

geno. Sabemos que existe en la cavidad bucal del hombre sano, no sólo un gran número de saprofitos, sino también especies bacterianas patógenas para los animales, y que encuentran un buen medio nutritivo en las membranas diftericas. Naturalmente, una u otra especie será absorbida en mucho mayor número y adquirirá en ciertos casos una aparente significación etiológica específica.

Evidentemente, en este caso no se puede tratar de aislar el verdadero agente de la enfermedad sino tomando grandes precauciones y cuidando con rigor de las fuentes posibles de errores.

Otras dificultades dependen de la manera como se conducen los animales que sirven para las experiencias. En efecto, son mucho menos sensibles que el hombre a la acción del agente de la difteria. Se han hecho numerosos ensayos de infección por medio de membranas diftericas, y esto en los animales más diferentes. Aunque las membranas se pusieran en contacto directo con la mucosa de la tráquea abierta, los resultados fueron casi siempre negativos (Trendelenburg, Francotte, etc.). Se han observado en algunos casos, sin duda, enfermedades en estos animales, formación de pseudo-membranas en la tráquea, etc., pero nunca se ha determinado la aparición de una difteria típica. Los fenómenos observados podían provocarse también por la inoculación de sustancias putrefactas no diftericas (Huter, Marcuse, etc.). Más tarde se obtuvieron por medio de diferentes bacterias no relacionadas con la difteria, y que se encontraban accidentalmente en la secreción normal de la boca. Tales estados semejantes a la difteria pueden existir en los animales, por lo cual no deben utilizarse para determinar cuál es el agente de la difteria humana; de suerte, que las investigaciones hechas para dilucidar este punto importante se encuentran limitadas.

En fin, diversas experiencias clínicas y epidemiológicas manifiestan también que existen diferentes formas de difteria, que tienen como punto de partida diversos agentes. Si esto se confirma, resultará de ello una complicación particular de las investigaciones sobre este asunto.

Los primeros observadores que estudiaron la difteria no apreciaron ciertamente los peligros y dificultades del examen experimental; y los múltiples descubrimientos de bacilos de la difteria se fundaban evidentemente en errores. No hace mucho trató Löffler de dilucidar la cuestión de la etiología de la difteria por medio de mejores métodos, y apreciando en su justo valor las causas de errores posibles. En los cortes de falsas membranas halló (aparte de micro-organismos evidentemente secundarios) dos formas que excitaban su interés de una manera muy viva. Una vez eran cocos dispuestos en cadenas, que se encontraban sobre todo en la difteria escarlatina. Tienen su punto

de partida en una pérdida de la mucosa, y desde allí se extienden al tejido en forma de focos, que dejan tras de sí la necrosis; penetran en los vasos linfáticos y se propagan a veces por todo el cuerpo.

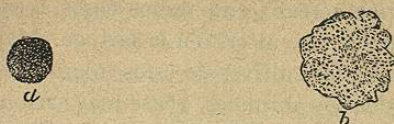
Estos cocos en cadenas representan un papel secundario en la difteria, lo cual se prueba por el hecho de análogas emigraciones de micro-organismos en cadenas, que se observan en otros casos de lesiones de la mucosa. Además, estos gérmenes no son peculiares de los casos típicos de difteria (revestimiento espeso de la faringe y extensión del proceso a las vías aéreas), sino de los casos escarlatinosos, en los cuales el proceso queda circunscrito a la faringe. Respecto a las propiedades que presentan los cultivos de estos micrococos y los resultados de las experiencias en los animales, véase más arriba.

Las demás bacterias que Löffler ha encontrado en la mayoría de los casos típicos de difteria, consisten en bastoncillos que presentan propiedades morfológicas y biológicas especiales. Son idénticos a otra especie que Klebs ha encontrado en la difteria y que considera como causa de la enfermedad, aun cuando no haya podido hacer con ellos cultivos puros. Löffler ha encontrado bacilos que se colorean intensamente con el azul de metileno en las falsas membranas debajo de otras bacterias que recubren la superficie. Estos bacilos se hallaban en el límite interno de la capa exudativa pobre en células, es decir, en las partes más antiguas de la membrana. Estos gérmenes penetraban mucho más profundamente que todas las demás bacterias. No se ha logrado hacer cultivos por medio de las placas de gelatina ordinaria; pero diluyendo mucho una pequeña cantidad de sustancia tomada del revestimiento de la laringe e inoculando gotitas de este líquido en suero sanguíneo, se obtenía un desarrollo de bacilos y era posible hacer cultivos puros.

