filtrable, cuya presencia se deduce indirectamente por las alteraciones morfológicas características (inclusiones) que producen en las células atacadas. Estas inclusiones se originan porque las células atacadas envuelven al parásito con productos de reacción del protoplasma celular y de ahí la designación de *clamidozoarios* (PROWAZEK). A causa de su figura redondeada, estas inclusiones reciben también el nombre de *estrongiloplasmas* (LIPSCHUTZ). A esta clase pertenecen los corpúsculos de la viruela, considerados al principio como germen de la enfermedad, y conocidos con el nombre de corpúsculos de GUARNIERI, por llamarse así su descubridor ; análoga significación ofrecen los corpúsculos de NEGRI en la rabia. En estos casos, la filtrabilidad del germen demuestra que todas estas inclusiones celulares descritas no pueden representar el germen mismo, porque son demasiado grandes para atravesar los poros de un filtro impermeable a las bacterias ;

pero si bien estas inclusiones no son el mismo germen, éste se halla contenido en ellas y, por consiguiente, son de gran valor diagnóstico en la práctica como productos de reacción específica.

1. Viruela

El primer paso en la investigación de la etiología de la viruela, se debe al descubrimiento de GUARNIERI. Este autor observó que inoculando virus de viruela o de vacuna en la córnea del conejo, se hacían perceptibles junto al núcleo de las células epiteliales de la córnea,

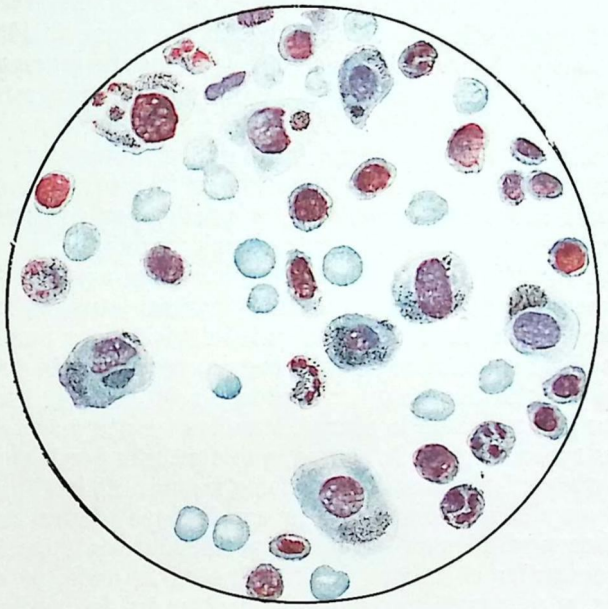


FIG. 201. Corpúsculos de GUARNIERI (aumento 1 : 1000)

unas pequeñas formaciones redondeadas, que podían teñirse con substancias colorantes del núcleo y que eran específicas de la viruela y de la vacuna, pues no aparecían por inoculación del contenido de pústulas de varicela, por lo cual su comprobación podía servir en la práctica para el diagnóstico microscópico de la viruela. Estos descubrimientos de GUARNIERI fueron confirmados por numerosos investigadores, así como también pudo demostrarse el contagio del proceso específico de la córnea del conejo, de un animal a otro, a través de numerosas generaciones. Estos corpúsculos de GUARNIERI no representan ciertamente el germen mismo, sino un producto característico de la reacción celular, como se deduce por el hecho de que el germen mismo sea de tamaño submicroscópico y atraviese los filtros imper-

meables a las bacterias. En los filtrados desprovistos de bacterias, han sido comprobadas por distintos investigadores (PASCHEN y otros) pequeñas formaciones redondeadas o en figura de halterio, las cuales únicamente pueden ser observadas utilizando coloraciones muy intensas, como la de GIEMSA o por el procedimiento de LÖFFLER usado para la tinción de flagelos, pero que a causa de su tamaño extraordinariamente pequeño, no han podido ser lo suficientemente caracterizadas morforlógicamente para poder atribuirles un valor en el diagnóstico diferencial. Sin embargo, la utilidad práctica de la inoculación en la córnea del conejo del contenido de pústulas de casos sospechosos, subsiste actualmente independientemente del concepto teórico que pueda formarse de la naturaleza de estas inclusiones celulares. El valor práctico del diagnóstico de la inoculación de virus variólico en la córnea del conejo, ha ganado mucho recientemente gracias a la modificación en el método, debida a PAUL, que permite establecer el diagnóstico en el plazo de dos días. Invita a la generalización de este nuevo procedimiento la circunstancia de que el material de investigación (contenido de las pústulas), conserva su virulencia aún desecado en capa espesa sobre el portaobjetos, y puede, por consiguiente, soportar el transporte hasta el laboratorio más próximo.

La investigación en animales se verifica de la manera siguiente : el material seco en capa espesa sobre el portaobjetos, se reblandece con una pequeña cantidad de solución fisiológica y por medio de una aguja fina se inocula en la córnea del conejo, previamente anestesiada, produciendo escarificaciones que se cuidará sean muy ligeras a fin de evitar arañar groseramente la córnea. Pasadas treinta y seis a cuarenta y ocho horas aparecen sobre la córnea, que continúa por lo demás completamente clara, diminutas elevaciones a manera de burbujas de aire que se ven muy bien examinándolas con la lupa. Estas lesiones del epitelio se hacen visibles en forma extraordinariamente característica, si después de matar el conejo de un golpe en la nuca, se enuclea el globo ocular, y se mantiene en alcohol saturado de sublimado. Las elevaciones de la córnea resaltan a los pocos minutos como puntitos blancos de yeso. Su aparición, que puede comprobarse a simple vista, es específica de la viruela o de la vacuna y no se observa en la varicela. Si después de esta experiencia subsistiese alguna duda, la investigación histológica de las porciones turbias de la córnea, para comprobar si contienen corpúsculos de GUARNIERI, acabaría de precisar el diagnóstico.

También se ha intentado hacer el diagnóstico diferencial de la viruela, auxiliándose con los métodos serológicos, tales como la fijación del complemento y la termo-precipitación, pero estos métodos son poco aplicables al diagnóstico precoz tan importante en la práctica, porque la presencia de anticuerpos en la sangre no existe hasta los siete días, y antes de este tiempo, la inoculación en la córnea del conejo puede haber dado ya útiles resultados.

2. Escarlatina

El germen de la escarlatina no es conocido todavía, aunque recientemente se ha logrado el contagio de la infección con sangre del enfermo inoculada en los antropoides. El virus de esta enfermedad es filtrable. No pueden considerarse

específicas de la escarlatina las inclusiones redondas o alargadas descritas por DOEHLE, observables en los leucocitos en frotis de sangre coloreados con solución de azul de metileno boratado de MANSON, puesto que dichas inclusiones aparecen también en otros procesos infecciosos. Estos corpúsculos no deben considerarse como los gérmenes verdaderos, sino más bien como productos de reacciones celulares ; su ausencia en casos recientes aboga, desde luego, contra la escarlatina, y su presencia masiva hace verosímil el diagnóstico de esta enfermedad. Los estreptococos que se comprueban, en casi todos los casos de escarlatina, en las amígdalas y a menudo en la sangre, no tienen significación específica, sino que demuestran la existencia de una infección mixta.

3. Fiebre aftosa

Esta enfermedad de los animales, se contagia alguna vez al hombre, ya sea por contacto directo, al ordeñar por ejemplo, o también por tomar leche cruda de animales infectados. En el hombre, aparecen aftas en la boca y vesículas en las manos. La fiebre aftosa es la primera enfermedad en que se consiguió comprobar un virus filtrable en el contenido de las vesículas (FROSCH y LÖFFLER). En los animales ya curados se comprueban anticuerpos virulicidas, que fueron empleados por LÖFFLER para la inmunización mediante un método basado en la inoculación simultánea del contenido de las vejigas y de antisuero.

4. Tracoma

HALBERSTADTER y v. PROWAZEK describieron en el año 1907, unas formaciones redondas muy pequeñas existentes en las células de la conjuntiva de los enfermos de tracoma, que se tiñen de rojo por la coloración de GIEMSA y están rodeadas

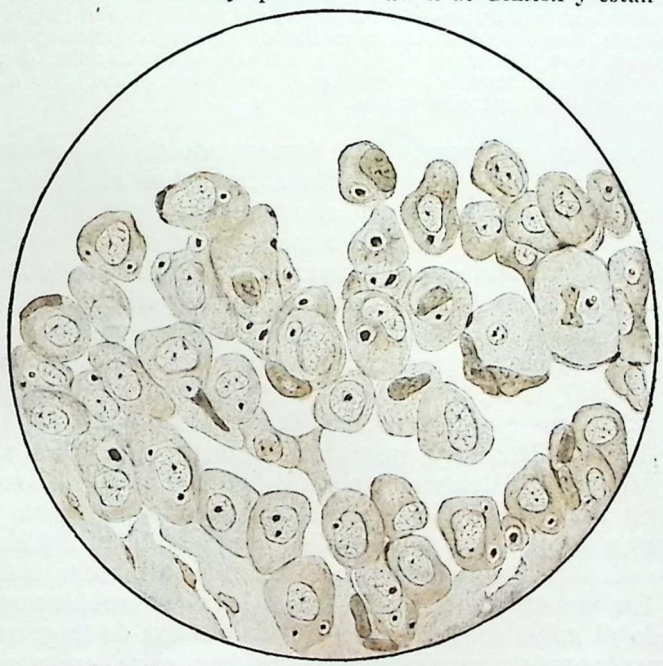


FIG. 202. Tracoma. Frotis de secreción conjuntival.
Coloración de GIEMSA (aumento 1 : 500)

con frecuencia de una substancia envolvente de color azul ; las mismas formaciones pueden observarse en el tracoma inoculado en monos. Respecto a la significación etiológica de estas formaciones se oponen, sin embargo, argumentos muy impor-

tantes ; en primer lugar, no se encuentran en todos los casos de tracoma, sobre todo en las infecciones recientes ; además, formaciones idénticas o muy semejantes se observan también en numerosas infecciones purulentas de la conjuntiva, unas veces bacterianas como las gonocócicas o neumocócicas, otras veces también sin bacterias, como en la « blenorrea de inclusiones » (llamada así por las que aparecen en las células), enfermedad contagiosa de los ojos, que presenta muchas veces cierta semejanza con el tracoma (conjuntivitis folicular), pero de proceso mucho más leve. El hecho de que inclusiones celulares semejantes se encuentren especialmente en el epitelio del conducto genital y de la uretra, de los padres de los recién nacidos atacados de blenorrea de inclusiones, y el que por la inoculación de secreciones genitales pueda producirse experimentalmente en los monos la misma inflamación de la conjuntiva que por inoculación de secreción de esta membrana, hacen muy probable que el virus de la blenorrea de inclusiones represente una substancia patógena distinta del germen del tracoma (B. Heymann). En este estado de la cuestión no puede pensarse en dar valor diagnóstico a las inclusiones celulares observadas en el tracoma.

