

Algo sobre la difteria desde el punto de  
vista bacteriológico

# TESIS

PRESENTADA Á LA JUNTA DIRECTIVA

DE LA

FACULTAD DE MEDICINA Y FARMACIA

POR

LUIS GAITÁN

EN EL ACTO  
DE SU INVESTIDURA DE

MÉDICO Y CIRUJANO

MAYO DE 1900

GUATEMALA

IMPRESA EN LA TIPOGRAFÍA NACIONAL

*HONORABLE JUNTA DIRECTIVA:*

El descubrimiento del origen microbiano de algunas enfermedades, abriendo nuevas vías de investigación, modificando en absoluto los conocimientos etiológicos y deshaciendo innumerables errores, tanto más lamentables cuanto que sus funestos efectos se hacían sentir sobre la vida de la especie humana, ha venido á cambiar por completo la faz de los estudios médicos, encaminándolos por un sendero de exactitud y precisión tales, que no será remota la época en que, con los medios que la investigación científica proporcione, puedan alejarse del empirismo, que por desgracia ha imperado durante mucho tiempo.

Difícil, si no imposible, es llegar hasta la exactitud matemática, ya que la índole de nuestros estudios por tener un sujeto asaz complicado, no permite el dominio completo de lo ignoto; pero según se desprende de los avances de la ciencia, llegará día en que precisado el diagnóstico con la ayuda de los reactivos bacteriológicos y la escudriñadora penetración del microscopio, que presta á la clínica tantos ó más servicios que el estetoscopo, y tantos y tantos otros aparatos que nos auxilian en la investigación de los desórdenes patológicos funcionales, pueda emprenderse una batalla segura en su éxito contra la enfermedad, no solo atacándola en su esencia, con medios terapéuticos adecuados, que se basen en una inducción ó deducción científicas, sino aun evitándola con los recursos que pueda allegar la profiláctica, apoyada en la exactitud del conocimiento de la causa generadora de la entidad morbosa.

Fundamento racional es el de los clínicos, que, con justicia, hacen del diagnóstico preciso, el punto de

apoyo en que se base el éxito del tratamiento con que puedan oponerse á los efectos destructores de una enfermedad. Si esto no tiene réplica para las enfermedades quirúrgicas, es incontrovertible para las llamadas médicas, donde, en no pocas ocasiones, no basta el conocimiento que puedan traer á la mente las manifestaciones de un cuadro sintomático completo, determinado por las distintas alteraciones impresas á los órganos y aparatos, de cuya perfección y armonía funcional depende la vida, para separar de una manera absoluta la lesión dominante y poder aplicar el tratamiento más adecuado. Los dos tercios del mal éxito en el tratamiento de las enfermedades, dependen, sin duda, de error en el diagnóstico; error, hasta excusable, si se quiere exigir al clínico que á la cabecera del enfermo, auxiliado por sus conocimientos semeíóticos, más ó menos ensanchados por una experiencia larga y un ojo clínico certero, aísle entre las tantas y variadas manifestaciones morbosas, las que correspondan á tal ó cual enfermedad. Si me lo permitís diré que en ese caso el clínico, basado en algo más ó menos probable, sienta una hipótesis, sobre cuya base, quizá falsa, va á fundar un tratamiento. Pero cómo es distinto cuando la bacteriología ó la química patológicas lo auxilian para establecer el diagnóstico, confirmando ó modificando el concepto de la hipótesis formada ya! Esta con sus seguros medios de investigación analítica y sintética, haciéndonos ver la alteración sufrida por los productos orgánicos; y aquélla demostrándonos la causa de la enfermedad, ya en las alteraciones sufridas por un medio de cultivo, ora reflejando sobre nuestros ojos, por medio del examen micoscópico y del reactivo colorante la imagen de una preparación donde se halla la causa eficiente de la enfermedad,

ya confirmando su tesis con la observación de una experiencia hecha sobre animales de distinta especie donde una pequeña inoculación puede llegar á reproducir los síntomas esenciales de una enfermedad específica, nos lleva al conocimiento exacto de la causa y nos pone en aptitud de atacarla para evitar sus efectos.

