

ponerlas en evidencia, es preciso tratar la partícula del esputo por una solución de potasa cáustica al 40 por 100; ésta no ataca á las fibras elásticas, mientras que destruye y hace desaparecer todos los demás elementos. Luego se pueden teñir con una solución de eosina al 1 por 100.

Hemos dicho anteriormente que á veces se hallan en los esputos *pedazos de parénquima pulmonar*, visibles á simple vista (abscesos del pulmón, gangrena pulmonar); examinados al microscopio, estos pedazos demostrarán la disposición alveolar característica del parénquima.

Al lado de las fibras elásticas, se hallan á veces fibras musculares

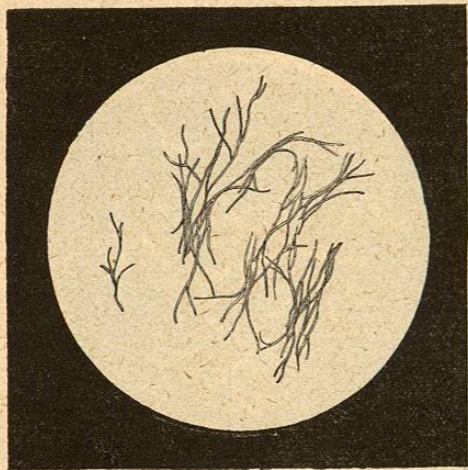


Fig. 120. — Fibras elásticas.

lisas y elementos del tejido conjuntivo. En algunos casos de cáncer del pulmón, se han podido hallar células cancerosas en los esputos.

i. En los esputos negros de la *antracosis pulmonar*, el examen microscópico revela la presencia de corpúsculos negros, ya libres, ya incluidos en las células alveolares y en los leucocitos. Estos corpúsculos no son más que carbón; á veces ha llegado hasta á ser posible reconocer la naturaleza del árbol de que se hizo el carbón; así es que se ha podido distinguir en las partículas de carbón series de depresiones abiertas en su centro como en las grandes células fusiformes de las coníferas (Traube). El carbón puede afectar también la forma de granulaciones intracelulares muy finas. Tratadas por la potasa y los ácidos minerales, las partículas carbonosas no se destruyen, ni aun en caliente; esto basta para distinguirlas de los pigmentos de origen hemático que se hallan fre-

cuentemente en las células. Ya hemos hablado (pág. 514) de la presencia de los polvos ferruginosos en los esputos, cuando se trata de la *siderosis*, y de los procedimientos microquímicos empleados para revelarlos.

En la *calicosis*, las partículas de sílice pueden conocerse por la combustión de la partícula del esputo después de la desecación lenta; tratando entonces el residuo por el agua regia, solamente subsiste la sílice.

EXAMEN BACTERIOLÓGICO

El examen bacteriológico de los esputos es el único que puede, en un cierto número de casos, dar certeza completa sobre la naturaleza de una afección del aparato respiratorio.

Debe comprender primero el examen directo sobre laminillas, y además, según el microorganismo de que se trate, los cultivos sobre diferentes medios y la inoculación á diversos animales.

Técnica general. — EXAMEN SOBRE LAMINILLAS. — La técnica colorante no difiere de la que se emplea para todos los productos patológicos ó para el examen de cultivos. Recordemos rápidamente el procedimiento de coloración simple y el procedimiento de doble coloración por el método de Gram.

I. *Coloración simple.* — Una partícula del esputo, extraída con una aguja de platino, una aguja para disociar ó una pequeña pinza de dientes, se deposita en el centro de una laminilla de vidrio (porta-objetos) muy limpia, es decir, previamente lavada con alcohol y secada con un trapo fino. Se coloca una segunda laminilla (cubre-objetos) sobre esta partícula del esputo y se aprieta de modo que la aplaste ligeramente; entonces se coge con una pinza una punta de esta segunda laminilla y se la hace deslizar sobre la primera de modo que quede una capa delgada del esputo, luego se separan la una de la otra y siempre por deslizamiento (frotación de las laminillas). También se puede colocar simplemente sobre un cubre-objetos con la aguja de platino, como si se practicara una disociación. Luego se hace desecar al abrigo del polvo; más tarde se fija la preparación, ya pasándola rápidamente tres ó cuatro veces por la llama de un mechero Bunsen, ya sumergiéndola en una mezcla á partes iguales de alcohol absoluto y éter. Así fijados sobre el cubre-objetos los elementos anatómicos y los microorganismos, no se desprenderán en el momento de la coloración y de los lavados.