5. Poliomielitis aguda (Parálisis espinal infantil)

Heine, en 1840, fué el primero que describió el cuadro clínico de la parálisis infantil, cuya forma propiamente epidemiológica no fué observada hasta fines del siglo XIX, por Medin. El conocimiento de la naturaleza infecciosa de esta enfermedad se debe a Strümpell, pero tal criterio no fué aceptado como indudable hasta estos últimos años. La contradicción aparente de este hecho con las experiencias anteriores, según las cuales la enfermedad parecía presentarse en casos aislados, sin conexión con otros y sin contagiosidad, se explica, en parte en ésta como en otras enfermedades infecciosas, porque con más frecuencia que los casos típicos aparecen las afecciones atípicas (Wickmann) sin manifestación notable de parálisis, y además, como resulta especialmente de las experiencias epidemiológicas de E. Muller, se explica también por la existencia de « portadores de gérmenes » sanos en las inmediaciones de los enfermos, que llevan el contagio a otras personas, sin que nadie se aperciba de ello.

Landsteiner y Popper han demostrado de una manera indudable el carácter infeccioso de esta enfermedad al lograr producir en los monos un cuadro clínico exactamente igual al del hombre, inoculándoles substancia cerebral o medular de niños muertos de poliomielitis. En relación con el conocimiento etiológico de las circunstancias en que se verifica la infección tiene particular importancia el hecho de que el contagio de los monos se consigue también a partir de la mucosa faringonasal de los enfermos. Como puerta de entrada natural ha de tenerse en cuenta, además de las vías respiratorias superiores, probablemente, el aparato digestivo.

El virus es filtrable y muere rápidamente a los 55°, siendo, en cambio, bastante resistente al frío y a la desecación. El cultivo del virus lo lograron Flexner y Noguchi, introduciendo pequeñas porciones de cerebro o médula espinal en tubos que contenían líquido ascítico mezclado con órganos de conejo y cubriendo la mezcla con parafina líquida. En preparaciones de estos cultivos anaerobios puede verse, empleando el método de Giemsa o el de tinción de flagelos de Löffler, unos corpúsculos dispuestos con frecuencia en parejas. Por inoculación de médula desecada o calentada cuidadosamente es posible la inmunización activa del mono. En la sangre del mono inmunizado, así como en la del hombre convaleciente, pueden comprobarse anticuerpos virulicidas.

6. Rabia

La rabia, llamada también hidrofobia, es una enfermedad muy extendida en muchas especies animales, especialmente entre las del género canis (perro, lobo, zorra, hiena y chacal), y su contagio tiene lugar por la inoculación de saliva del animal enfermo al morder a otros animales y al hombre. Esta enfermedad merece un interés especial porque ha sido la primera infección en la que fué posible alcanzar, por vía experimental, un método profiláctico y curativo.

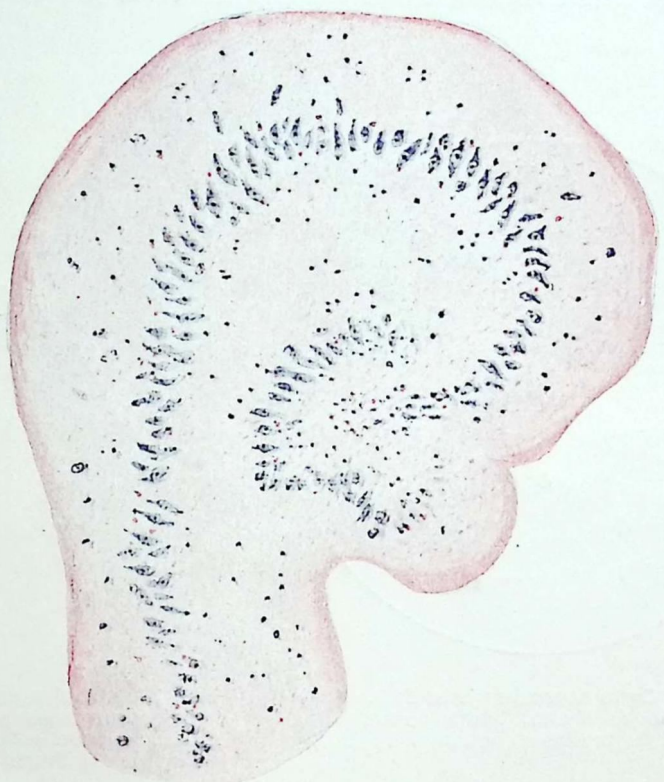


Fig. 203. Corte del asta de Ammon con corpúsculos de Negri. Coloración con azul de metileno y eosina (aumento 1 : 80)

El fundamento del estudio experimental de la rabia lo constituyen los trabajos de Louis Pasteur quien, en el año 1883, en unión de sus colaboradores Roux y Chamberland, pudo establecer que el virus de la rabia tiene su asiento en el sistema nervioso central del animal enfermo y que, en los conejos, aumenta la virulencia del virus por pasos continuados por animales de esta especie ; así como, que por procedimientos especiales, por ejemplo la desecación, puede el virus conservarse y atenuarse. El virus pasado por animales recibe el nombre de « virus fijo », y el primitivo, procedente de los animales naturalmente infectados se llama « virus de la calle ». Fundado en estos prin-

cipios, consiguió PASTEUR establecer su procedimiento de vacunación específica contra la rabia.

A pesar de la importancia práctica de este resultado, la naturaleza del germen de la rabia no ha sido aún aclarada por completo. Por investigaciones y estudios posteriores, se ha comprobado que las diferentes formas descritas por distintos autores como gérmenes de la enfermedad (protozoarios, bacterias y blastomicetos), sólo eran elementos secundarios sin importancia o productos artifi-

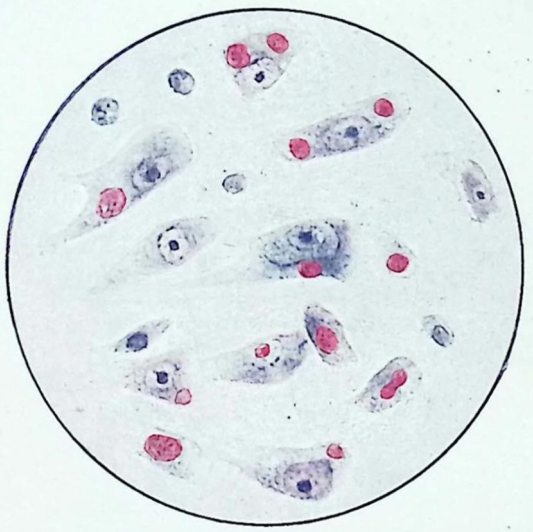


FIG. 204. Corte de cerebro (asta de AMMON). Corpúsculos de NEGRI. Coloración con eosina y azul de metileno (aumento 1 : 500)



FIG. 205. Células ganglionares con corpúsculos de NEGRI. Coloración con eosina y azul de metileno (aumento 1 : 1000)

ciales, que nada tenían que ver con la etiología de la enfermedad. En el año 1903, describió NEGRI unas producciones específicas en forma de pequeños corpúsculos redondeados, que sólo se encuentran en las células ganglionares de los animales enfermos de rabia ; especialmente, en el asta de AMMON, aparecen con gran regularidad en más del 90 % de los casos, circunstancia que ha hecho posible establecer rápidamente el diagnóstico de rabia por el análisis microscópico. Su tamaño varía entre 1 y 27 μ, siendo por término medio el de 5 μ. En el interior de estas formaciones se observan otros corpúsculos más pequeños, que al parecer constan de dos partes, una central y otra periférica rodeadas de una doble membrana. Su tamaño varía mucho y su número varía entre 2 a 4 en las células ganglionares pequeñas y de 20 a 30 en las grandes.

Lo más práctico para obtener preparaciones de los corpúsculos de NEGRI, es proceder con arreglo al siguiente método, debido a LENTZ:

Se toman pequeños trocitos del centro del asta de AMMON, que no excedan de 1 mm., y se fijan por el procedimiento rápido de HENKE y ZELLER (de media a tres cuartos de hora en acetona anhidra). Inclúyanse en parafina, cuyo punto de fusión sea de 55° a 60°, durante una a una hora y cuarto. Los cortes, tan finos como sea posible, se fijan en el portaobjetos, se les quita la parafina con xilol y se lavan con alcohol absoluto.

Tíñanse durante un minuto con solución de eosina extra B de HÖCHST al 0'5 % en alcohol de 60°.

Lávense con agua destilada.

Vuélvanse a teñir durante un minuto con azul de metileno de LÖFFLER (agua destilada 100, c. c. solución de potasa cáustica al 10 %, 0'1 c. c., y solución alcohólica saturada de azul de metileno B de HOCHST, 30 c. c.). Lávense nuevamente con agua destilada y séquense con papel de filtro. Para diferenciar, se tratan las preparaciones con alcohol absoluto débilmente alcalino hasta que aparezca un débil tono rosa ; debe usarse un alcohol de 100° completamente anhidro, que se obtiene tratando el alcohol absoluto del comercio (que siempre contiene algo de agua) con sulfato de cobre blanco, o sea libre de su agua de cristalización por el calor. A 30 c. c. del alcohol anhidro se añaden V gotas de solución de sosa al 1 % preparada con el mismo alcohol, y de este modo obtendremos el alcohol anhidro alcalino que debemos emplear.

Debe hacerse aún una nueva diferenciación con alcohol absoluto débilmente ácido hasta que las hileras de células ganglionares sean visibles como líneas débilmente azuladas. Para preparar el alcohol absoluto ácido se procede como para el alcalino, pero en lugar de sosa se añade a cada 30 c. c. de alcohol I gota de solución alcohólica de ácido acético al 50 %.