De ahí la importancia del estudio de la bacteriología, y más, si cabe, la necesidad imperiosa de acudir á la investigación bacteriológica, cuando nos toca enfrentarnos con enfermedades infecciosas, donde el conocimiento etiológico, es, quizá, el único medio que nos conduce á emprender un tratamiento racional y con probabilidades de eficaz, ya que atacando la causa pueden suprimirse los efectos y reconstituir al organismo de la acción destructora determinada por los agentes patógenos, ya por sí, ya por sus productos más ó menos sépticos.

Por tales razones, he emprendido con gusto el estudio de la difteria desde el punto de vista bacteriológico, recogiendo en distintos autores los datos en que parece resumirse la última palabra sobre el asunto, para someter á vuestro ilustrado y benevolente criterio este pequeño trabajo. ¡Ojalá que al juzgarlo con vuestra sabia benevolencia, me concedáis su aprobación!

Razón de gratitud me obliga á consignar aquí los nombres de personas que me son queridas y por quienes guardaré siempre mi cariñoso afecto.

Mi buena madre, que ha sabido guiarme y compartir conmigo las penas y privaciones inherentes al estudiante que emprende una carrera larga y difícil, sin más recursos para sostenerla que el producto de fatigoso, pero honrado trabajo.

El señor doctor don Juan J. Ortega, digno Decano de la Facultad y fundador del Laboratorio bacteriológico de la Escuela de Medicina, quien ya con sus sabias lecciones, ya brindándome bondadosa protección, me ha prestado muy valioso apoyo para la consecución de mis ideales.

El señor Presbítero doctor don Domingo Arroyo, á quien debo sabios y provechosos consejos.

El señor don Víctor Sánchez Ocaña y su digna esposa, señora doña María Robles de Sánchez, quienes me han favorecido con su amistad.

El señor doctor don Juan Ignacio Toledo, mi maestro de clínica médica, que me ha honrado con muestras de inmerecida distinción.

Y, en general, todos mis maestros de cuyas lecciones y consejos tendrá siempre grato recuerdo.

Todos, se dignarán hacerme el honor de aceptar en esta oportunidad, las muestras sinceras de mi respetuoso afecto é imperecedera gratitud.

### Algo sobre la difteria desde el punto de vista bacteriológico.

La difteria es conocida desde la más remota antigüedad. Hipócrates hace mención de ella, según Littré. Pero el concepto de tal entidad morbosa estaba basada solamente en su sintomatología y de ahí que recibiera nombres tan variados, todos en consonancia con el síntoma dominante: la dificultad respiratoria. Bretonneau establece su diferenciación clínica; Trousseau comprueba su especificidad; Klebs encuentra un microbio en las falsas membranas, microbio que aisla y estudia en sus efectos nocivos Loeffler, cuyos estudios son comprobados por Roux y Yersin. Desde entonces, el estudio patogénico de la enfermedad determina inapreciables progresos en la profilaxia y tratamiento. Aislado el veneno elaborado por el basilo de Klebs-Loeffler, estudiados sus efectos, se llega con admirable facilidad, á la seductora concepción de la antitoxina y de la vacunación antidiftérica.

La difteria humana tiene por carácter anatómico, una falsa membrana que aparece de ordinario sobre las amígdalas y la úvula, constituyendo la difteria faríngea ó angina diftérica; la falsa membrana puede aparecer en otros puntos: en la laringe (crup ó difteria laringea), en las fosas nasales (coriza diftérico), en la tráquea, bronquios y subdivisiones bronquiales (traqueitis, bronquitis y bronco-pneumonía diftérica), en la mucosa de la boca, en la de la vagina, en la del ano, sobre la conjuntiva y aun sobre la piel, cuando por cualquier causa ha perdido su epidermis. Es una afección grave que puede hacer

perecer al enfermo mecánicamente (como en el crup) ó por la intoxicación general determinada por la absorción de los productos sépticos de su germen. Aun en los casos benignos deben temerse las complicaciones, entre las cuales, la principal está constituida, sin duda, por las parálisis secundarias, llamadas diftéricas, que pueden aparecer en distintas regiones.

Por el estudio microscópico de las falsas membranas diftéricas, se descubrieron diversas especies de bacterias, cuya significación en el proceso patológico es bien diversa. Al lado de la especie verdaderamente patógena, causa evidente de la infección diftérica, tan contagiosa y á veces tan grave, se encuentran otras, probablemente accidentales, que pueden observarse en las mucosas sanas. Bien puede ser que tomen parte en la formación de la falsa membrana y que favorezcan la vegetación del parásito principal.

