ELEMENTOS

DE

BACTERIOLOGÍA

POR EL DOCTOR

JOSÉ G. HERNÁNDEZ

Profesor de la Universidad Central. - Miembro de la Academia de Medicina

SEGUNDA EDICION

CARACAS
EMPRESA "EL COJO"
1922

1922
e.2

ELEMENTOS

DE

BACTERIOLOGÍA

POR EL DOCTOR

JOSÉ G. HERNÁNDEZ

Profesor de la Universidad Central. - Miembro de la Academia de Medicina

SEGUNDA EDICION

CARACAS
EMPRESA "EL COJO"
1922

Universidad Central de Venezuela

El día seis de noviembre de mil ochocientos noventa y uno, el ciudadano Rector Dr. Elías Rodríguez, dió posesión del destino de Catedrático de la Clase de Histología Normal y Patológica, Fisiología Experimental y Bacteriología, nombrado en esta fecha según Oficio del ciudadano Ministro de Instrucción Pública; ofreció cumplir fielmente los deberes de su encargo, el ciudadano Dr. José Gregorio Hernández.

Elías Rodríguez.

José G. Hernández.

Vte. G. Guánchez,
Secretario.

Esta sencilla Acta universitaria, tiene una significación trascendental en los anales científicos de Venezuela, toda vez que marca el punto de partida de la magna obra de renovación emprendida y llevada a feliz término en el seno de la Ciencia Médica Nacional, por el cerebro privilegiado y la fuerte voluntad de nuestro sabio maestro el doctor José Gregorio Hernández.

La accidentada evolución histórica de la Medicina venezolana, ofrece al análisis crítico tres acontecimientos

que como vértices luminosos señalan orientaciones nuevas a las corrientes intelectuales del gremio: la creación del Protomedicato el año de 1777, por iniciativa del doctor Lorenzo Campins Vallester; el célebre decreto expedido por Bolívar en 1827, derogativo de las Constituciones universitarias y que llevó a Vargas al Rectorado; y la aparición en la Universidad Central el año de 1891 de las Cátedras de Histología Normal y Patológica, Fisiología Experimental y Bacteriología, fundamento inconmovible de nuestra actual Medicina científica.

La importancia de los dos primeros sucesos ha sido ya puesta de relieve por la serena investigación histórica; y para apreciar debidamente la intensa actuación reformadora de José Gregorio Hernández, bástanos recordar: que fué él quien introdujo por primera vez entre nosotros la técnica indispensable para el estudio de los tejidos normales y patológicos de la economía; el primero que coloreó y cultivó los microbios en Venezuela, y el primero que con la *vivisección* sacó la Fisiología de la penumbra de escolasticismo nebuloso en que vegetaba hasta entonces en nuestro medio, y la colocó bajo el sol esplendoroso de la experimentación contemporánea.

Al publicar pues esta segunda edición de sus ELEMENTOS DE BACTERIOLOGÍA, muévenos tan sólo el proposito de prolongar en el tiempo la función docente del Maestro, procurando se convierta en halagüeña realidad su esperanza «de que el conocimiento de la Bacteriología se extienda y generalice cada vez más entre nosotros y se despierte entonces el deseo de profundizar esta ciencia por medio del estudio de sus autores clásicos».

Toca a las presentes y futuras generaciones médicas, evitar que la palabra del sabio se pierda en el vacío de una culpable indiferencia, y acreditar con labor fecunda y provechosa, la veneración y el respeto que a todos nos merece la memoria del creador de la Biología Experimental en Venezuela.

TEMÍSTOCLES CARVALLO.

Caracas: 1922.

PRÓLOGO

Los elementos de Bacteriología que hoy ofrecemos al público, puede decirse que son el resumen de las lecciones profesadas en la Cátedra de Bacteriología de la Universidad Central, desde el día de su inauguración hasta la fecha. La enseñanza dada durante estos quince años ha sido bastante laboriosa para nosotros, porque aunque hay un crecido número de obras de Bacteriología, muchas de ellas de un gran valor científico, ninguna está completamente acomodada a las necesidades de nuestro programa universitario; de suerte que en realidad nos hemos encontrado sin un texto conveniente, es decir, que estuviera de acuerdo con la organización de los estudios médicos entre nosotros.