Finalmente las preparaciones se lavan rápidamente con alcohol absoluto y xilol y se montan en balsamo del Canadá.

La comprobación de los corpúsculos de NEGRI ofrece una importancia decisiva para el diagnóstico, puesto que únicamente se hallan en el encéfalo y en la médula espinal de los atacados de rabia. De aquí que para la investigación práctica de la rabia tiene singular interés la comprobación de estos corpúsculos, pues hace innecesario el ensayo en animales. Por esto, en todos los Institutos antirrábicos, la inoculación al conejo con el material sospechoso, que antes se practicaba sistemáticamente, sólo se practica ahora cuando el examen microscópico da resultado negativo.

Acerca la naturaleza de los corpúsculos de NEGRI, nada se sabe de cierto todavía ; NEGRI los consideró como gérmenes de la rabia y como protozoarios, pero en contra de esta opinión está el hecho de que el virus rábico atraviesa los filtros impermeables a las bacterias, mientras que dichos corpúsculos, dado su tamaño, no pueden atravesarlos. Así, pues, o los corpúsculos de NEGRI no son la única forma del germen, y sólo representan una fase de su ciclo evolutivo, o bien nada tienen que ver con el germen en sí, siendo únicamente un producto de reacción de las células atacadas. Desde luego, está comprobado que el germen de la rabia existe fuera de los corpúsculos de NEGRI, y esto está de acuerdo con el hecho de que la rabia puede inocularse experimentalmente utilizando partes del sistema nervioso central en las que no se ha logrado comprobar la existencia de dichos corpúsculos.

La propiedad del virus rábico de ser filtrable tiene también gran importancia práctica, porque, merced a ello, puede llegar a comprobarse el virus en las masas encefálicas en putrefacción avanzada, ya que los gérmenes de esta última quedan eliminados por el filtraje.

El virus rábico tiene marcada preferencia por el sistema nervioso central, encontrándose además, en la saliva y en las glándulas salivales. En algunas ocasiones, se ha comprobado también su existencia en las cápsulas suprarrenales, en las glándulas lagrimales, en el humor vítreo, en la orina, en la secreción testicular, en la linfa y en la leche. No está perfectamente establecido si se halla también en la sangre. Es de gran importancia el hecho de que el virus puede mantenerse vivo, duranse largo tiempo, en el punto de la infección, por ejemplo, en la cicatriz de una mordedura.

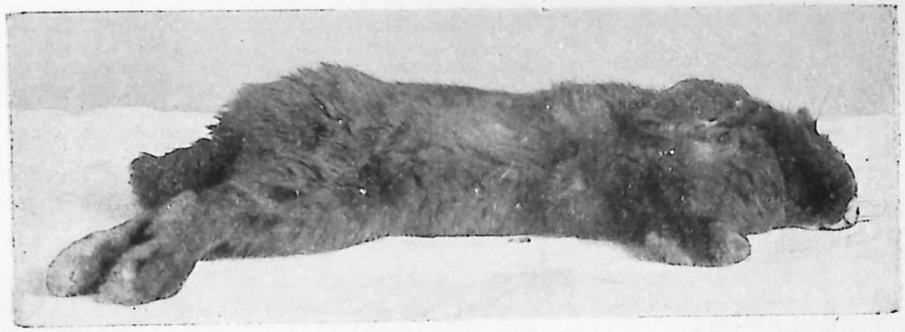


FIG. 206. Rabia en el conejo. Parálisis de las cuatro extremidades

Se admite, generalmente, que el virus se extiende en el organismo por el sistema nervioso. Desde este punto de vista, se parece mucho a la toxina tetánica. Todo lo que demuestra el transporte de ésta por los nervios sirve también para demostrar que el virus rábico se propaga siguiendo las mismas vías. En primer lugar, es fácil producir la rabia por inyección en un tronco nervioso, y así como en el tétanos se observan los primeros síntomas de contractura en la zona del nervio inyectado, también en la rabia aparecen las primeras manifestaciones de parálisis en el lugar de la inyección. Si se inocula, por ejemplo, en el nervio ciático, puede observarse el avance lento del virus, de tal modo, que la porción lumbar de la médula es virulenta antes que la dorsal, y ésta antes que el bulbo. Si después de la inoculación de un nervio periférico se corta éste en su origen central, la infección no se generaliza. Lo mismo puede observarse si se secciona la médula después de la inoculación periférica. Correspondiendo a esta manera de propagarse el virus, las lesiones anatómicas más graves se observan siempre en el segmento del sistema nervioso central correspondiente a la zona herida del organismo. En los casos muy agudos, el virus se encuentra únicamente en los nervios del lado herido; en los nervios correspondientes a la otra mitad del organismo, no se halla hasta que el proceso está muy avanzado. Si se inocula el virus en la cavidad peritoneal, con lo que se evita lesionar troncos nerviosos de importancia, pueden inyectarse grandes dosis sin llegar a producir la enfermedad. Esta tendencia del virus a extenderse por los nervios, explica también el hecho de que la sangre se haya hallado siempre avirulenta. De igual modo que en el tétanos, el largo período de incubación corresponde a la duración de la propagación por los nervios, porque la incubación es tanto más larga cuanto más alejado de la médula se halle el punto de la infección; por eso, la mordedura de animales rabiosos en la cara produce generalmente, una infección particularmente rápida.

La rabia puede producirse experimentalmente en todos los mamíferos y en las gallinas. El conejo es el animal de laboratorio más empleado. Los síntomas de la rabia experimental corresponden a los de la rabia natural, aunque en los conejos se observa, casi exclusivamente, el síndrome de la rabia paralítica, especialmente

con la inoculación del virus fijo. En el conejo, el período de incubación, en la inoculación subdural, es casi siempre el mismo; oscilando entre dos a tres semanas. Por lo demás, la duración del período de incubación depende mucho de la vía de infección. Por la infección de una herida de la piel ha llegado a observarse un período de incubación hasta de trescientos trece días. Por lo general, aparecen primeramente ligeras elevaciones febriles, luego se presenta parálisis, el animal ofrece una marcha vacilante, a veces siguen también esta-

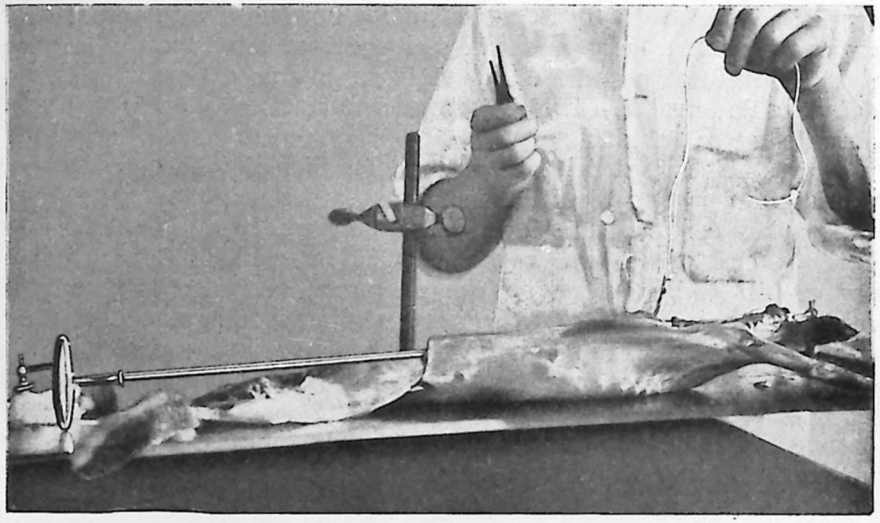


FIG. 207. Extracción de la médula espinal de un conejo inoculado de rabia

dos de excitación acompañados de contractura de los maxilares y ataques de rabia, ocurriendo la muerte al cabo de cuatro a cinco días. Después de la inoculación con virus fijo, la duración de la enfermedad en sí se reduce a tres días.

Para producir experimentalmente la rabia pueden seguirse diversas vías de inoculación. La inyección subcutánea es incierta. Es segura, en cambio, la inyección intramuscular en la espalda, siempre que se inocule una gran cantidad de virus. De absoluta seguridad es la inyección intraocular, que consiste en inyectar el producto sospechoso en la cámara anterior del ojo, pero este procedimiento no es aplicable con material en putrefacción. La mejor y más empleada es la inyección subdural, es decir, la inoculación bajo la duramadre del cerebro o de la médula, o la inyección directa en la masa encefálica. La inoculación en el nervio óptico no ofrece ninguna ventaja técnica especial.

Hemos dicho ya anteriormente que la inoculación en conejos aumenta la virulencia del «virus de la calle» primitivo, en forma tal, que por inyección subdural los animales mueren después de un período de incubación de seis días, en lugar de las dos o tres semanas que pri-

meramente transcurrían. En sorprendente contraste con este aumento de virulencia en el conejo, está el hecho, repetidas veces observado, de que aun el virus fijo reciente es inofensivo para el hombre en inyección subcutánea. El virus primitivo «de la calle» experimenta, por consiguiente, al pasar por los conejos, una alteración biológica en el sentido de que el nuevo virus fijo es inofensivo para el hombre, hecho análogo a lo que sucede con la viruela transformada en vacuna por el paso de la viruela humana a través de la ternera.

La mayoría de los desinfectantes usuales, a las concentraciones corrientes, destruyen el virus rábico. Es notable a este respecto su gran resistencia a las temperaturas elevadas y, sobre todo, a la glicerina. Esta última propiedad es, quizá, un indicio del carácter animal del virus de la rabia. En la glicerina se mantiene vivo y virulento durante meses enteros.

Para la práctica del diagnóstico microbiológico de la rabia y su vacunación específica, existen en Alemania dos Institutos: la Sección antirrábica del Instituto Koch para enfermedades infecciosas, de Berlín, y el Instituto de Higiene de la Universidad de Breslau. Siempre que exista la sospecha de que un animal está afecto de rabia, se enviará el cuerpo muerto del mismo, o sólo su cabeza, a uno de los citados centros, a fin de proceder a la debida investigación, y en los casos humanos, deberá remitirse el cerebro conservado en glicerina. En los mismos Institutos se trata gratuitamente a las personas mordidas, o sospechosas de rabia por haber tenido contacto con la saliva de un perro atacado de hidrofobia. El tratamiento, en conjunto, dura unas tres semanas.