Sin embargo, el Dr. Wysokowitsch ha podido en estos últimos tiempos aislar, en el Instituto de Göttinga, por medio de una infusión de carne peptonizada conteniendo agar, las mismas bacterias fuera de una membrana difterica expectorada al toser. Sosteníanse a 35° estos cultivos en placas. Sin embargo, para aislar este germen es preciso emplear un gran número de placas, en atención a que una parte se ve prontamente invadida por saprofitos de crecimiento más rápido. Löffler prefiere como medio nutritivo una mezcla sólida formada por tres partes de suero sanguíneo de ternera o de carnero, una parte de caldo de ternera, 1 por 100 de peptona, 1 por 100 de glucosa y $\frac{1}{2}$ por 100 de sal marina. En este medio nutritivo se desarrollan los bacilos a la temperatura de 37°, formando gotitas blanquecinas, opacas, o un barniz espeso, blancuzco, que alcanzan su desarrollo máximo al segundo día. La mezcla de agar-agar mencionada más arriba forma un medio nutritivo casi tan favorable; en la gelatina se produce también a los 22°

un desarrollo, pero mucho más lento é imperfecto. Los bacilos no se multiplican en las patatas.

Con un aumento de 80 diámetros las colonias profundas aparecen en las placas de agar-agar como discos redondeados ú ovals, de color moreno oscuro, granuloso. Los contornos no son muy limpios. Con frecuencia se reúnen muchas colonias, constituyendo masas irregulares. Las colonias superficiales son gris-amarillentas, de superficie granular, como reticulada, nubosa; los bordes son tenues y ondulantes.



FIGURAS 85 y 86. — Colonias de *bacilos de la difteria* (en agar).

a. Colonia profunda. — b. Colonia superficial.

Los bastoncillos son inmóviles, la mayoría ligeramente curvos y de longitud muy diferente: por término medio su longitud es la de los bacilos de la tuberculosis, pero son más gruesos que estos últimos. Con frecuencia una de las extremidades es abultada, algunas veces ambas. De vez en cuando se observa la forma de pesas de gimnasia. Sin colorear, los polos y á veces otras partes de los bacilos parecen más refringentes.

Tratándolos por el azul de metileno resaltan estas mismas partes; por efecto de una coloración más intensa. Además, se observa en ocasiones una segmentación de los bacilos en fragmentos de límites irregulares.

En ciertos bacilos, sobre todo en los que se toman de cultivos en medio no favorable para el desarrollo, se ve que las extremidades están extraordinariamente hinchadas; otras es el medio del bacilo lo que está engruesado de un modo considerable, y algunas hay una segmentación en fragmentos redondeados ú ovals. Estas anomalías en la forma, los abultamientos claviformes y los productos de segmentación son, con toda evidencia, formas involutivas. El hecho de que estas formas se presentan más rara vez y de un modo menos claro en el medio nutritivo más favorable, en el cuerpo humano, donde los bacilos sólo tienen engruesamientos poco marcados de las extremidades ó de ciertas partes; por el contrario, el hecho de que son tanto más frecuentes cuanto más malo es el medio nutritivo, todo habla á favor de esta manera de ver.

Pudiera creerse que las partes abultadas son esporos ó principio de éstos; pero Löffler ha podido probar que estos bastoncillos mueren todos por la acción de una temperatura de 60°, prolongada durante

media hora. La segmentación de los bacilos tampoco puede considerarse como una formación de artrosporos, por lo ménos mientras no se demuestre la resistencia mayor de esas partes contra ciertas influencias nocivas. Los cultivos mantenidos á la temperatura de la habitación pueden permanecer con vida durante tres meses.



FIGURA 87. — *Bacilos de la difteria* (1200/1).

a. Bacilos de cultivos recientes. — b. Formas de involución.