Movidos, pues, por el deseo de ser útiles a la juventud estudiosa de nuestro país, hemos emprendido este pequeño trabajo, con el cual pensamos que se harán fáciles y gratos estos estudios; y con la esperanza de que el conocimiento de la Bacteriología se extienda y generalice cada vez más entre nosotros y se despierte entonces el deseo de profundizar esta ciencia por medio del estudio de sus autores clásicos.

En efecto, la Bacteriología es la ciencia que presenta más al vivo el espectáculo admirable de una evo-

lución sin igual, por la rapidez de sus numerosos descubrimientos, y por la gran perfección a que han llegado sus métodos de investigación. Pero este adelanto sorprendente no se queda encerrado solamente en sus dominios científicos, sino que como es una ciencia mórfológica, y al mismo tiempo una ciencia fisiológica, sus descubrimientos tienen una gran resonancia, un éco simpático, en casi todas las ramificaciones de la Biología.

Y como su objeto son los seres infinitamente pequeños, tócale a ella no solamente hacer el análisis de las primeras manifestaciones, de las manifestaciones elementales de la vida, sino que por razón de la influencia que esos seres microscópicos ejercen en los animales y en el hombre, produciendo las enfermedades, la Bacteriología forma la parte verdaderamente científica de la Etiología o Ciencia de las causas.

Es por esto que podemos afirmar que la luz que la Bacteriología proyecta hacia la Medicina, es de tal intensidad, que a causa de ella sola ha progresado más en estos últimos años, que lo que había adelantado en los muchos siglos que se cuentan de medicina científica.

Por lo que a nosotros toca, hemos experimentado un vivo placer al escribir esta pequeña obra; porque además de que servíamos, en la medida de nuestras fuerzas, a la ciencia venezolana, hemos siempre tenido presente el pensamiento con que Cruveilhier termina el prólogo de su Tratado de Anatomía: que escribir una obra científica es propiamente entonar un canto de alabanza a la Gloria infinita de Dios, Creador del Universo.

Caracas: 1906.

José G. Hernández.

ELEMENTOS DE BACTERIOLOGIA

PRIMERA PARTE

BACTERIOLOGIA GENERAL

TRATADO PRIMERO

BACTERIOLOGIA TEORICA GENERAL

CAPITULO I

Definición—División—Resumen histórico

Definición.—La Bacteriología es la ciencia que estudia los microbios. Se llaman microbios o bacterias, aquellos seres vivos elementales, de tamaño sumamente pequeño, y que en general, para verlos se necesita del auxilio del microscopio. Llámase también la Bacteriología: Microbiología y Patología experimental bacteriológica.

División.—La Bacteriología se divide en Bacteriología general y Bacteriología especial. La Bacteriología general es aquella parte de la Bacteriología que estudia los caracteres comunes a todos los microbios. La Bacteriología especial enseña las propiedades individuales de los microbios separadamente.

Técnica.—La Bacteriología es una ciencia experimental, que tiene su Técnica propia; la Técnica bacteriológica se divide en Técnica general y Técnica especial. La Técnica general es la parte de la Técnica bacteriológica que hace conocer todos los instrumentos y las operaciones que se usan en el estudio de los microbios; la Técnica especial enseña el método experimental que sirve para estudiar un microbio determinado.

Historia.—La Bacteriología es una ciencia de reciente invención. Leeuwenhœck a principios del siglo diez y ocho (1632–1723), vió por primera vez estos organismos pequeñísimos, para lo cual se servía de un sistema simple de lentes biconvexas; los dibujó, y hasta llegó a considerarlos como los agentes ciertos de la putrefacción.

Müller a fines del mismo siglo diez y ocho (1786) y Ehrenberg a principios del siglo diez y nueve (1833) hicieron un ensayo de clasificación de los microbios.

Pero fué Pasteur el que a mediados del siglo diez y nueve (1860), reconoció y demostró que las fermentaciones eran producidas por esos seres microscópicos; y él fué quien al mismo tiempo inventó la técnica para su estudio. La Bacteriología fué, pues, creada por Pasteur.

Fué Davaine quien en 1863, guiado por los descubrimientos de Pasteur, llegó a señalar el primer microbio como causante de una enfermedad; y este fué el Bacillus anthracis en la Pústula maligna.