Tifus exantemático

El tifus exantemático, que en los últimos veinte años anteriores a la guerra había desaparecido o poco menos de Alemania, pues sólo se observaba en casos importados casi siempre de Rusia, ha recobrado su importancia para el médico práctico a causa de las circunstancias derivadas de la guerra. En el Este y Sudeste de Europa (Rusia, Galitzia y países Balkánicos) la enfermedad es endémica y está muy extendida. Si el ejército alemán y la población civil han sido respetados hasta cierto punto por la epidemia, a pesar de las numerosas relaciones establecidas con el avance de nuestros ejércitos en los países infectados, y con el transporte a retaguardia de gran número de prisioneros, débese todo ello, en primer término, a la feliz circunstancia de que precisamente en los últimos años anteriores a la guerra se habían descubierto las condiciones por las cuales se verifica el contagio del tifus, y este conocimiento fué utilizado para combatirlo de una manera lógica. De antiguo es conocida la extraordinaria contagiosidad del tifus exantemático, que se consideraba como una de las epidemias más terribles de la guerra; pero se creía, erróneamente, que el contagio se verificaba, como en los exantemas agudos, por contacto directo de hombre a hombre o por intermedio del aire.

El conocimiento exacto del mecanismo del contagio en el tifus exantemático, se tuvo después que Nicolle consiguió producir experimentalmente la enfermedad en el mono por inoculación de sangre del hombre enfermo. Nicolle descubrió, al mismo tiempo, la vía por

la cual, en circunstancias naturales, se verifica la transmisión de un hombre a otro del virus contenido en la sangre; esto sucede exclusivamente por la picadura del piojo del vestido. Esta conclusión fundamental de Nicolle ha sido confirmada después por numerosos investigadores. El piojo no se limita simplemente a transmitir el agente patógeno, sino que éste se multiplica en aquél de un modo extraordinario, hasta su completo desarrollo. Cualquiera de estos parásitos que haya chupado sangre de un enfermo no puede trasmitir el virus a un hombre sano o a un animal hasta cuatro a cinco días más tarde.

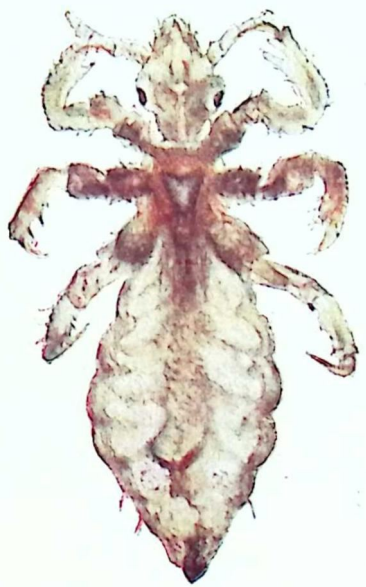


Fig. 208. *Pediculus vestimenti.* Piojo (tifus exantemático) (aumento 1 : 20)

Todos los esfuerzos realizados para descubrir en el organismo humano el germen del tifus exantemático han fracasado hasta la fecha. Las distintas bacterias o formas semejantes a protozoarios encontradas por diversos autores, no han resistido a la crítica. En los casos de bacterias se trataba, indudablemente, de infecciones mixtas o secundarias, y los presuntos protozoarios sólo eran productos de la degeneración de los glóbulos sanguíneos o de las células de los tejidos.

En estas circunstancias era natural buscar el germen en el piojo, pues, como hemos dicho, debía encontrarse en él en gran número. En efecto, Ricketts y Wilder, en Méjico, el año 1910, Prowazek, en Servia, en 1913, y Sergent, Foley y Vialatte, en Túnez, en 1914, habían encontrado ya en frotis de piojos infectados de tifus, grandes masas de formas muy pequeñas semejantes a diplococos o diplobacilos, visibles solamente con la coloración de Giemsa, pero cuyo cultivo no pudieron conseguir. Rocha-Lima y Topfer, merced a sus estudios en los campos de prisioneros rusos durante la guerra, demostraron que estas formas encontradas en el piojo representan realmente el germen del tifus exantemático. El contenido de estas formas en el piojo y el grado de infecciosidad de este parásito respecto de los animales de laboratorio (cobayo), guardan constantemente estrecha relación. Alguna vez, aunque rara, han podido comprobarse formas semejantes, en piojos que no han tenido contacto con enfermos de tifus exantemático, por lo cual es de importancia fundamental para la significación etiológica de las formas microscópicas contenidas en el organismo de piojos infectados, tener en cuenta su ciclo de desarrollo en este insecto, tal como lo ha descrito Rocha-Lima. Este bacteriólogo dió al germen

el nombre de «*Rickettsia-Prowazeki*», en honor de los dos investigadores muertos de tifus exantemático. El germen es un parásito específico de las células epiteliales del aparato digestivo del piojo, dentro de las cuales se multiplica de una manera tan extraordinaria, que da lugar a que estas células aumentan considerablemente de tamaño, y acaban por estallar vaciando su contenido en el conducto

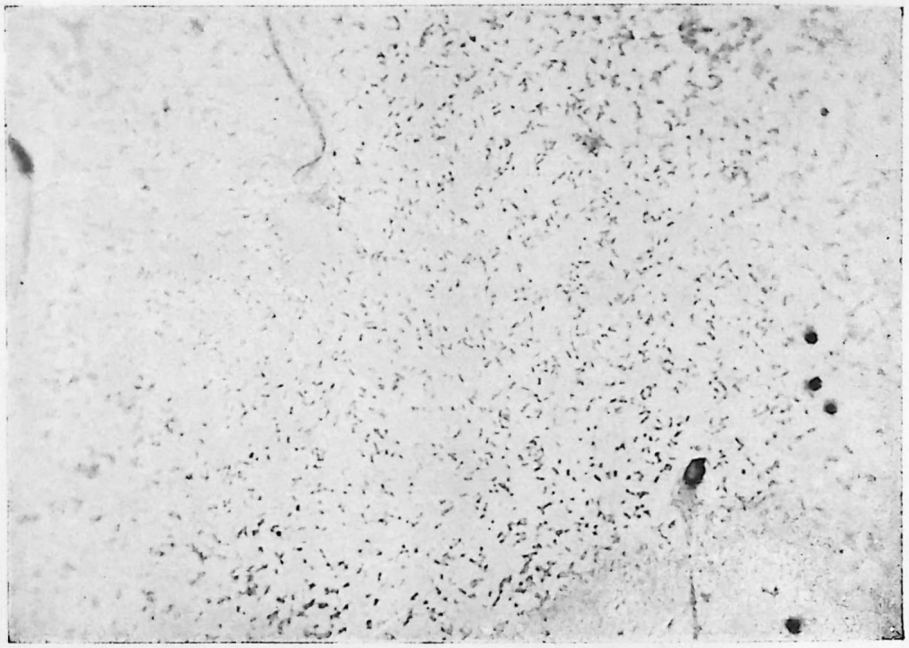
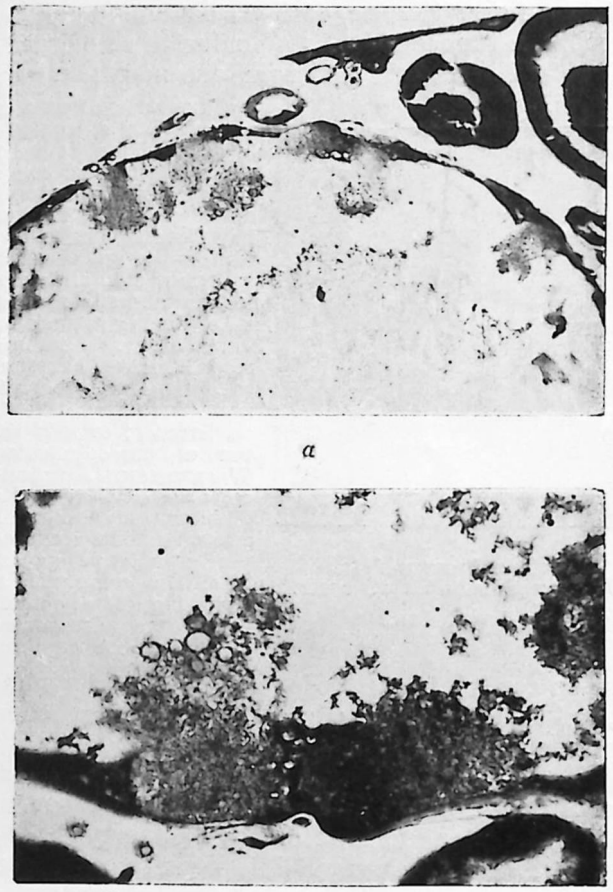


FIG. 209. *Rickettsia-Prowazeki*. Frotis de un piojo infectado. Original de ROCHA-LIMA (aumento 1 : 1000)

intestinal del insecto. También ha podido ser comprobado directamente el germen en las glándulas salivares del piojo, desde las cuales pasa al hombre en el momento de la picadura. Muy recientemente, la experiencia debida a OTTO de que el suero de enfermos de tifus exantemático aglutina claramente los *rickettsia* obtenidos de piojos infectados, ha sido una nueva comprobación de su significado etiológico.

Si bien es grande la importancia de estos descubrimientos para la investigación etiológica del tifus exantemático, a su aprovechamiento práctico en gran escala, se opone, por el momento, la técnica complicada de los métodos de examen que se requieren. La comprobación en frotis de gérmenes de piojos, relativamente fácil de obtener con la coloración de GIEMSA prolongada, no es suficiente para diagnosticar el tifus, pues, como ya hemos dicho anteriormente, pueden observarse también formas semejantes en piojos no infectados. De gran importancia práctica para el diagnóstico de esta infección es la aglutinación de

WEIL-FELIX, repetidamente experimentada en los dos últimos años, y cuya técnica es exactamente igual a la reacción de WIDAL. La aglutinación, valiéndose del suero del enfermo, se verifica con la raza de *proteus* X_{19}, obtenida por los autores mencionados mediante el cultivo



a

b

FIG. 210. Pared del aparato digestivo de un piojo infectado de tifus exantemático. *a*, con débil aumento. *b*, con aumento de 1 : 1000. (Células epiteliales muy infectadas y rotas.) Original de ROCHA-LIMA

de la orina de enfermos de tifus exantemático. Desde luego no se trata de una sero-reacción específica, como las del cólera, fiebre tifoidea, disentería y otras infecciones, porque el *proteus* X_{19} etiológicamente nada tiene que ver con el tifus exantemático. Hay otras razas de este *proteus*, por ejemplo, la X_2, que se aglutinan también con el suero de enfermos de tifus exantemático, aunque en mucho menor grado. Así, pues, si bien es cierto que se trata de una reacción no específica, cuya teoría no está explicada aún, ello no es obstáculo para su aplicación

práctica. La reacción se ejecuta de manera exactamente igual a la de WIDAL en la fiebre tifoidea. En los dos últimos años, su valor práctico ha sido comprobado en distintos países por diversos investigadores, y en una dilución de suero de 1 : 50 hasta 1 : 100, hace muy probable el diagnóstico de tifus exantemático. Es importante excluir la posibilidad de fiebre tifoidea, fácil de confundir por la semejanza clínica de ambas enfermedades. Esta confusión se evitará por medio de la reacción de WIDAL, que dará resultado negativo.