Löffler ha observado, en sus experiencias con animales, que las ratas y los ratones permanecen indemnes; los conejillos de Indias y los pájaros sucumbían por la inoculación subcutánea de pequeñas cantidades. En el punto inoculado se desarrolla una exudación blanquecina ó hemorrágica, con extenso edema del tejido celular subcutáneo. En los órganos internos de estos animales no se encuentran bacilos. Si se transportan los cultivos á la tráquea abierta de conejos, gallinas ó pichones se forman pseudo-membranas características, muchas veces muy extensas. Lo mismo se produce en la membrana conjuntiva de los conejos y en la entrada de la vagina de las cobayas. Además de las pseudo-membranas se observa también edema hemorrágico, hemorragias en el tejido de los ganglios linfáticos y derrames en la cavidad pleurítica.

Los animales jóvenes sucumben, por lo general, con más rapidez que los viejos.

Los síntomas provocados por la presencia de estos bacilos se parecen extraordinariamente á los que provoca el virus diftérico en el hombre. Sin embargo, Löffler ha dudado en dar estos bacilos como los gérmenes específicos y exclusivos de la difteria, porque no se han encontrado en una serie de casos de difteria típica, y, además, porque en las falsas membranas experimentalmente producidas en los animales no adoptaban la disposición típica observada en el hombre, ántes al contrario, faltaban por completo ó estaban aislados. En fin, no eran infecciosos cuando se ponían en la mucosa intacta de animales receptivos, sino que sólo obraban cuando se habían producido pequeñas lesiones. Sin embargo, es posible que estos bacilos, los cuales tienen, según hemos visto, una gran tendencia á la involución, hayan perecido en ciertas membranas ó se hayan eliminado. Además, también en el hombre deben con frecuencia proporcionar las vías necesarias para la introducción, insignificantes lesiones de las membranas mucosas.

Por consiguiente, estas objeciones no excluyen la posibilidad del papel etiológico atribuido á estos bacilos. Más importante es otra objeción que resulta de un hecho también observado por Löffler con motivo de exámenes comparados de la mucosa bucal de 20 niños y 10 adultos. Por medio del suero-caldo ha encontrado en un caso colonias formadas por los mismos bacilos, según lo demostraron los cultivos, el microscopio y las experiencias en animales. Sin embargo, no es imposible que los bacilos patógenos puedan hallarse accidentalmente en la boca sin dar origen al desarrollo de la enfermedad. Esto se verificará, sobre todo, cuando falten las vías de invasión ó por cualquiera otra causa exista la inmunidad. Esta hipótesis no es demasiado atrevida cuando se ve la manera característica como se propagan los bacilos de Löffler y los resultados comprobantes obtenidos en los animales, resultados que manifiestan que estos bacilos constituyen en efecto el agente causal, por lo ménos en cierto grupo de afecciones diftéricas.

Respecto á las bacterias que se encuentran en la difteria de las palomas y terneras, véase más adelante.

Emmerich, en una comunicacion preliminar dirigida al Congreso de Higiene de La Haya, afirmó haber encontrado el agente causal de la difteria. Según este autor, consiste en bastoncillos cortos, macizos, dos veces más largos que gruesos. Se desarrollan enérgicamente en la gelatina que contiene caldo peptonizado, constituyendo colonias blanquecinas del volumen de una cabeza de alfiler. En la patata forman un barniz espeso, blanco-amarillento. La inoculación de estos cultivos á los animales da resultado en las palomas, los conejos y los ratones blancos. Si en la mucosa traqueal de un conejo se extiende un cultivo, sobreviene la muerte al cabo de sesenta horas. Se comprueba entonces que se ha formado en la tráquea una membrana crupal gris-amarillenta sucia; además, ha producido una inflamación crupal del pericardio y depósitos fibrinosos en los pulmones. Aparte de esto, se encuentran los bacilos en la falsa membrana, en la sangre y en los órganos internos, principalmente en el hígado, en el bazo y sobre todo en los riñones. Obtuvo idénticos resultados en ocho casos de difteria en el hombre y seis casos en pichones. Considera, pues, la difteria del hombre y la de la paloma como debidas á un mismo agente.