En el año de 1883, Klebs encontró en la falsa membrana bacilos muy pequeños que consideró como específicos de la difteria. Loeffler aisló y cultivó ese micro-organismo, que encontró en falsas membranas de la faringe y de la tráquea y en el jugo pulmonar de un caso de bronco-pneumonía diftérica. En 1885 Darier confirmó las investigaciones de Loeffler; pero los estudios más completos se deben, sin duda, á Roux y Yersin, quienes comprobaron la presencia del bacilo de Klebs-Loeffler en todos los casos de difteria verdadera que pudieron analizar. Dichos experimentadores pudieron reproducir la difteria típica en animales inoculados con sus cultivos, difteria con falsas membranas y seguida de parálisis secundarias análogas á las observadas en el hombre. También encontraron en sus cultivos una

sustancia tóxica, soluble, que mataba violentamente á los animales ó producía parálisis, según la dosis inyectada, y con absoluta ausencia del microbio vivo. Hechos todos que vinieron á determinar no pocos importantes progresos en el tratamiento y profilaxia de la enfermedad.

Si se colora con una solución de metileno (el azul de Loeffler, (1) por ejemplo) un corte de la falsa membrana diftérica y de la mucosa á la cual se adhiere, se observa que las partes superficiales están formadas por la aglomeración de pequeños bacilos, al estado de pureza ó mezclados á otros bacilos, á cocos aislados ó á cocos en cadena; á los primeros debe atribuirse la enfermedad.

Los caracteres morfológicos del bacilo de la difteria sufren variaciones determinadas por su origen, variaciones que es indispensable prever para no errar en el diagnóstico. En general son *bastoncitos* rectos ó encorvados, sin movimiento, de extremidades redondeadas, ligeramente ensanchadas. Son tan largos como el bacilo de la tuberculosis, teniendo doble grueso que aquéllos ( $2\frac{1}{2}$  á 3 milésimas de milímetro de largo, por 0.5 á 0.7 de grosor). Al asociarse afectan muy variadas formas: unas veces forman una V más ó menos abierta, otras una L, otras semejan una palizada, ó se juntan irregularmente, como resultaría un puñado de agujas que se arrojan sobre una plancha de mármol.

Las soluciones acuosas simples lo coloran mal, no así las soluciones alcohólicas, de las cuales son

(1) Azul de Loeffler:

Solución de potasa al 1/10,000 .....	3 cent. cúb.
Solución alcohólica de azul de Metileno .....	1 cent. cúb.
Mz.	

muy empleadas el azul de Loeffler (1), la solución de Ziehl (2) y el azul de Roux (3). No se decolora por el Gram.

Los cultivos de la bacteria diftérica pueden hacerse en diversos medios: caldo, gelatina, gelosa, suero, papas, leche, albúmina de huevo coagulada, etc. Se desarrolla á una temperatura que varía entre 20° y 40°. La temperatura más favorable á su desarrollo es de 35°.

En un caldo que se mantenga á la temperatura de 37°, se desarrolla el bacilo á las 12 ó 24 horas de la inoculación. El aspecto de las colonias es el de pequeños grumos blanquecinos, que se sitúan de preferencia en el límite del líquido y la pared del vaso.

El desarrollo en gelatina se hace con dificultad, por la temperatura baja que hay que sostener para evitar la fusión de aquel medio.

En la gelosa el desarrollo se hace muy bien.

La papa parece favorecer muy poco el aparecimiento de las colonias, talvez por la acidez de su jugo.

(1) Véase la nota de la página 11.

(2) Solución de Ziehl:

Ácido fénico cristalizado .....	5. gramos
Alcohol .....	10. gramos
Fuchsina .....	0.25 centígramos
Agua destilada .....	100. gramos
Mz.	

(3) Azul de Roux:

Solución a.—Violeta de dalia .....	1 gramo
Alcohol á 90° .....	10 gramos
Agua destilada .....	90 gramos
Solución b.—Verde de metilo .....	1 gramo
Alcohol á 90° .....	10 gramos
Agua destilada .....	100 gramos
Mz.—½ de la solución a con ⅓ de la solución b.	