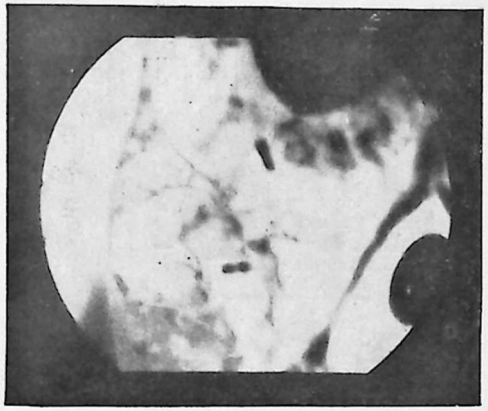


FIG. 211. *Rickettsia Prowazeki* (aumento 1 : 3000). Preparación de un corte. Original de ROCHA-LIMA

Los ensayos para conseguir una sero-reacción específica utilizable en la práctica, ya sea por precipitación o por fijación del complemento entre el suero del enfermo y un extracto de sangre o de órganos específico, han fracasado hasta hoy. Es importante saber que la reacción de WASSERMANN con antígeno sifilítico da incidentalmente resultado positivo en el tifus exantemático, sobre todo inmediatamente después de desaparecer la fiebre ; el resultado positivo se obtiene, en general, empleando suero humano activo (modificación de STERN) ; es más raro obtenerlo por el procedimiento original de WASSERMANN. Asimismo, el suero de enfermos de tifus y el de sifilíticos, diluídos con agua destilada, dan un enturbiamiento a consecuencia de la precipitación de globulinas. Tanto en el tifus, como en la sífilis, la proporción anormal de globulinas y lipoides se explica por lesiones de las paredes de los capilares arteriales.

En relación con lo que antecede, está fundado un método de investigación, aplicable en la práctica del serodiagnóstico del tifus, no microbiológico, sino anatomopatológico, que consiste en comprobar las alteraciones características de los capilares arteriales, alteraciones descritas por E. FRAENKEL, que están constituídas por un engrosamiento y necrosis del endotelio, trombos hialinos y focos de infiltración en la cara exterior del vaso. Este examen puede ser realizado fácilmente por cualquier investigador práctico en anatomía patológica en trozos de piel procedentes de las roseolas del tifus exantemático.

Apéndice

A manera de apéndice, describiremos brevemente los gérmenes de algunas enfermedades infecciosas del hombre producidas por vermes, pues, aunque sólo ofrecen una relación de dependencia aparente con lo tratado en esta obra, éstas, a diferencia de las otras enfermedades causadas por vermes, que aparecen en forma esporádica, se presentan a veces en forma epidémica y, además, porque para la investigación de sus agentes causales se emplean los métodos comúnmente

empleados en microparasitología. Respecto de los métodos serológicos (fijación del complemento), utilizados para diagnosticar las afecciones de equinococos, véase la Parte general, pág. 113.

1. Anquilostoma duodenal

El anquilostoma duodenal, descubierto en el año 1838 por DUBINI en Italia, y estudiado más tarde especialmente por BILHARZ y GRIESINGER en Egipto, es el germen de una enfermedad caracterizada por graves síntomas de anemia, muy extendida sobre todo en los países cálidos, pero que también puede observarse con carácter epidémico en el centro de Europa, cuando concurren las circunstancias requeridas para el desarrollo del verme, circunstancias que describiremos más adelante. Epidemias de esta clase se observaron al construirse el túnel del San Gotardo y al principio de este siglo, entre los mineros de los distritos industriales del Rhin y Westfalia, en donde adquirió esta infección grandes proporciones, pero que, gracias a las medidas tomadas, ha retrocedido considerablemente. La anemia se produce, en parte, directamente, por las numerosas lesiones causadas por el verme en la mucosa intestinal, y, en parte también, por los productos tóxicos de su metabolismo.

El germen pertenece a los nematodes y debe su nombre de «Hakenwurm», *verme de ganchos*, por tener en su aparato bucal, cuyo borde es córneo, cuatro grandes dientes en forma de ganchos, además de otros dos pequeños. Los dos sexos se diferencian claramente en que el extremo posterior del macho termina en una bolsa copulatriz provista de tres lóbulos que abrazan a la hembra en el acto de la cópula, mientras que el extremo posterior de la hembra es romo ; en la hembra, la vulva está detrás del centro del cuerpo. El macho tiene de 8 a 12 mm. de largo por 0'5 a 0'7 mm. de ancho. En la autopsia los vermes adultos se encuentran en grandes masas adheridos a la mucosa del intestino y en las heces. Sin embargo, lo más importante para el diagnóstico es la comprobación de los huevos, que, generalmente, se encuentran en grandes masas en las heces, y tienen una forma característica que no cabe confundir con otros productos existentes en las mismas. Los huevos miden 55 a 60 μ de longitud por 35 a 40 μ de anchura ; son ovalados, con los polos anchos y poseen una delgada cubierta incolora, que vista a 300 diámetros, aparece como un sencillo contorno y un contenido finamente granuloso, que se divide en varias esferas vitelinas (de 2 a 8; generalmente 4), separado de la cubierta por un espacio intermedio. Para la práctica del diagnóstico, téngase en cuenta que las heces recientes sólo contienen huevos, pero no larvas. El desarrollo de los huevos se verifica a una temperatura superior a 20° (la más favorable es de 25° a 30°) con humedad suficiente, a cubierto de la luz solar y con acceso del aire. Estas condiciones durante el día, sólo se reunen en nuestras latitudes en ciertas ramas de la industria minera.

El desarrollo se consigue también artificialmente, para lo cual indica Looss el procedimiento siguiente: una porción de excremento se mezcla con una cantidad igual de carbón animal (carbón de huesos) y un poco de agua pura; de todo ello se hace una papilla en una placa de Petri, y se guarda la mezcla cinco o seis días a la temperatura de 25° a 30°. Se riega toda la masa con agua y se aguarda a que la desecación vaya formando grietas llenas de agua en las cuales se reúnen las larvas; también en agar al 1 %, sin añadir otras substancias, se puede observar en cámara húmeda el desarrollo de las larvas de una manera semejante a la anterior, según un procedimiento debido a Wasielewski, Nissle y Wagner. Dos fases diferentes hay que distinguir en el desarrollo de las larvas; primero la larva recién salida del huevo, que tiene unos 0'2 mm. de longitud, y en pocos días llega a tener 0'8 mm.; estas larvas, muy semejantes a las del *anguilula intestinalis*, se distinguen por una característica, que consiste en que su cavidad bucal, que está recubierta por una membrana muy refringente, presenta una forma cilíndrica alargada, con un ligero ensanchamiento en forma de botón en la parte posterior (Looss) (1); esta larva, no desarrollada todavía, no puede infectar al hombre, porque, lo mismo que el huevo, muere en su estómago cuando penetra en él. Más tarde se continúa su desarrollo mudando dos veces de cubierta. En la segunda muda, la cubierta permanece envolviendo el cuerpo de la larva. En esta fase es ya capaz de infectar al hombre, y puede sostenerse durante meses en el agua y sobre todo en el fango, sin más alimentación. Tal estado se ha llamado erróneamente de « enquistamiento ».

La infección con estas larvas, según se ha comprobado por experiencias directas, se verifica por dos vías; pueden penetrar por la boca (Leichstentern) o a través de la piel, para llegar luego, por las vías sanguínea y linfática, a los pulmones, desde donde, atravesando las paredes de los alvéolos, ascienden por las vías respiratorias, y así llegan al esófago, y por último, al intestino delgado. Los primeros huevos se observan en las heces de siete a diez semanas después de la infección de la piel. Esta modalidad del contagio, a través de la piel sana, comprobada por Looss de una manera indudable, está de acuerdo en absoluto con las circunstancias epidemiológicas, y probablemente es más frecuente que la infección por la boca.

Para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad es importante tener en cuenta que muchas personas pueden tener los vermes sin presentar síntomas perceptibles de la enfermedad. Estos « portadores de vermes », análogos a los portadores de gérmenes de otras enfermedades infecciosas, sólo pueden ser descubiertos por el análisis microscópico de las heces, mediante el cual puede demostrarse la existencia de los huevos del anquilostoma. De la misma manera se descubren los enfermos leves. Este análisis es el auxiliar

(1) Menses : *Handbuch der Tropenkrankheiten*, 2 Aufl. Bd. I, pág. 400.

más valioso para combatir la enfermedad, y su utilidad ha quedado bien probada desde su aplicación metódica realizada en gran escala por el Instituto dirigido por Bruns, en Gelsenkirchen, donde se han realizado millares de análisis de heces de los habitantes de las comarcas industriales del Rhin y de Westfalia. Este examen sirve especialmente para comprobar si el tratamiento ha sido lo suficientemente eficaz para obtener una curación definitiva; a este fin, es necesario repetir varias veces el examen cuatro semanas después de haber terminado el tratamiento.