Y posteriormente la Técnica bacteriológica fue grandemente perfeccionada por Koch en Alemania.

CAPITULO II

Reino a que pertenecen los microbios.—Familias en que se clasifican

Reino a que pertenecen.—Los primeros observadores creyeron que los microbios pertenecían al Reino animal, y por eso los llamaron animálculos; pero los

estudios posteriores han demostrado que unos son del Reino vegetal y otros del Reino animal.

Los microbios vegetales se diferencian de los animales por un conjunto de caracteres, de los cuales ninguno tomado separadamente es suficiente para establecer una distinción completa. Los principales son los siguientes: la forma de los microbios vegetales se acerca más a la forma cristalina, con caras casi planas, con ángulos y aristas bastante pronunciadas y con líneas curvas más puras.

Los elementos del Reino animal tienen una forma más irregular; sus líneas son menos geométricas. Ambos poseen la estructura celular, pero los animales están formados por células más perfectas. Los microbios vegetales elaboran ciertas sustancias propias de las plantas, como la celulosa, las féculas, pigmentos análogos a la clorofila, que algunos tienen realmente. Ninguna de estas sustancias se encuentra en los microbios animales.

Tanto los microbios vegetales como los animales se reproducen por división; pero los microbios vegetales tienen una manera de multiplicarse que les es peculiar; esta es la reproducción por medio de espórulos.

Otro carácter muy usado desde los tiempos pasados para distinguirlos, es la acción que sobre ellos ejercen ciertas sustancias químicas; la estricnina, por ejemplo, y la quinina son muy venenosas para los microbios animales, en tanto que son casi inofensivas para los microbios vegetales; en cambio, el arsénico mata los microbios vegetales y es muy poco nocivo para los microbios animales.

Los microbios vegetales son en su mayor parte inmóviles, y los que se mueven lo hacen por medio de pestañas vibrátiles, que es una manera de movimiento muy elemental. Los microbios animales son todos o casi todos movibles, y su movimiento es por medio de pseudo-podos, producidos para efectuar el movimiento llamado amiboideo.

Familias a que pertenecen.—Los microbios vegetales pertenecen a las algas, según la opinión de la ma-

yor parte de los bacteriologistas; la razón es porque son elementos unicelulares independientes, que no tienen micelio; y porque aunque en su mayor parte, están desprovistos de clorofila, muchos hay que tienen pigmentos análogos a este.

Estos son los microbios vegetales propiamente dichos, o bacterias; pero junto con ellos se describen generalmente dos grupos de hongos; los Hiphomicetes, que comprenden el Aspergillus, el Penicillium y el Mucor; y los Blastomicetes, que encierran las levaduras.

Los microbios animales están en la clase de los Protozoarios.

CAPITULO III

DE LOS MICROBIOS VEGETALES

Denominación.—Morfología—Tamaño

Denominación.—El nombre común de Bacterias fué inventado por Cohn en 1872; y el de Microbios, lo fué por Sédillot en 1878.

Los microbios se denominan generalmente en latín, por medio de un nombre genérico, y otro específico o individual. El nombre genérico se les da según la forma fundamental que los microbios tienen; el específico por algún otro carácter notable, como la manera de estar agrupados, la función sobresaliente del microbio, el nombre de su descubridor o el de algún personaje célebre.

Morfología.—Los microbios pueden presentar tres formas fundamentales distintas: la esférica, la cilíndrica y la espiral. Los microbios esféricos se llaman Coccus; los cilíndricos Bacillus y los de forma espiral Spirillum.

Coccus.—Los Coccus pueden estar colocados irregularmente los unos junto a los otros y entonces se llaman Micrococcus; como el Micrococcus prodigiosus. Si la

agrupación tiene alguna semejanza con un racimo de uvas, se los llama Staphylococcus; como el Staphilococcus pyogenes aureus.

A veces los coccus se presentan unidos de dos en dos y a estos se les da el nombre de Diplococcus; ejemplo el Diplococcus pneumoniæ. Otras veces van unidos en grupos de cuatro elementos, y entonces se llaman Tetrada, Merista o Merismopoedia, como la Merismopoedia flava varians. Y como en algunos casos la agrupación consta de ocho coccus, entonces se la llama Sarcina; ejemplo: Sarcina ventriculi, Sarcina lutea.