Para la coloración se utilizará una de las soluciones siguientes:

Soluciones hidroalcohólicas

a	Violeta de genciana.	1 gramo
	Alcohol absoluto.	10 gramos
	Agua destilada.	100 —
b	Azul de metileno.	1 gramo
	Alcohol absoluto.	10 gramos
	Agua destilada.	100 —

Solución acuosa

Azul de metileno.	1 gramo
Agua destilada.	100 gramos

Azul de Löffler

Solución de potasa al 1/10,000.	30 cent. cúb.
Solución alcohólica de azul de metilo.	10 —

Violeta de genciana fenicada (NICOLLE)

Solución saturada de violeta de genciana en alcohol de 95°.	10 cent. cúb.
Agua fenicada al 1 por 100.	100 —

Tionina fenicada (NICOLLE)

Solución saturada de tionina en alcohol de 50°.	10 cent. cúb.
Agua fenicada al 1 por 100.	100 —

Azul fenicado de Kühne

Azul de metilo.	1 gramo
Alcohol absoluto.	10 gramos
Tritúrese en el mortero y luego añádase lentamente:	
Agua fenicada al 5 por 100.	100 gramos

Rojo de Ziehl

Fuchina.	1 gramo
Alcohol absoluto.	10 gramos
Tritúrese en el mortero y luego añádase lentamente:	
Agua fenicada al 5 por 100.	100 gramos

Se dejan caer algunas gotas de una de estas diversas soluciones sobre la laminilla de vidrio; se deja obrar la materia tintórea durante dos ó tres minutos, y luego se lava con agua.

Entonces se *monta* la preparación. Si no debe conservarse, se la puede montar sencillamente al agua. Para esto, la laminilla sin secar se deposita sobre un porta-objetos muy limpio, de modo que no haya burbujas de aire interceptadas; se seca bien la cara superior con papel de seda y luego se examina al microscopio.

Si se quiere conservar la preparación, ó el examen debe prolon-

garse, es necesario montarla al bálsamo del Canadá. Entonces se deja secar el cubre-objetos al abrigo del polvo, después de haberlo lavado y de haber quitado el exceso de color; la desecación puede activarse pasando rápidamente la preparación sobre un mechero Bunsen ó soplando encima con una pera de goma. Luego se coloca sobre el porta-objetos, al cual previamente se le ha puesto una gota de bálsamo del Canadá disuelto en xilol.

En resumen, la coloración sencilla sobre las laminillas puede descomponerse en diferentes tiempos:

- 1.º Colocar.
- 2.º Secar.
- 3.º Fijar.
- 4.º Colorar.
- 5.º Lavar.
- 6.º Montar.

Las preparaciones se examinarán con el objetivo de inmersión homogénea y el condensador de Abbe. Las preparaciones pueden hacerse también directamente sobre un porta-objetos. Después de haberlas teñido y lavado, se secan y luego se deposita encima de ellas una gota de aceite de inmersión y se examinan de este modo, *sin laminilla cubre-objetos*. Si se quiere conservar la preparación, se quita el aceite con xilol y se monta con el bálsamo del Canadá.

II. *Método de Gram*. — El método de Gram requiere la acción de una solución yodoyodurada y decoloración. Después de haber colocado, secado y fijado el producto que debe examinarse, se dejan caer sobre el cubre-objetos algunas gotas de una solución colorante compuesta del siguiente modo:

Violeta de genciana.	1 gramo
Alcohol absoluto.	10 gramos

Tritúrese y añádase lentamente:

Agua de anilina.	100 gramos
--------------------------	------------

El agua de anilina se obtiene colocando en un tubo de ensayo mitad lleno de agua destilada algunas gotas de aceite de anilina, y agitando fuertemente para emulsionarlo; luego se filtra y se recoge el agua anilina.

Se deja actuar la solución colorante durante un cuarto de hora, luego se derrama el exceso y se sumerge la preparación durante algunos segundos en la solución yodoyodurada:

Yodo.	1 gramo
Yoduro de potasio.	2 gramos
Agua destilada.	300 —

La preparación adquiere un tinte morenó.

Luego se decolora por el alcohol absoluto ó por el aceite de anilina hasta que no quede más violeta; se lava con agua y se monta.

Puede obtenerse una doble coloración pasando, durante algunos segundos, la preparación lavada con agua á una solución acuosa de eosina, por ejemplo:

Eosina al agua.	1 gramo
Agua destilada.	200 gramos

Se lava nuevamente y se monta.

Las soluciones colorantes de anilina no se conservan, por lo que es preciso prepararlas en el momento de servirse de ellas. Este inconveniente se evita siguiendo la técnica indicada por Nicolle, y constituye una feliz modificación del método de Gram.