El análisis puede verificarse directamente haciendo una serie de preparaciones de heces, con lo cual, los huevos, si existen, se descubren en un 40 % de los casos. Telemann ha indicado un procedimiento que da un 55 % de resultados positivos; consiste en mezclar íntimamente las heces con una mezcla, a partes iguales, de éter y ácido clorhídrico, luego se centrifuga y se investiga los huevos en el sedimento. El procedimiento de cultivo debido a Looss (véase anteriormente), es, con seguridad, superior a los anteriores para la comprobación microscópica de los huevos, porque nos da casi siempre el diagnóstico, y a él debe recurrirse cuando no dé resultado el examen directo. También el análisis de la sangre proporciona, por lo menos, ciertos indicios, puesto que, cuando existe anquilostomiasis, se observa un aumento considerable de células eosinófilas, pero, hay que tener en cuenta, que esta circunstancia se presenta también después de pasada la enfermedad y en otras infecciones causadas por otros parásitos. En todo caso, el resultado del examen hematológico representa sólo un indicio, pues la prueba definitiva sólo se obtiene con la comprobación microscópica del germen.

2. Trichinella spiralis (Triquina)

También pertenece a los nematodes el germen de la triquinosis del hombre y de los animales, la *trichinella spiralis*, descubierta por Owen en el año 1835, y cuyo proceso de desarrollo fué estudiado más tarde por Leukart.

Antes de la inspección obligatoria de las carnes la triquinosis ocasionó numerosas víctimas en Alemania; y aun hoy todavía es quizá allí relativamente más frecuente esta enfermedad que en otros países, debido al censurable hábito de comer en abundancia carne de cerdo cruda en forma de jamón o de embutidos, aunque la carne contaminada de triquina, hervida o insuficientemente ahumada, puede también producir la triquinosis.

La *trichinella spiralis* vive y adquiere pleno desarrollo sexual en el intestino como triquina intestinal; sus larvas, en cambio, viven en los músculos estriados del mismo huésped como triquina muscular. La triquina intestinal es un verme redondo, filiforme y ligeramente encorvado. El macho tiene de 1'2 a 1'6 mm. de largo por 0'04 mm. de grueso; la hembra unos 3 mm. de largo y 0'03 a 0'06 mm. de grueso.

El macho presenta, en el extremo de la cola, dos trenzas cónicas, entre las cuales son visibles cuatro pequeñas papilas, careciendo de *spiculum*. La vulva se halla en el tercio anterior del cuerpo.

Los vermes viven en el intestino delgado. Los individuos en pleno desarrollo mueren después del nacimiento de la descendencia (cinco a siete semanas). La longitud de las larvas es, en un principio, de 0'1 mm. y la anchura de 0'006 mm.

Como origen de infección de la triquina deben tenerse en cuenta, además de los cerdos, las ratas, que enferman al comer excrementos o cadáveres de otras ratas, contaminados con triquina. Por devorar ratas triquinosas pueden adquirir la enfermedad el cerdo, el perro o el gato. El hombre puede adquirir la triquinosis por comer carne de cerdo insuficientemente hervida o poco ahumada.

Cuando una persona ingiere carne contaminada de triquina, el ácido clorhídrico del estómago disuelve las cápsulas, y las triquinas una vez libres se instalan en el duodeno y el yeyuno, adquiriendo un completo desarrollo y transformándose en triquinas intestinales. A los pocos días se verifica la copulación, poco después de la cual el macho muere, en tanto que las hembras penetran en la pared intestinal y se establecen en ella para poner su descendencia (hasta 1500 individuos una sola hembra) en los vasos linfáticos de la pared intestinal. Desde ellos, por el intermedio del sistema linfático, pasan al torrente circulatorio y, finalmente, a los músculos estriados del esqueleto y de la parte superior del aparato digestivo. Las triquinas se localizan preferentemente en los músculos del diafragma, del pecho, del abdomen, del cuello, de la laringe, de la cara y de los ojos. No se localizan en la musculatura del corazón.

En los haces musculares primitivos, las formas jóvenes se transforman a los catorce días en triquina muscular, la cual se arrolla en espiral en un plazo de cinco semanas y se rodea poco a poco de una cápsula. Una vez enquistadas, las triquinas musculares pueden mantenerse capaces de desarrollo hasta once años; el quiste se halla situado siempre en el sentido longitudinal de las fibras musculares.

La comprobación de triquinas en la sangre y en los músculos sirve para establecer con seguridad el diagnóstico de la enfermedad. El método de Staubli es el más práctico para su comprobación en la sangre. Para ello se toma unos centímetros cúbicos de ésta, y se mezclan, para evitar la coagulación y disolver los eritrocitos, con gran cantidad de ácido acético al 3 %; la mezcla se centrifuga y el sedimento se examina al microscopio. En los frotis de sangre coloreados se observa generalmente un aumento considerable de leucocitos eosinófilos, así como una intensa leucocitosis general. El momento más apropiado para el examen de la sangre es de los quince a los veintitrés días posteriores a la infección. El método más seguro para el diagnóstico de triquinosis consiste en la comprobación de las triquinas en el tejido muscular, del cual, precisamente de las partes más dolorosas y singularmente de la porción próxima al tendón del bíceps, se cortan pequeños trozos a lo largo de la fibras, se separan éstas, se las aclara con ácido acético y se examinan con 80 a 100 diámetros de aumento. Este examen no debería omitirse en cualquier caso de « reumatismo muscular febril » de etiología mal definida. Para el diagnóstico diferencial de la triquinosis humana ha de tenerse en cuenta, en primer

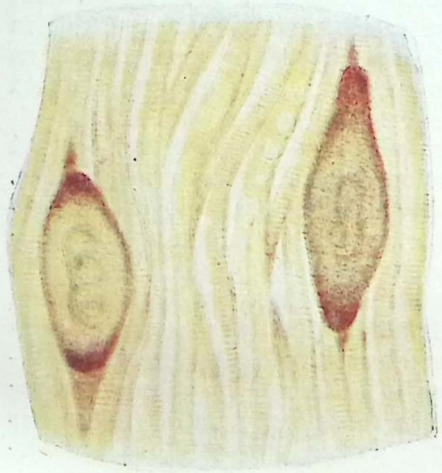


Fig. 212. Triquinas calcificadas. Músculo (aumento 1 : 80)



Fig. 213. Triquinas musculares enquistadas (aumento 1 : 80)

término, la fiebre tifoidea, respecto a la cual, el examen de la sangre decidirá casi siempre en uno u otro sentido, porque la proporción de leucocitos y especialmente de eosinófilos es completamente opuesta en cada caso.

El régimen de inspección obligatoria de las carnes que desde 1877 rige en los mataderos de Prusia, ha contribuído, en gran parte, a combatir la triquinosis. La inspección se verifica de la manera siguiente: de las regiones en que asienta de preferencia la triquina se cortan con tijeras curvas unas fajas musculares de 5 a 6 cm. de longitud por 2-5 cm. de anchura, de las cuales se obtienen cortes de 0'5 cm. de ancho por 1 cm. de largo, que se aplastan entre dos cristales resistentes hasta hacerlos transparentes; luego se disocian

añadiendo agua y se examinan a 80 a 100 diámetros de aumento. La carne de cerdo contaminada con triquina, de ningún modo debe ser consumida por el hombre ni por los animales.

3. Filarias

Las filarias son vermes delgados filiformes (nematodes) que en estado de pleno desarrollo pueden vivir, como parásitos del hombre, en el tejido celular subcutáneo, debajo de la conjuntiva y en el sistema linfático, mientras que sus larvas (microfilarias) circulan por la sangre del portador. Las larvas de la *filaria Bancrofti* se encuentran también en la orina en los casos de quiluria. El desarrollo y el contagio de estas larvas se realiza por intermedio de insectos chupópteros (tábanos y mosquitos). Las enfermedades causadas por filarias pertenecen exclusivamente a las zonas tropical y subtropical, aunque también se observan en Europa casos importados a causa de la larga duración del padecimiento. Es muy frecuente que personas en cuya sangre existen microfilarias no presenten, sin embargo, síntoma alguno de enfermedad.

Para el fin que nos proponemos alcanzar en este libro, bastará exponer los métodos de comprobación de las filarias en la sangre, remitiendo al lector a los textos especiales de parasitología respecto de la descripción de los vermes adultos, cuya biología aun no se conoce por completo. La característica más sorprendente y que llamó más la atención desde las primeras investigaciones de la sangre, es la relación entre la presencia de filarias y la hora del día, pues la especie más frecuente sólo aparece por la noche ; hay otra que se presenta únicamente durante el día, y otra que lo mismo puede observarse de noche que de día. Por razón de este retorno regular, los gérmenes se clasifican en *microfilaria nocturna, diurna* y *perstans*. Estas circunstancias, cuyas causas fisiológicas son desconocidas, no corresponden siempre a una diferenciación estricta de las especies, porque el turno no se guarda siempre regularmente y, por otra parte, alterando el método de vida del portador, haciéndole dormir de día y velar de noche, se puede también, en la *filaria Bancrofti*, cambiar el turno de aparición. La diferenciación estricta de las especies se obtiene por los caracteres morfológicos y por la correspondencia de determinadas formas de larvas con una de las especies de vermes.

La filaria nocturna es la larva de la *filaria Bancrofti*, que en su forma adulta asienta en el tejido celular subcutáneo y es causa de tumoraciones, elefantíasis y quiluria.

La filaria diurna es la larva de la *filaria loa*, que vive también en el tejido celular subcutáneo y, con más frecuencia, debajo de la conjuntiva, distinguiéndose por sus frecuentes emigraciones de un sitio a otro.

Las dos filarias nombradas se distinguen de las otras dos, que describiremos más adelante, por su tamaño más considerable,

de unos 0'3 mm. de longitud por unas 7 μ de anchura, así como por la presencia de una cubierta que rodea el verme y que en preparaciones coloreadas, es bien visible, sobre todo en los dos extremos del cuerpo. Ambas especies se distinguen una de otra, además de detalles de estructura, que podemos pasar por alto, porque, principalmente, la *filaria Bancrofti* apareçe con ondulaciones redondeadas, que en la *filaria loa* son irregulares.

La *filaria perstans* puede pertenecer a una de las dos especies siguientes, la *filaria perstans* y la *filaria Demarquay*, cuyo estudio no es completo aún. Los vermes adultos de estas especies se encuentran en el tejido conjuntivo retroperitoneal del hombre ; sus filarias se distinguen de las filarias diurna y nocturna, por su menor tamaño y por la falta de cubierta.