Sobre albumina de huevo cocido, se desarrollan las colonias en 24 horas (temperatura 35° á 39°), y aparecen pequeñas, redondas, de un color mate, gris, poco transparente y en contraste con el blanco del huevo. Cuando no se tiene suero á la mano, el cultivo sobre clara de huevo constituye poderoso auxiliar en el diagnóstico.

Pero el medio más adecuado es el suero y, principalmente, el suero peptonizado según el consejo de Loeffler y que se obtiene mezclando tres partes de suero de sangre de buey ó de carnero, con una parte de maceración de carne de buey, peptonizada y azucarada al 1% y adicionada de cloruro de sodio al 0.05%.

El bacilo de Klebs-Loeffler tiene una gran vitalidad: cultivos de seis meses y un año han dado nuevo y perfecto desarrollo al inocularlos en el caldo; Roux y Yersin han hecho muy buenos cultivos con falsas membranas secas y conservadas diez y ocho meses en la oscuridad.

Su virulencia es muy variable. Se calcula por inoculación á otros animales, principalmente al *cuyo* (conejillo ó cochinillo de Indias). Un bacilo muy virulento mata á un *cuyo* de 300 á 400 gramos en 24 á 36 horas; uno medianamente virulento lo mata en 2 á 5 días; uno poco virulento lo mata en 8 á 10 días y á veces, apenas determina una lesión local, edema seguido de escara en el sitio de la inyección.

Para justipreciar la virulencia deben hacerse las inoculaciones con cultivos jóvenes, pues la edad del cultivo es un factor que hay que tomar en cuenta; la virulencia disminuye con la edad de los cultivos, principalmente cuando están en presencia del aire. Muchas otras circunstancias, como el calor, la luz, la acción de los antisépticos, etc., influyen en la atenuación de la virulencia microbiana.

Se sabe muy poco respecto á las modificaciones que el bacilo imprime al medio en que vive. En el caldo hay producción de ácido; la acidez persiste si no hay renovación del aire ó si el caldo es glicerinado; de lo contrario, la reacción se hace alcalina.

La particularidad que más llama la atención, á este respecto, es la producción en el medio en que el microbio se desarrolla, de una sustancia tóxica especial, á cuya acción se deben los efectos que determina en los organismos vivos.

Loeffler había supuesto ya la existencia del *veneno diftérico* é hizo notar que en el hombre atacado de difteria ó en el animal inoculado experimentalmente, el bacilo se encontraba solamente en la infección local y no en la sangre ó en los órganos, como sucede con otras enfermedades infecciosas. Esta circunstancia le hizo suponer que la acción nociva era debida á una sustancia tóxica, producida por el bacilo. La existencia del *veneno* fué demostrada por Roux y Yersin, quienes afirman que "la difteria es una intoxicación causada por un veneno muy activo formado por el microbio en el lugar en que se desarrolla." Para ello se valieron de muy variadas experiencias, que sería prolífico describir, basadas todas en la filtración de los cultivos en bujías de porcelana y, demostrada la falta de microbios en el producto de la filtración por medio del examen microscópico, inoculación subcutánea á animales como el *cuyo*, en donde pudieron reproducir los síntomas de la enfermedad y aun, sus lesiones anatómopatológicas.

La experimentación sobre animales es muy importante; se pueden emplear el *cuyo*, el conejo, el perro, las palomas, los pájaros, etc. De todos, el más á

propósito, el llamado con razón "reactivo de experimentación" es el *cuyo*.

La rata y el ratón son refractarios.

De tres modos pueden hacerse las experiencias en el *cuyo*: por *inoculación subcutánea*, por *inoculación intraperitoneal*, y por *inoculación sobre las mucosas*.

La primera da los mejores resultados. Según la virulencia del cultivo empleado, la inyección bajo la piel, de medio á un centímetro cúbico de un caldo de cultivo reciente, mata al *cuyo* en un tiempo que oscila entre uno y dos ó tres días. En la autopsia se observan las siguientes lesiones: revestimiento membranoso, gris, limitado al punto de la inoculación, especie de pequeña falsa membrana y un edema gelatinoso más ó menos extendido á las partes vecinas; dilatación general de los vasos; congestión de los ganglios y de los órganos internos, sobre todo de las cápsulas suprarrenales; esplenización del tejido pulmonar; derrame seroso ó sero sanguinolento de la pleura y del pericardio.