Las conclusiones de Emmerich son infundadas en absoluto. La identidad de la difteria en el pichon y en el hombre es inaceptable, según resulta de las mejores observaciones. El hecho de la presencia casi constante de numerosos bacilos en los órganos internos, y particularmente en los riñones, unido al de los resultados negativos que se obtienen en el hombre, todo tiende á hacer pensar que se trata de una enfermedad esencialmente distinta de la difteria. Emmerich no ha indicado nada acerca de la disposición de estos bacilos en los cortes

de membranas diftéricas del hombre. Debe de parecer extraño que Emmerich haya obtenido resultados que contrastan de un modo tan singular con las esmeradas investigaciones de Löffler, y que haya concedido la preferencia á gérmenes que éste no ha estimado en más que á los estreptococos y bacilos descritos por tal autor. Es posible que los métodos nada recomendables seguidos por Emmerich le hayan conducido á conclusiones erróneas. En efecto, pone trozos enteros de mucosa y fragmentos de pseudo-membrana en el substrato nutritivo. Los deja desarrollarse en él y trasmite directamente los cultivos impuros á los animales, con el fin de separar los gérmenes patógenos de los que no son nocivos. Merced á este procedimiento es casi seguro que las bacterias sépticas que se encuentran casi constantemente en la secreción bucal y en las membranas diftéricas infectarían á los animales y ocultarían las bacterias diftéricas propiamente dichas.

Los bacilos patógenos para el hombre que vamos á describir no se conocen por completo y exigen investigaciones complementarias.

Sífilis.

Numerosos autores (Hallier, Lostorfer, Klebs, Aufrecht, Hirschfeldt, etc.), evidentemente sin razón, han creído haber hallado el agente de la sífilis. Lustgarten ha conseguido, poco há, demostrar la presencia de micro-organismos en las neoformaciones sífilíticas, merced á un procedimiento especial de coloración. Dichos micro-organismos, merced á su modo de conducirse con ciertas soluciones colorantes, á su presencia siempre y á su disposición en el tejido atacado, pueden considerarse con motivo como los agentes específicos de la sífilis.

El método de coloración empleado por Lustgarten se funda en colorear los cortes en una solución de genciana-anilina, y decolorarlos después por medio del permanganato potásico. El producto de reducción, el óxido de manganeso, se quita de los cortes por el ácido sulfuroso. Estos son entonces completamente incoloros, á excepción de los bacilos de la sífilis.

Hé aquí, en suma, cómo se procede según el método de Lustgarten: se ponen los cortes en una mezcla formada por 100 partes de agua de anilina y 11 de solución concentrada de genciana, donde permanecen unas doce á veinticuatro horas cuando la temperatura es la de la habitación, dos horas á la temperatura del cuerpo. Se lavan con alcohol, y se sumergen durante diez segundos en una solución al 7 ½ por 100 de

permanganato potásico. La preparación se recubre entonces de numerosos grumos morenos de óxido de manganeso. Estos últimos se reducen, disuelven y separan, bañándolos breve rato en una solución acuosa de ácido sulfuroso. Se lava entonces con agua destilada. Cuando no se decoloran por completo, se repite la inmersión en el permanganato y en el ácido sulfuroso. De ordinario no se consigue decolorar del todo sino al cabo de tres ó cuatro repeticiones. El agua se quita por medio del alcohol, y la preparación se trata del modo habitual por la esencia de clavo ó el bálsamo. De igual manera se tratan las preparaciones en el cubre-objetos, sólo que en lugar de alcohol se emplea el agua como primer disolvente.

No sólo los tejidos, sino también todas las bacterias, se decoloran por el empleo de este método, á excepción, sin embargo, de los bacilos de la tuberculosis y de la lepra. Los bacilos de la sífilis se distinguen de estos últimos en que se decoloran con rapidez cuando se tratan los cortes por el ácido clorhídrico ó el ácido nítrico.

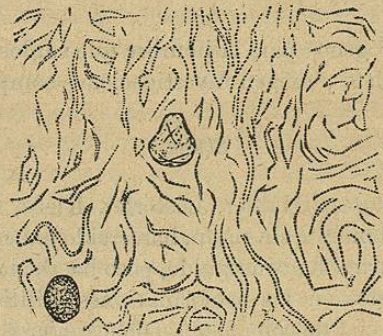


FIGURA 88. — Bacilos de la sífilis (1050/1).