1.º Colocar, secar y fijar por la mezcla de alcohol absoluto y de éter á partes iguales.

2.º Colorar por el violeta fenicado (de cuatro á seis segundos).

3.º Sin lavar al agua, hacer actuar una solución yodoyodurada fuerte durante cuatro ó seis segundos, renovándola una ó dos veces.

Yodo.	1 gramo
Yoduro potásico.	2 gramos
Agua destilada.	200 »

4.º Decolorar por la mezcla siguiente:

Alcohol absoluto.	2 partes
Acetona.	1 parte

5.º Montar y examinar.

O bien hacer una doble coloración utilizando la solución alcohólica de eosina:

Solución saturada de eosina en alcohol de 95º.	50 c. c.
Alcohol de 95º.	100 —

Tales son los dos métodos principales de coloración.

Según veremos, la investigación de ciertos microbios requiere procedimientos especiales.

Los productos de la expectoración contienen frecuentemente una grandísima cantidad de microorganismos pertenecientes á diferentes especies, en particular cuando se trata de una lesión crónica del aparato broncopulmonar, bronquitis crónicas, dilataciones bronquiales, caver-

nas, etc. Los microbios son, en algunos casos, tan abundantes en algún punto que parecen constituir casi por completo la partícula del esputo que se examina al microscopio.

El aparato broncopulmonar está, en efecto, ampliamente abierto á toda clase de infecciones; por su parte superior comunica con la cavidad bucofaringea, en donde pululan innumerables microorganismos; las primeras vías respiratorias se hallan también siempre habitadas por ellos. Si en estado normal no hay microbios en los pequeños bronquios y en los alvéolos pulmonares, es debido al funcionamiento regular del aparato, que pone en juego sus defensas naturales contra la infección (secreción mucosa, células de pestañas vibrátiles, espiración, tos, etc.). Si una causa cualquiera, local ó general, disminuye ó aniquila estos medios de defensa, la invasión polimicrobiana del árbol respiratorio se efectúa rápidamente.

Pero es preciso hacer constar que un cierto número de especies microbianas se desarrollan rápidamente en el esputo después de la expectoración: algunas pueden proceder también del exterior é infectar secundariamente al esputo. Es preciso, pues, tener la precaución de examinarlo bastante rápidamente; si el examen no puede verificarse sino al cabo de un día ó dos, deberá hacerse escupir al enfermo en un receptáculo que contenga una solución ligeramente antiséptica; por ejemplo, agua fenicada al 2 ó al 3 por 100, una solución de formol al 1 ó al 2 por 100 ó una solución naftolada. En estos casos, se comprenderá que el producto de la expectoración no puede utilizarse para el cultivo ó para la inoculación en los animales.

Los productos expectorados se hallan mezclados con una cierta cantidad de saliva; ahora bien, ésta se halla poblada en estado normal de muy numerosas especies microbianas. Así, pues, es preciso escoger la partícula del esputo que se quiere examinar, ó tomar, por ejemplo, las porciones purulentas, ó también, en algunos casos, librarse de la saliva por el lavado del esputo, según el procedimiento indicado por Kitasato. Este procedimiento consiste, según ya hemos visto anteriormente, en pasar el esputo por una serie de cristalizadores llenos de agua esterilizada; así pueden obtenerse partículas desprovistas de saliva.

Pueden hallarse en los esputos el pneumococo, los estafilococos, los estreptococos, el pneumobacilo, el colibacilo, el proteus, el tetrágeno, largas cadenas estreptobacilares, masas zoogléicas, hongos diversos, el *Leptothrix pulmonalis*, sarcinas y espirilos. Los esputos deben á veces su coloración á microorganismos cromógenos; así, la coloración verde es debida frecuentemente al bacilo piocianico ó á diversos bacilos fluores-

centes; el tinte amarillo ó anaranjado se explica por la presencia de sarcinas amarillas ó anaranjadas.

Si en algunas enfermedades microbianas del aparato respiratorio es fácil hallar desde los primeros días el agente patógeno en la expectoración, ya que éste se encuentra entonces casi en estado de pureza (pneumonia, bronquitis grippal, etc.), no sucede siempre lo mismo cuando se han producido ya las infecciones secundarias. De todos modos, aparte de la tuberculosis, cuyo bacilo se descubre, según veremos, por un procedimiento especial de coloración, la misma abundancia de una especie patógena con todos sus caracteres morfológicos permite atribuirle su verdadero papel. Así, el pneumococo, por ejemplo, puede reconocerse en la expectoración de todas las afecciones broncopulmonares; pero en el esputo del pneumónico se le halla con tal abundancia que no es posible equivocarse respecto de su acción patógena.