En la inoculación intraperitoneal los resultados son más lentos.

Para inocular las mucosas, se hace una exoriación sobre la faringe, la conjuntiva ó la vulva y se toca el lugar lesionado con un hilo de platino que se ha introducido previamente en el cultivo. Inmediatamente se produce una falsa membrana típica. Si se inocula la mucosa traqueal de un *cuyo* ó un conejo se reproduce el verdadero *crup* con falsas membranas.

La inoculación del caldo de cultivo filtrado en una bujía de porcelana, es decir, la inoculación de la *toxina diftérica*, produce en los *animales sensibles* los mismos efectos que se obtienen por la inoculación de cultivos vivos.

A parte de la boca y faringe de los individuos enfermos ó en convalecencia, el bacilo puede hallarse en

los medios exteriores: Park, de Nueva York, en 1892, lo aisló del agua de tocador de un diftérico; Abel, en 1893, lo encontró sobre juguetes que usaba un niño atacado de crup; Wright y Emerson, aseguran haberlo hallado con todas sus propiedades virulentas en el polvo del aposento de un diftérico, en los cabellos de una enfermera y en los vestidos de personas que habían estado cerca de los enfermos.

La vitalidad y virulencia de los bacilos de las falsas membranas y de los productos patológicos, puede conservarse durante largo tiempo. Ya dijimos que dos sabios experimentadores (Roux y Yersin) obtuvieron cultivos típicos de falsas membranas desecadas y conservadas en la oscuridad durante diez y ocho meses. Los cultivos que se protegen contra la acción del aire y de la luz, conservan durante mucho tiempo su virulencia; igual cosa debe suceder con los productos patológicos, cuando naturalmente se hallan en condiciones semejantes: así, los paños que usa el enfermo, sucios con falsas membranas ó espumtos diftéricos, si se encuentran en un espacio más ó menos cerrado, en la oscuridad y á una temperatura favorable, pueden contener durante mucho tiempo el germe morboso y ser en apariencia inofensivos. Esto viene á constituir, sin duda, uno de los más admisibles medios de trasmisión de la enfermedad.

Pero, aparte de esas condiciones, cuando los bacilos están expuestos al aire libre, á la desecación en presencia de mucho aire, á alternativas de sequedad y humedad, y más si se les expone á la acción directa de los rayos solares, la vitalidad y la virulencia desaparecen en muy poco tiempo. La acción de la luz es de las más notables; membranas expuestas al aire y al sol, pierden la vitalidad y virulencia de sus bacilos en menos de dos meses, mientras que al

abrigó de aquellos agentes naturales de desinfección, permanecen con caracteres activos durante mucho tiempo; la luz solar es mucho más nociva á la vida de los bacilos que la luz difusa.

Según Roux el virus no resiste á una temperatura húmeda de  $58^{\circ}$  sostenida durante algunos minutos; al estado seco soporta bien, sin perecer, durante una hora, la temperatura de  $98^{\circ}$ . Un calor húmedo de  $100^{\circ}$  será, pues, suficiente para su completa destrucción.

Una de las condiciones que más favorecen la diseminación del bacilo en el medio exterior, facilitando el contagio, es la persistencia, algunas veces prolongada, del bacilo, dotado de virulencia más ó menos grande, en la boca de las personas que han sido atacadas de difteria. En algunos casos el bacilo desaparece con las falsas membranas ó poco tiempo después; otras veces, sin perder su virulencia, permanece semanas y meses, sin que nada permita suponer la presencia del agente específico, de manera que viene á constituir un verdadero peligro de contagio.

El bacilo de Klebs-Loeffler es muy sensible á los antisépticos. Chantemesse y Widal, experimentando con hilos de seda sumergidos en un cultivo virulento, desecados á la estufa y colocados después durante uno, dos ó tres minutos en la solución antiséptica por ensayar, han obtenido los siguientes resultados. Según ellos, el agua de cal, el tanino en solución acuosa al 2%, el ácido carbólico al 1%, el ácido bórico al 4%, el sulfato de cobre y el de zinc al 0.5%, el agua naftolada, el agua salolada, el ácido salicílico en solución alcohólica al 5%, el percloruro de hierro en solución acuosa al 1%, el biioduro de mercurio al 0.5%, sólo ó con ácido tártrico ó cítrico,

no dan sino resultados mediocres después de tres minutos.