Grupo de bacilos en el tejido esclerosado, según Lustgarten.

Los bacilos que se encuentran en las neoformaciones sífilíticas se parecen á los bacilos de la tuberculosis. La mayoría están doblados, encorvados en forma de S ó rotos. Por término medio tienen 3 á 7 μ de longitud (media, $4\frac{1}{2}$ μ).

Con frecuencia tienen un abultamiento poco marcado en una de las extremidades. Los contornos son irregulares, débilmente sinuosos ó entallados. Con grandes aumentos se ven en el bacilo, coloreado de azul oscuro, dos ó cuatro manchas claras, ovals, brillantes, á igual distancia unas de otras. Verosimilmente deben considerarse como esporos.

Los bacilos no están libres en los tejidos, sino alojados en grandes células ovals ó poligonales, en número de 2 á 8, muchas veces entre-

cruzados ó enlazados. En general, hay relativamente pocos bacilos en las partes enfermas, de tal suerte que en muchos cortes no se encuentra algunas veces sino una sola célula que contenga bacilos.

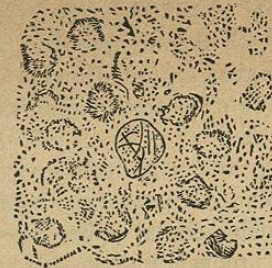


FIGURA 89. — Célula emigrante que contiene bacilos de la sífilis (1050/1).
Según Lustgarten.

Lustgarten ha podido demostrar la existencia de estos bacilos en 16 casos de sífilis. También se han hallado en un caso de sífilis congénita en el interior de un goma perióstica. Por el contrario, faltaban en dos casos de úlcera venérea y en numerosos cortes de órganos normales y patológicos que sirvieron de contraprueba.

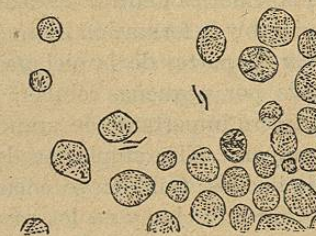


FIGURA 90. — Preparación seca del pus de una esclerósis sífilítica con bacilos (1050/1). Lustgarten.

De Giacomi ha empleado la decoloración de los cortes y de las preparaciones por medio del sesquicloruro de hierro, para demostrar la presencia de estos bacilos. Gottstein ha comprobado y recomendado este método. Según él, en veinticuatro horas se colorean los cortes en la fuchsina, se lavan con agua y luego se ponen durante algunos minutos en una solución pura ó diluida de sesquicloruro de hierro. Después se lavan en alcohol, y se examinan en la esencia de clavo. Los bacilos de la sífilis están coloreados entonces de rojo ó rojo violado, y el tejido y los demás bacilos (salvo los tuberculosos) están decolorados.

También puede darse á las preparaciones una doble coloración, pero esto no contribuye á hacer más clara la imagen.

Doutrelepont y Schütz han podido colorar los bacilos de Lustgarten dejando los cortes veinticuatro ó cuarenta y ocho horas en una solución acuosa de genciana al 1 por 100; luego algunos segundos en ácido nítrico diluido al 1/15 y, por último, unos diez minutos en alcohol de 60°; finalmente, se coloreaban en una solución acuosa de azafranina. El tejido y los núcleos se encontraban entonces coloreados de rojo claro, y los bacilos de azul.

Investigaciones de contraprueba hechas por Alvarez y Tavel en el laboratorio de Cornil, tienden á poner en duda el valor de la coloración específica de los bacilos de la sífilis. Estos autores han encontrado en el esmegma del prepucio y de la vulva bacilos que se conducen como los *bacilos de Lustgarten* respecto á las sustancias colorantes. La importancia etiológica de estos últimos necesita, sin embargo, investigaciones ulteriores, aun cuando su disposición en los tejidos habla contra la posibilidad de un papel accidental.

Rinoscleroma.