INOCULACIONES. — La inoculación de partículas de esputo á los animales puede demostrar igualmente la acción patógena de tal ó cual microorganismo. Por otra parte, constituye el mejor procedimiento de aislamiento de éste. Más adelante veremos cuán útil puede ser para el diagnóstico de la tuberculosis.

Las inoculaciones de esputos se hacen ordinariamente debajo de la piel ó en el peritoneo de los animales¹; deben practicarse tan asépticamente como sea posible.

Inoculaciones subcutáneas. — Una partícula de esputo, previamente bien lavada, se deslíe en un poco de agua ó de caldo esterilizado, agitándola con una varilla de vidrio ó con una aguja de platino. Se aspira entonces el líquido por medio de la jeringuilla de Pravaz, evitando los grumos bastante voluminosos que puedan obturar la cánula. Estando, por otra parte, el animal convenientemente sujeto, se cortan los pelos de la región escogida para la inoculación, se lava la piel con sublimado ó con alcohol, ó bien se le aplica un punto de fuego con una varilla calentada; luego se levanta la piel á este nivel de modo que forme un repliegue en el cual se hunde la cánula y se inyectan algunas gotas del líquido; el pequeño relieve que se forma entonces demuestra que la inyección ha sido perfectamente hipodérmica.

En vez de la jeringa de Pravaz, puede emplearse una pipeta ordinaria que penetra fácilmente en el tejido subcutáneo, cuando se la hunde á nivel de un punto de fuego ó cuando se ha practicado previamente una pequeña incisión en la piel.

¹ También se hace, en algunas circunstancias, la inoculación en la tráquea, en el pulmón ó en la cámara anterior del ojo del conejo.

Al conejo y al conejillo de Indias se les inoculará en la espalda, el abdomen ó á raíz del muslo. El sitio de elección para el ratón es la base de la cola. Se pondrá cuidado en este animal de no hundir la aguja ó la pipeta demasiado profundamente y de dirigir las paralelamente á la superficie cutánea, so pena de penetrar en la cavidad abdominal y de producir lesiones mortales de por sí.

Inoculaciones intraperitoneales. — Se inoculará en el peritoneo al conejo y al conejillo de Indias. Sujeto el animal convenientemente, se coge la pared abdominal de modo que forme un repliegue que comprenda todo su grosor; se deja la piel bien aséptica por medio de un lavado ó de un punto de fuego, y se hunde la cánula en la base de este repliegue; nos aseguramos de que está libre dentro de la cavidad abdominal, luego se adapta la jeringa y se impele el líquido de la inyección.

CULTIVOS. — En algunos casos, es útil obtener cultivos puros del microbio patógeno de una afección broncopulmonar.

Cuando los agentes de las infecciones secundarias son poco abundantes, se puede sembrar, en medios sólidos, una partícula del esputo bien lavada. Por medio de la aguja de platino se conduce esta partícula á la gelosa, por ejemplo, y se hacen dos ó tres estriás paralelas en un primer tubo, luego en un segundo y también en un tercero, sin recargar la aguja. Se numeran los tubos y se llevan á la estufa. A nivel de las estriás del segundo y del tercer tubo se obtienen colonias aisladas que se pueden examinar al microscopio y volver á sembrar en un tubo nuevo, de modo que se consiga tener un cultivo puro. Todos los procedimientos de aislamiento de los microbios son aplicables aquí.

Cuando un animal ha sucumbido á la inoculación de una partícula de esputo, se pueden obtener, finalmente, cultivos puros del agente patógeno sembrando sobre diferentes medios un poco de pulpa del bazo ó del hígado del animal, ó mejor aún, una gota de su sangre tomada asépticamente del corazón.

EXAMEN BACTERIOLÓGICO DE LOS ESPUTOS EN EL NIÑO. — El niño no expectora, preferentemente deglute sus esputos.

Sin embargo, es utilísimo examinar en muchas circunstancias, desde el punto de vista bacteriológico, los productos de su expectoración cuando, por ejemplo, se quiere conocer el agente patógeno de una broncopneumonia ó cuando se sospecha la existencia de una tuberculosis pulmonar. Entonces es preciso administrar un vomitivo al niño ó también practicarle el lavado del estómago. Los esputos son fáciles de reconocer en medio de los líquidos estomacales; se recogerán y se lavarán bien y luego se someterán á los métodos ordinarios de examen.