La siguiente mezcla es considerada como muy activa; esteriliza inmediatamente:

Glicerina .....	25 gramos
Ácido fénico puro .....	5 gramos
Alcanfor .....	20 gramos

Agítese y téngase 10 minutos en baño de maría.

Por el reposo se divide en dos capas, que se mezclan agitándolas. Es ligeramente cáustica.

D'Espine y Marignac han observado que el sublimado al 1 por mil, el ácido salicílico al 1 por dos mil y el zumo ó jugo de limón, suspenden el desarrollo de los cultivos.

Barbier se muestra muy adicto á la solución de fenol sulfo-ricinado al 20%, que considera esterilizante.

Loeffler preconiza como bactericida para los cultivos y como medio eficaz en el tratamiento local de la difteria, la siguiente mezcla:

Mentol .....	10 gramos
Para disolver en toluol .....	36 cent. cúb.
Alcohol absoluto .....	60 — —
Percloruro de hierro líquido .....	4 — —

Esta mezcla debe conservarse en frascos amarillos tapados al esmeril y se aplica por medio de un pincel de hilas ó de algodón sobre la región enferma.

La difteria del hombre es una infección local. El microbio se fija y se desarrolla en uno ó muchos puntos del organismo, sobre todo en las mucosas y principalmente en la mucosa respiratoria y también en las heridas de los tegumentos. El veneno que secreta se difunde en la sangre y á él se deben los síntomas y accidentes generales que le son peculiares. La enfermedad debe considerarse, pues, como una verdadera intoxicación.

La manifestación local es la *falsa membrana*, exudado de fibrina y de mucina producido por la mucosa alterada, que engloba á leucocitos y á bacterias. Al principio puede haber restos del epitelio de la mucosa, después faltan por completo los dichos elementos. La *falsa membrana* es delgada, opalina, bastante blanda, pero puede espesarse, ponerse gris, dura; se desprende con facilidad y deja al descubierto la mucosa que está roja, sangrante y á veces ulcerada; se reproduce con facilidad y al desarrollarse puede abarcar extensas superficies. Si se hace un corte en una membrana endurecida se ve que está constituida por dos capas, una profunda, adherente á la mucosa, y desprovista de bacilos, y la otra superficial, menos organizada, pero con el distintivo principal de contener los bacilos agrupados más ó menos regularmente, solos ó asociados á otros microorganismos (bacilos, cocos, estreptococos) que provienen de la boca y son de alguna significación en el pronóstico. Por orden de frecuencia podemos decir que, las falsas membranas se observan en la tránsboca, la laringe, las fosas nasales, la traquea, los bronquios, la boca, la trompa de Eustaquio, el oído medio, la conjuntiva, el prepucio, el glande, el ano, el escroto, la vulva, el útero. Es raro que se desarrollen en las mucosas que no se ponen en contacto del aire, como las del esófago, del estómago, del intestino. Ya dijimos que también se han observado sobre las heridas.

Recordemos que la falsa membrana no es patognomónica de la difteria y que hay otros micro-organismos que pueden producirla con caracteres más ó menos semejantes á la simple vista, pero cuya diferenciación es fácil establecer por el examen microscópico.

La asociación de otros micro-organismos al bacilo de Klebs-Loeffler, se observa en algunos casos de difteria; se pueden hallar de muy diversas especies en la falsa membrana, y es fácil cultivarlos por separado según los procedimientos ordinarios. De esos pequeños seres, unos son saprofitos, que se hallan normalmente en la boca ó en las fosas nasales y otros, por el contrario, son especies netamente patógenas, que agregan su acción especial, á la del bacilo de la difteria, imprimiendo, en no pocos casos, modificaciones muy particulares que agravan el estado del paciente. Considerese, pues, el interés que debe tener el médico por el análisis microscópico de la *falsa membrana*, análisis que va á demostrarle la clase de bacterias que contiene, de cuyo conocimiento puede deducir un pronóstico favorable ó fatal.