Pellizari, Chiari, Alvarez y Cornil (1) han encontrado micro-organismos característicos en esta enfermedad, que se observa en Austria-Hungría, en Italia y en la América Central. Esta afección está caracterizada por el engruesamiento y la formación de nudosidades de la piel y de la mucosa nasal. En las partes de la piel atacadas se encuentra una infiltración del tejido por pequeñas células; la esclerósisis de los vasos pequeños, y un número importante de grandes células globulosas, multinucleares la mayoría. El protoplasma de estas últimas contiene un gran número de bacilos; también se encuentran estos micro-organismos en el tejido circunvecino y en los vasos linfáticos. Estos bacilos son cortos bastoncillos de $1\frac{1}{2}$ á $3\ \mu$ de longitud y $0,5$ á $0,8\ \mu$ de diámetro; sus extremidades son redondeadas y en su interior se distinguen tres ó más granulaciones más oscuras. Se logra colorear los bacilos, sobre todo tratando los cortes durante veinticuatro á cuarenta y ocho horas por el violeta de metilo y luego por el agua iodada. Si se trata durante cuarenta y ocho horas por una solución concentrada de violeta, y se decolora en seguida durante otras cuarenta y ocho horas con el alcohol absoluto, se ve entonces con frecuencia cada bacilo rodeado por una cápsula resistente ovoidea, muy poco coloreada de vio-

(1) Frisch. *Wien. medic. Wochenschr.*, 1882. — Pellizari. *Il Rinoscleroma*. Florencia, 1883. — Chiari. *Wien. medic. Jahrb.*, 1882. — Véase también la BIBLIOGRAFÍA.

leta. Los cultivos é inoculaciones no han dado resultados hasta ahora. (Para más detalles, véase Cornil y Babès: *Les bacteries*.)

Malaria. (Fiebre intermitente. Paludismo.)

Desde hace mucho tiempo se ha emitido la idea de que el paludismo se debe á un agente organizado, y que podrá lograrse aislarlo por los métodos de cultivo. Del modo de propagarse el paludismo se deduce que esta enfermedad no es contagiosa, en el sentido ordinario de esta palabra; que no necesita del enfermo para transmitirse, ya directa, ya indirectamente, sino que está enlazada con cierta disposición del medio ambiente, y que no puede ser peligrosa para seres que se hallen en un medio desprovisto de esta disposición.

Por consiguiente, debemos admitir que en el paludismo no se trata de un verdadero parásito que no puede por menos que desarrollarse difícilmente ó nada fuera del cuerpo, sino de un organismo que en ciertas condiciones puede conservarse en sustancias nutritivas muertas en lo que nos rodea, que probablemente puede multiplicarse y que sólo puede tener una existencia parasitaria temporal.

En cuanto al substrato necesario para el desarrollo del agente del paludismo, sabemos sin duda muy pocas cosas nutritivas que puedan emplearse para los ensayos de cultivo.

En general, se consideraba en otro tiempo que un terreno cálido, húmedo (cenagoso), mezclado con gran número de principios orgánicos, sobre todo vegetales, reunía condiciones favorables para el desarrollo del paludismo. Después que, en estos últimos años, investigaciones exactas de Tomassi-Crudelli demostraron que distritos elevados (en manera alguna palustres) y comarcas desecadas por plantíos de eucaliptos aún estaban expuestos muchas veces á epidemias de malaria, ha sido preciso admitir que el grado necesario de humedad es mucho menos elevado de lo que antes se creía. Los demás factores capaces de influir en el desarrollo de la enfermedad se han mostrado tan poco susceptibles de una definición exacta, que es menester se hagan en esta vía numerosas investigaciones antes de lograr datos precisos.

Por otra parte, debe alentarse á los laboriosos el saber que las experiencias modernas han demostrado que el desarrollo del paludismo no depende en manera alguna de la producción de un virus puramente miasmático. Por consiguiente, en ningún caso puede tratarse de algo no organizado y producto de un suelo á propósito. Cuboni, Marchiafava, Dochmann y recientemente Gerhardt han podido demostrar la transmisión de la enfermedad de un individuo á otro. Gerhardt ha podido producir la fiebre intermitente en dos individuos sanos observados algún tiempo y en una localidad libre de paludismo, inoculándo-