Respecto de las reglas técnicas para la comprobación de las filarias en la sangre, diremos lo siguiente. En primer término, es recomendable examinar la sangre, inmediatamente después de extraerla, en capa fina entre porta y cubreobjetos, para así poder observar las larvas vivas. El hallazgo de éstas se facilita extraordinariamente por su agitado movimiento, que a la vez evita confundirlas con fibras y otros elementos semejantes. Al hacer preparaciones secas o coloreadas deben observarse, según FULLEBORN, las siguientes prescripciones (1): Lo más práctico es emplear preparaciones en capa gruesa (V. el capítulo PALUDISMO), en lugar de frotis de sangre. Conviene primeramente eliminar cuidadosamente la hemoglobina con agua destilada y luego, antes de teñirla, se fija la preparación con alcohol. Para la tinción, la solución de GIEMSA no es práctica porque la coloración de la cubierta resulta desigual; FULLEBORN recomienda, en primer término, la hematoxilina de BOHMER o la coloración vital con azul de metileno o con rojo neutro. Las preparaciones deben secarse con rapidez, si es preciso, calentándolas ligeramente, porque de secarse lentamente pueden presentar los parásitos retracciones que borren características valiosas para el diagnóstico diferencial. Centrifugando la sangre extraída de los vasos capilares puede obtenerse un aumento de parásitos, que se reúnen en la capa de suero situada inmediatamente por encima de los glóbulos sanguíneos.

4. Bilharzia haematobia (Schistosomun haematobium)

La infección ocasionada por este parásito no es propia de los países europeos, pero está muy extendida en Africa y en el Asia oriental, aunque por la rebeldía del padecimiento, que dura muchos años, pueden presentarse en Europa casos importados. La formas africana y japonesa de la infección son debidas a gérmenes distintos y presentan,

(1) KOLLE-WASSERMANN : *Handbuch der pathog. Mikroorganismen*, Bd. VIII.

además, otras diferencias, especialmente de localización. La *bilharzia* egipcia ataca el recto y el aparato urogenital, mientras que en la japonesa los parásitos se establecen únicamente en el intestino grueso. Por otra parte, el *Schistosomun japonicum* puede transmitirse también a los animales (perro, gato, caballo y buey), mientras que la *bilharzia* egipcia ataca exclusivamente al hombre.

Los síntomas de la enfermedad son consecuencia de la irritación producida en los tejidos por el acúmulo de masas de huevos de parásitos. Los síntomas más frecuentes de la *bilharzia* egipcia son : presencia de sangre en la orina con la anemia consiguiente, inflamaciones crónicas y tumores de la vejiga y del recto y cálculos vesicales. Pero la infección puede existir también en personas, al parecer, completamente sanas y en este caso el diagnóstico sólo puede establecerse con seguridad por la comprobación microscópica de los huevos, con su forma característica, en la orina, en las heces o en cortes de tejidos de las partes lesionadas, extirpadas con motivo de operaciones quirúrgicas.

El verme adulto, que lleva el nombre de su descubridor BILHARZ, pertenece a los trematodes, vermes cilíndricos de sexo separado, y se le encuentra en las venas de la pared intestinal, en las del sistema de la vena porta y en las de la vejiga. El macho mide de 6 a 11 mm. de longitud y 0'5 a 0'7 mm. de grueso, y es de color blanquecino ; la hembra, bastante más delgada (0'2 mm.), tiene un color pardusco. Son muy características las parejas en cópula. Al realizarla, gran parte de la hembra desaparece en el canal ginecóforo que se encuentra en la cara ventral del macho.

El descubrimiento de los vermes adultos en la sangre se facilita mucho extendiendo ésta en capa delgada sobre una placa de cristal y observándola al trasluz. Los huevos adquieren una longitud de 0'12 a 0'15 mm. por una anchura de 0'04 a 0'06 mm. ; uno de los extremos es redondeado y el otro lleva una espina terminal o lateral que, según Looss, esta última mejor debiera llamarse abdominal. Los huevos con espina abdominal proceden, según este autor, de parásitos incompletamente desarrollados; de aquí que se encuentren principalmente en el hígado, que es donde residen las formas jóvenes del verme; en las heces hay también huevos de esta clase con otros de espina terminal, mientras que en la orina sólo se encuentran huevos normales con espina terminal. En cortes de tejidos se observan con frecuencia huevos con cubierta muy calcificada.

Los huevos de la forma japonesa son bastante más pequeños y carecen de espina, o, si la poseen, es pequeña, nodular y lateral. En el interior del huevo puede reconocerse el embrión. Cuando el huevo va a parar al agua mezclado con las excreciones humanas, el embrión queda libre y flota vivamente de un lado a otro como *miracidium* provisto de pestañas. El desarrollo posterior de esta forma, hasta producir la infección en el hombre, no se conoce aún exactamente. Quizá se desarrolle el *miracidium* en ciertos helicidos de agua dulce.

Como puerta de entrada de la infección debe tenerse en cuenta, en primer término, la piel, lo mismo que para el anquilostoma, y así lo inducen a creer las observaciones epidemiológicas de Looss y las investigaciones en animales con el *schistosomun japonicum*. La extraordinaria frecuencia con que tanto la *bilharziosis* como la anquilostomiasis aparecen en la población rural de Egipto, se explica por el hecho de que aquellas gentes, al regar sus campos, permanecen a diario, durante horas enteras, en contacto con agua infectada.

INDICE ALFABÉTICO

Actinomicetos, 269.
Adaptación, 53.
Agar, 44.
Aglutinación, 89.
Aglutinación de orientación, 92.
Aglutinación paradójica, 94.
Aglutininas, 78, 89.
Agresinas, 76.
Agujas, 146.
Albúminoprecipitinas, 95.
Alergia, 79.
Amiba buccalis, 301.
Amiba coli, 297.
Amibas de la disentería, 297.
Anafilaxia, 114.
Anfítricas, 18.
Anofeles, 325.
Anquilostoma duodenalis, 343.
Anticuerpos, 78, 80.
Antígenos, 79.
Antitoxinas, 78, 82.
Asas, 146.
Aspergillus, 276.
Aspergillus flavescens, 276.
Aspergillus fumigatus, 276.
Aspergillus glaucus, 276.
Aspergillus niger, 276.
Atricas, 18.
Autopsia, 153.
Autopsia de animales pequeños, 149.

Bacilo, 209.
Bacilo del carbunco, 177.
Bacilo del carbunco sintomático, 190.
Bacilo de la conjuntivitis, Koch-Weeks, 230.
Bacilo del chancro blanco (Ducrey), 231.
Bacilo de la difteria, 234.
Bacilo enteritidis, 213.
Bacilo de la fiebre de Malta, 232.
Bacilo de la fiebre tifoidea, 194.
Bacilo de Flexner, 215.
Bacilo de Friedlander, 219.
Bacilo de la gripe, 226.
Bacilo de la lepra, 257.
Bacilo del muermo, 239.
Bacilo piociánico, 194.
Bacilo seudotuberculoso rodentium, 225.
Bacilo de Strong, 215.
Bacilo de la tos ferina, 228.
Bacilo tuberculoso, 243.
Bacilo Y, 215.
Bacilos ácido-resistentes, 242.
Bacilos capsulados patógenos, 219.
Bacilos de la disentería, 215.
Bacilos del edema maligno, 187.
Bacilos esporógenos, 176.
Bacilos no esporógenos, 176.
Bacilos de la gangrena gaseosa, 189
Bacilos hemoglobinófilos, 226.
Bacilos del heno, 183.
Bacilos del mal rojo del cerdo y de la septicemia del ratón, 230.
Bacilos paratíficos, 208.
Bacilos de la septicemia hemorrágica, 219.
Bacilos del tétanos, 184.
Bacillus anthracis, 177.
Bacillus botulinis, 191.
Bacillus enteritidis de Gartner, 225.
Bacillus faecalis alcaligenes, 197, 213.
Bacillus lactis aerogenes, 175.
Bacillus mallei, 239.
Bacillus pertussis Eppendorf, 228.
Bacillus pneumoniae, 219.
Bacillus proteus, 175, 192.
Bacterias, 3.
Bacterias patógenas, 155.
Bacteriolisinas, 78, 84.
Bacterioterapia, 117.
Bacteriotropinas, 78, 87.
Bacterium coli, 196, 213.
Bacterium coli haemolyticum, 214.
Balantidium coli, 297, 301.
Bilharzia egipcia, 350.
Bilharzia haematobia, 349.
Blastomicetos, 4, 277.
Botulismo, 192.

Caldo de carne, 43.
Cifra fagocitaria, 87.
Ciliados, 297.
Coaglutinación, 92.
Cocos patógenos, 155.
Coloración de bacilos ácido-resistentes, 38.
Coloración de esporos, 39.
Coloración de flagelos, 40.

Coloración de Gram, 36.
Coloración de Levaditi, 289.
Comprobación de espiroquetos, 291.
Corpúsculos de Guarnieri, 329.
Corpúsculos de Negri, 335.
Coryne-bacterias, 233.
Cubreobjetos, 146.
Culex, 325.

Degeneración, 52.
Desecación del material infeccioso, 147.
Desinfección, 147.
Desinfectantes gaseosos, 129.
Diagnóstico bacteriológico del cólera, 266.
Diftérido, 233.
Diplobacilo de Morax-Axenfeld, 231.
Diplococcus crassus, 172.
Diplococcus flavus, 172.
Diplococcus intracellularis meningitis, 169.
Diplococcus lanceolatus, 161, 164.
Diplococos, 155.

Endotoxinas, 264.
Escarlatina, 330.
Espiroqueto de las aves, 284.
Espiroqueto dentium, 281, 293.
Espiroqueto de la enfermedad de Weil, 285.
Espiroqueto de la fiebre recurrente, 282.
Espiroqueto icterógeno, 285.
Espiroqueto de la sífilis, 288.
Espiroqueto pertenuis, 289.
Espiroqueto plicatilis de Ehrenberg, 281.
Espiroqueto refringens, 289.
Espiroquetos, 4, 280.
Espiroquetos en la angina de Plaut-Vincent, 293.
Esporozoarios, 297.
Esporozoitos, 315.
Esporulación, 315.
Estafilococos, 155.
Estafilococos piógenos, 156.
Estreptococos, 155.
Estreptococos piógenos, 159.
Estreptotrices, 3.
Estreptotrices patógenos, 2 9.
Estrongiloplasmas, 328.
Examen de cadáveres de animales sospechosos de peste, 225.
Examen de cadáveres sospechosos de peste, 225.
Examen de enfermos sospechosos de peste, 225.
Examen de los hifomicetos, 275.
Experimento de Pfeiffer, 268.
Extracción del material de los tubos de cultivo, 148.