Los coccus pueden también estar colocados los unos después de los otros formando cadenas más o menos largas; algunas veces muy largas y arrolladas sobre sí mismas; se llaman entonces Streptococcus o Torula, como el Streptococcus erysipelatis, la Torula cereviciæ.

Los coccus colocados de un modo irregular y unidos entre sí por una sustancia de aspecto gelatinoso, se llaman Zoogleas; como la Zooglea mesenteroides. En el caso de estar la zooglea rodeada de una membrana envolvente, se la llama Ascococcus, como el Ascococcus Billrothii.

Bacillus.—La forma cilíndrica presenta las variedades siguientes:

Se llaman Bacterium aquellos microbios de forma cilíndrica, de tamaño muy pequeño, que casi parecen coccus, como el Bacterium termo. Si el microbio tiene la forma de un cilindro un poco alargado, entonces se le llama con el nombre genérico común de Bacillus, como el Bacillus lepræ.

Si los bacillus están unidos entre sí, formando cadena, se llaman Streptobacillus; como el Streptobacillus Pfeifferii. Los microbios que tienen la forma de un cilindro ensanchado en el centro, que son fusiformes, se llaman Clostridium, como el Clostridium fœtidum.

Si el microbio tiene la forma de un cilindro muy largo se llama Leptothrix; ejemplo, el Leptothrix buccalis.—En el caso de que el cilindro alargado presente una vaina envolviente, aunque sea poco perceptible, se

llama Crenothrix, ejemplo, el Crenothrix polyspora. Si los cilindros envainados presentan granos de azufre en su interior, entonces se llaman Thiothrix, como el Thiothrix tenuissima.

Sucede a veces que los bacillus se unen los unos a los otros, de manera que parecen elementos ramificados, pero que realmente es una falsa ramificación; estos microbios se llaman Cladothrix, como el Cladothrix dichotoma.

Si los bacillus se unen formando filamentos con ramificaciones verdaderas y presentan una vaina gelatinosa, se llaman Streptothrix; ejemplo el Streptothrix cuniculi. Y en el caso de que los microbios unidos entre sí, no tengan vaina gelatinosa, pero contengan granos de azufre, se llaman Beggiatoa, como la Beggiatoa alba.

Spirillum.—La tercera forma fundamental de los microbios es la espiral.

Puede suceder que el microbio sea muy corto, de suerte que la espiral no esté completamente desarrollada y que sólo presente una vuelta; en este caso el microbio tiene la forma de una coma, de un paréntesis, y entonces se llama Vibrio, como el Vibrio Metschnikovii.

Si la espiral está bien delineada y presenta dos o tres vueltas, el microbio lleva el nombre de Spirillum, como el Spirillum rubrum. Y en el caso de ser la espiral bastante larga, se denomina Spirochæte, como el Spirochæte obermeieri.

Pleomorfismo.—La sola forma no basta para clasificar un microbio, pues además de que muchos microbios distintos pueden tener una muy semejante, sucede a veces que un mismo microbio presenta varias formas, como el Bacillus anthracis que puede tener la forma bacilar simple, la forma esporulada y la forma filamentosa. Esta propiedad de presentar varias formas el mismo microbio se llama pleomorfismo.

Tamaño de los microbios.—Los coccus más pequeños tienen cinco a seis décimas de micromilímetro de diámetro, como el Staphylococcus pyogenes albus; los

más grandes llegan a tener un micromilímetro o 1,25 μ de diámetro, como el Micrococcus tetragenes.

Los bacillus menores, llamados bacterium, tienen de longitud 2 a 3 μ por 0.3 μ a 0.4 μ de ancho; los más grandes pueden tener en la forma bacilar simple, hasta 10 μ de largo por 1 ó 1½ μ de ancho; pero los leptothrix que son los más largos en la especie bacilar, pueden llegar a tener 30 μ de longitud por 1½ μ de anchura.

Microbios invisibles.—Es sabido que para que un cuerpo sea visible, es necesario que produzca una alteración durable de la onda luminosa. Se puede suponer que aquellos cuerpos pequeñísimos cuyo diámetro sea menor que la amplitud de la vibración luminosa, serán siempre invisibles a pesar de la gran perfección a que pueda llegar el microscopio.