El más importante de los socios del bacilo de la difteria es el *estreptococcus pyogenes*. Así se trate de una angina, como de un crup diftérico, la asociación del estreptococo constituye siempre una circunstancia grave que hace el pronóstico aterrador.

Entre otros de los observados señalaremos el *micrococcus pyogenes aureus*, el *micrococcus pyogenes albus*, el *pneumococo*, el *colibacilo*, el *micrococcus tetragenus*, el *leptotrix bucalis*, etc.

La investigación y comprobación del bacilo de la difteria tiene gran importancia desde el punto de vista de la precisión del diagnóstico; todos los médicos debieran estar familiarizados con la técnica que para ello se emplea, pues es el único medio en que el clínico puede basar un diagnóstico preciso y, además, ya vimos que el examen de la falsa membrana permite establecer el pronóstico, según la clase de microbios que contenga. Cuando no hay falsas membranas, el diagnóstico es imposible sin el análisis bacteriológico.

Para establecer el tratamiento es indudable la importancia del diagnóstico preciso; recordemos que la eficacia del suero está en relación de la prontitud con que se aplique y que en las pseudo-difterias es casi inútil.

Considerado desde el punto de vista profiláctico es mayor, si cabe, la importancia del diagnóstico bacteriológico, ya que, como expresamos en otro lugar, hay casos en que no obstante haber desaparecido las falsas membranas y los síntomas funcionales de la difteria, pueden quedar en la boca los agentes de la infección, que recibidos por otro individuo dan lugar al contagio; ó permite comprobar la presencia del bacilo en enfermos cuyo estado particular no deja apreciar los síntomas objetivos de la infección. El aislamiento se impone como medio profiláctico

¿En cuántos casos de angina simple ó de rinitis fibrinosa, de poca significación para el paciente, no se ha comprobado la presencia del bacilo de la difteria, con todas sus propiedades vitales y virulentas, constituyendo temible amenaza para todas las personas que se acercan al enfermo, sin alterar en mucho el funcionalismo del portador del tal bacilo, tal vez por razones de receptividad?

Razón sobrada tienen, pues, los maestros que aconsejan el examen bacteriológico en todos los casos, por benignos que se manifiesten.

El diagnóstico bacteriológico de la difteria comprende tres operaciones principales: a) examen directo del exudado; b) cultivo del exudado; c) inyección de los cultivos.

a) *Examen directo del exudado.* Se toma una partícula de la falsa membrana ó de la exudación que la cubre y se extiende sobre una laminilla, por medio

de una aguja de platino esterilizada; se seca y se fija en la llama de una lámpara de alcohol y luego se colorea con azul de Loeffler ó azul de Roux. Despues del lavado consiguiente, se examina la preparación al microscopio con un objetivo fuerte ó con el de inmersión; se puede comprobar la presencia de los pequeños grupos característicos que forma el bacilo en las falsas membranas. Si el examen diere un resultado negativo, no estamos autorizados para asegurar que no hay bacilos; bien puede suceder que estén en muy poco número, ó que otros elementos enmascaren su presencia. El examen directo es siempre recomendable, pues aun en el caso de no encontrar el bacilo específico, se pueden hallar otras especies microbianas, y á la vez cabe formarse una idea de la estructura de la falsa membrana.

*b) Cultivo.* Para obtener positivas ventajas, en esta operación, deben usarse medios de cultivo donde el bacilo diftérico se desarrolle antes que las otras especies que pudieran estar asociadas; recomendamos el suero de Loeffler, el suero ordinario, la gelosa. Loeffler emplea un suero adicionado de  $\frac{1}{2}$  de caldo que contiene 1% de peptona, 1% de glucosa y 0.5% de cloruro de sodio. Para sembrar el microbio se coagula previamente el medio. El bacilo germina rápidamente; las colonias pueden verse al cabo de 12 horas. Roux aconseja el suero ordinario coagulado. De todos los sueros se usan más el de buey y el de caballo. La técnica de la siembra es la siguiente: se toma un hilo de platino y se frota sobre la falsa membrana fresca; con ese hilo se inoculan sucesivamente dos ó tres tubos de suero, haciendo dos estrías en cada uno; los tubos se colocan en la estufa á 35° y, si es posible, al abrigo de la luz. Antes de 18 ó 20 horas se puede examinar el cultivo.