Fagocitosis, 76.
Fiebre aftosa, 331.
Fijación del complemento, 104.
Filaria bancrofti, 348.
Filaria Demarquay, 349.
Filaria diurna, 348.
Filaria loa, 348.
Filaria nocturna, 348.
Filaria perstans, 349.
Filarias, 348.

Gelatina, 44.
Germen de la escarlatina, 330.
Gérmenes infecciosos de invasión septicémica, 64.
Gérmenes patógenos con capacidad de invasión superficial, 64.
Gérmenes patógenos con extensión general por el organismo, 64.
Gérmenes patógenos de grave extensión en la profundidad de los tejidos, 64.
Gérmenes patógenos ultramicroscópicos, 327.
Gérmenes ultramicroscópicos, 5.
Gonococo, 165.
Gota pendiente, 147.

Halteridium, 327.
Halteridium noctuae, 326.
Hemolisinas, 79, 100.
Hemolisis, 100.
Hemosporidios, 297, 315.
Hifas, 274.
Hifomicetos, 3, 273.
Hifomicetos y blastomicetos patógenos, 273.
Hipersensibilidad, 114.

Indice opsónico, 87.
Inmunidad, 74.
Inoculación por inhalación, 152.
Investigación en animales, 149.

Jeringuillas de inyección, 149.

Lamblia intestinalis, 302.
Leishmania Donovani, 311.
Leishmania infantum, 311.
Leishmania trópica, 311.
Leishmanias, 310.
Levaduras, 277.
Lisinas, 74.
Lofótricas, 19.

Macrogametos, 316.
Mastigóforos, 297.
Medio de Aronson, 262.
Medio de Dieudonné, 262.
Medio de Thiel, 237.
Medios de cultivo más usuales para el diagnóstico de la fiebre tifoidea, 202.
Medios más favorables para el cultivo del bacilo tuberculoso, 245.
Meningococo, 169.
Merista, 155.
Merozoítos, 315.

Merulación, 315.
Método de inoculación, 151.
Método de Peppler, 40.
Método de Wassermann, modificación de Stern, 112.
Método original de Wassermann, 108, 104.
Micrococcus catarrhalis, 172.
Micrococcus cinereus, 172.
Micrococcus melitensis, 232.
Micrococcus pharyngis siccus, 172.
Micrococcus tetragenus, 155, 173.
Microgametocitos, 316.
Microgametos, 316.
Microparásitos con desarrollo limitado a la puerta de entrada, 64.
Miostagminas, 78.
Miracidium, 350.
Monótricas, 18.
Mucor corymbifer, 276.
Mucor mucedo, 276.
Mutación, 53.

Neumococo, 161.

Oidium, 276.
Oidium lactis, 276.
Opsoninas, 78, 87.
Organotropas, 131.

Paraglutinación, 92.
Parásito de la malaria terciana, 313.
Parasitotropas, 131.
Patatas esterilizadas, 44.
Penicillium brevicaule, 275.
Penicillium glaucum, 275.
Perítricas, 19.
Pipetas, 148.
Plasmodio del paludismo, 312.
Plasmodias del paludismo de las aves, 325.
Plasmodium vivax, 314.
Plasmolisis, 11.
Poliomielitis aguda, 332.
Portaobjetos, 146.
Precipitinas, 78, 95.
Preparación del amboceptor hemolítico, 101.
Preparación de placas, 148.
Preparaciones por impresión, 148.
Procedimiento de Klein, 241.
Proteosoma praecox, 326.
Proteus X, 341.
Protozoarios, 4.
Protozoarios patógenos, 295.
Prueba de Castellani, 209.
Prueba de saturación de Castellani, 94.

Quimioterapia, 131.

Rabia, 333.
Reacción de aglutinación, 91.
Reacción de Wassermann, 104, 108.
Reacción de Widal, 94.
Reaginas, 79.
Rickettsia-Prowazeki, 340.
Rizópodos, 297.

Saprofitos tóxicos, 64.
Sarcinas, 155, 174.
Schistosomun haematobium, 349.
Schistosomun japonicum, 350.
Schizotrypanum Cruzi, 306.
Serodiagnóstico de Ascoli, 182.
Sistema hemolítico, 102.
Staphylococcus citreus y albus, 156.
Staphylococcus piogenes aureus, 156.
Streptococcus brevis, 160.
Streptococcus conglomeratus, 160.
Streptococcus lactis, 161.
Streptococcus longus, 159.
Streptococcus mitior o viridans, 164.
Streptococcus mucosus, 160.
Streptococcus viridans, 160.
Substancia precipitable, 95.
Substancia precipitinógena, 95.
Substancias específicas, 80.
Substancias organotropas, 131.
Substancias parasitotropas, 131.

Talos, 274.
Técnica de la diferenciación biológica de las albúminas, 97.
Termoprecipitación, 99.
Termoprecipitación de Ascoli, 225.
Tetradas, 155.
Tifus exantemático, 338.
Tracoma, 331.
Trichinella spiralis, 345.
Trichomonas intestinalis, 302.
Trichomonas vaginalis, 302.
Tripanosoma Brucei, 306.
Tripanosoma Cruzi, 310.
Tripanosoma equiperdum, 306.
Tripanosoma Evansi, 306.
Tripanosoma Gambiense, 306.
Tripanosoma Lewisi, 304, 306.
Tripanosoma quinum, 306.
Tripanosoma rhodesiense, 306, 307.
Tripanosoma Theileri, 306.
Tripanosomas, 302.
Triquina, 345.
Tuberculina, 256.

Vacunación, 117.
Vibrión del cólera asiático, 259.
Vibrión de Metschnikoff, 263.
Vibriones patógenos, 259.
Viruela, 329.

LAS ESPECIALIDADES EN LA MEDICINA PRÁCTICA

Publicado con la colaboración de eminentes Profesores especialistas

Tamaño 16 × 24 cm. :: Encuadernación en tela

I. **Tuberculosis.**
Por el Prof. Dr. G. DEYCKE, Médico Jefe de la Sección de Medicina interna y Director del Hospital General de Lübeck. — 335 páginas con 2 ilustraciones.

II. **Enfermedades infecciosas:** Su moderna interpretación.
Por el Prof. Dr. G. JÜRGENS, de la Universidad de Berlín. 374 páginas con 112 gráficos.

III. **Enfermedades del oído.**
Por los Profs. Dres. A. JANSEN y F. KOBRAK, de la Universidad de Berlín. — 400 páginas con 104 ilustraciones.

IV. **Enfermedades del riñón.**
Por el Prof. Dr. L. LICHTWITZ, Director del Hospital de Altona. — 282 páginas con 2 ilustraciones y 34 gráficos.

V. **Enfermedades del corazón y de los vasos.**
Por los Dres. HEINRICH HOCHHAUS, Prof. de la Academia de Medicina práctica de Colonia, y G. LIEBERMEISTER, Director de la Sección de Medicina interna del Hospital de Düren. 352 páginas con 72 ilustraciones.

VI. **Psiquiatría para el médico práctico.**
Por el Dr. H. W. GRUHLE, Prof. de la Universidad de Heidelberg. — 320 páginas con 23 ilustraciones.

VII. **La Sífilis:** Con especial consideración de los órganos internos. Su diagnóstico y tratamiento.
Por los Dres. E. MEIROWSKY, Prof. de la Universidad de Colonia, y FÉLIX PINKUS, Prof. de la Universidad de Berlín. 600 páginas con 79 ilustraciones, la mayor parte en color.

VIII. **Enfermedades del estómago e intestinos.**
Por el Dr. K. FABER, Prof. de la Universidad de Copenhague. — 300 páginas con 70 ilustraciones.

IX. **Enfermedades de la sangre.**
Por el Dr. E. ROSENOW, Prof. de la Universidad de Jena. 300 páginas con ilustraciones. *(En prensa).*

EN PREPARACIÓN NUEVOS VOLÚMENES

A solicitud remitimos gratis catálogo y folletos especiales de todas nuestras publicaciones

BIBLIOTECA CONTEMPORÁNEA DE CIENCIAS MÉDICAS

Publicada con la colaboración de eminentes Profesores especialistas

Tamaño 16 × 24 cm. :: Encuadernación en tela

Diagnóstico de las enfermedades de los niños. Con especial consideración de los niños de pecho.

Por el Prof. Dr. E. FEER, Director de la Clínica de Pediatría de la Universidad de Zurich.—390 páginas con 240 ilustraciones.

Modernos métodos de diagnóstico y tratamiento de las enfermedades del riñón.

Por HUGH MACLEAN, M. D., DSc., Prof. de Medicina de la Universidad de Londres y Director de la Clínica médica del Hospital St. Thomas.—102 págs. con 4 ilustraciones y varios gráficos.

Diagnóstico quirúrgico de las enfermedades del riñón. Tratado práctico para el uso de Cirujanos y Urólogos, Médicos y Estudiantes.

Por el Prof. Dr. WILH. BAETZNER, de la Clínica quirúrgica de la Universidad de Berlín.—391 páginas con 263 ilustraciones, la mayoría de ellas en color.

Terapéutica de las enfermedades de los niños. Con consideraciones generales acerca del diagnóstico y prescripciones farmacológicas especiales para la infancia.

Por el Prof. Dr. F. LUST, Jefe clínico de la Sección de Pediatría en la Universidad de Heidelberg.—474 páginas.

Terapéutica de las enfermedades de la piel y venéreas.

Por el Prof. Dr. J. SCHÄFFER, de la Universidad de Breslau. 477 páginas con 87 ilustraciones.

Cuidado y tratamiento de las heridas y de los focos de infección cerrados.

Por el Dr. W. VON GAZA, Profesor de la Clínica quirúrgica de la Universidad de Göttingen. — 320 páginas con 32 grabados, algunos en color.

Análisis clínicos. El Microscopio y la Química al servicio de la Clínica.

Por el Dr. H. LENHARTZ, de la Universidad de Leipzig, y el Profesor ERICH MEYER, de la Universidad de Estrasburgo. 400 páginas con 196 grabados, muchos de ellos en color.

EN PREPARACIÓN NUEVOS VOLÚMENES

A solicitud remitimos gratis catálogo y folletos especiales de todas nuestras publicaciones