Un cultivo de falsa membrana diftérica que se examina en la décima quinta hora permite ver, en número más ó menos considerable, las colonias del bacilo específico, afectando la forma de pequeñas manchas redondas, prominentes, del volumen de una cabeza de alfiler, de color blanco gris, opacas en el centro y transparentes en la periferie. A medida que envejecen las colonias, se agrandan conservando sus caracteres morfológicos y la coloración gris.

El examen microscópico debe hacerse sobre el mayor número de colonias que sea posible, para precisar mejor el diagnóstico. Una partícula de colonia extendida sobre la laminilla, fijada y sometida á la acción de los reactivos colorantes, como para las falsas membranas, deja ver los caracteres propios del bacilo, de cuyos caracteres pueden hacerse precisas deducciones para el pronóstico.

Con esas colonias bien aisladas se siembran los caldos destinados á las inoculaciones experimentales.

Son muy pocas las especies bacilares que se desarrollan tan pronto sobre el suero como el bacilo diftérico: la mayor parte pueden distinguirse por los caracteres de sus colonias y por los efectos producidos con la inoculación de sus cultivos puros.

*c) Inoculación de los cultivos.* Si el análisis microscópico de las falsas membranas y de las colonias que se desarrollan en los cultivos, nos prestan incomparables medios para reconocer la existencia de la difteria en un individuo, poco ó casi nada deducimos si se trata de investigar la virulencia del agente infeccioso. Para ello se necesita recurrir á la experimentación sobre los animales, inoculando los cultivos puros. Apesar de que Martin asegura que los bacilos cortos son poco virulentos y los largos muy activos, la experiencia demuestra que no es del todo

cierta tal afirmación, según el decir de Maces. El mayor ó menor número de colonias diftéricas que se desarrollen en un medio de cultivo, puede darnos una indicación; un bacilo virulento da más colonias que otro poco virulento.

Para hacer el examen completo y poder afirmar con precisión el grado de virulencia del bacilo, es indispensable recurrir á la inoculación al *cuyo*, de un cultivo puro. Para ello se toma una colonia típica y se siembra en un caldo; se tiene dos días en la estufa á 35°. Un centímetro cúbico de cultivo inyectado, según la técnica enunciada en otro lugar, nos permite apreciar, por los efectos que produce, el grado de virulencia del bacilo. Si el animal muere con los signos característicos, se tiene la prueba incontestable de la naturaleza diftérica del producto; la hora de la muerte más ó menos aproximada al momento de la inoculación da el grado de actividad del microbio.

## PROPOSICIONES

ANATOMÍA.—Traquea.

HISTOLOGÍA.—Tejido epitelial.

BOTÁNICA MÉDICA.—Digitalis purpúrea.

ZOOLOGÍA MÉDICA.—Oxiurus vermicularis.

FÍSICA MÉDICA.—Aspirador de Dieulafoy.

QUÍMICA MÉDICA INORGÁNICA.—Iodo.

QUÍMICA MÉDICA ORGÁNICA.—Ácido salicílico.

FISIOLOGÍA.—Secreción interna del cuerpo tiroides.

PATOLOGÍA GENERAL.—Receptividad morbosa.

PATOLOGÍA INTERNA.—Difteria.

PATOLOGÍA EXTERNA.—Estrechez del esófago.

MEDICINA OPERATORIA.—Traqueotomía.

HIGIENE.—Profilaxia de las enfermedades infecciosas.

CLÍNICA QUIRÚRGICA.—Valor diagnóstico del dolor á la presión bipolar, en las fracturas.

CLÍNICA MÉDICA.—Respiración tipo: Cheyne-Stokes.

TERAPÉUTICA.—Suero anti-diftérico.

OBSTETRICIA.—Enfermedades del amnios.

BACTERIOLOGÍA.—Funciones, localización y papel patogénico de las bacterias.

MEDICINA LEGAL.—Pruebas de la vida extrauterina del niño.

GINECOLOGÍA.—Vaginismo

ANATOMÍA PATOLÓGICA.—Degeneración grasa.

FARMACIA.—Supositorios.

TOXICOLOGÍA.—Aparato de Marsh para la investigación del arsénico.