Lo que la teoría hacía solamente sospechar, es hoy un hecho admitido por todos los bacteriologistas. Hay microbios que se pueden cultivar, cuyas colonias se ven claramente, que inoculados producen enfermedades; pero cuyos individuos son perfectamente invisibles. Tales son los microbios de la Peripneumonía de los bovideos, los de la Fiebre aftosa, los de la Horse-sickness, los de la Peste bovina y otros.

CAPITULO IV

Estructura de los microbios

Los microbios están formados por una membrana que limita una cavidad, y una sustancia contenida en ella, análoga al protoplasma de las células histológicas, y llamada también protoplasma.

Membrana.—La membrana se percibe mejor por medio de la plasmolisis, es decir, haciendo penetrar por ósmosis en el interior del microbio, sustancias que determinan la retracción del protoplasma.

Se presenta como una lámina de doble contorno, trasparente y homogénea. Los fuertes aumentos revelan que está compuesta de dos hojillas; una externa, llamada hojilla gelatinosa, y una interna que se denomina la hojilla cuticular.

Lo hojilla externa, que está en relación con el medio ambiente, suele a veces absorber los líquidos que la bañan, y así llega a ser relativamente gruesa, en cuyo caso se llama cápsula.

La cápsula en la generalidad de los casos forma una capa continua en toda la superficie del microbio; otras veces no existe sino en un lado de él como en el Bacterium pediculatum. En algunos casos la cápsula es seca, semejante a la sustancia fundamental del cartílago hialino como en el Ascococcus Billrothii; otras veces es semejante a la cera, como en el Bacillus tuberculosis; y por último, a veces es de naturaleza grasosa, como en el Bacillus smegmatis.

La cápsula es de muy difícil coloración, y se necesitan métodos especiales para colorearla.

La hojilla interna está en relación con el protoplasma del microbio; es siempre muy fina y de aspecto homogéneo, trasparente y elástica. Se cree que tiene pequeñas aberturas por donde salen las formaciones especiales llamadas flagella, en los microbios que las tienen.

La composición química de la membrana no está bien conocida todavía. Unos como Nencki, creen que está formada por una condensación de las capas periféricas del protoplasma, y que en consecuencia está formada de micoproteina. Otros piensan que está constituida por celulosa; otros han hallado la fórmula $(C^6 H^{10} 0^5)^n$ propia de los hidratos de carbono, sin obtener las reacciones peculiares a la celulosa.

Flagella.—En algunos microbios la membrana presenta unos apéndices especiales semejantes a las pestañas vibrátiles de las células histológicas, llamados Flagella, por lo cual a estos microbios se los llama Tricobacterias, y se llaman Gimnobacterias a los que están desprovistos de flagellas.

Las tricobacterias se dividen en monotriquias si tienen una sola pestaña en una extremidad; lofotriquias, si tienen un haz de pestañas en una de sus extremidades; anfitriquias si en cada extremidad tienen una o más pestañas; y en el caso de que las pestañas estén implantadas en todo el cuerpo, se las llama peritriquias.

Las flagellas son filamentos sumamente finos, de longitud variable; de 3 μ a 5 μ en el Bacillus coli communis; de 6 μ a 8 μ en el Bacillus typhosus; de 20 μ a 30 μ en el Spirillum undula. Presentan gran resistencia a la coloración y se necesitan, para obtenerla, de métodos especiales, como para obtener la coloración de la membrana.

Las pestañas o flagella son para algunos bacteriologistas, verdaderos apéndices de la membrana del microbio; y apoyan esta opinión en la semejanza de los métodos de coloración empleados para colorar los flagella y la membrana. Otros creen que son finas expansiones del protoplasma del microbio, que pasan al través de pequeñas aberturas de la membrana; y fundan su opinión, en que tanto el protoplasma como los flagella son contractiles, mientras que la membrana no lo es.

No en todos los microbios movibles se han podido descubrir los flagella. En cambio todas las tricobacterias presentan movilidad. Los micrococcus generalmente no tienen flagella, son verdaderas gimnobacterias; apenas se conocen dos o tres especies flageladas, como son el Micrococcus agilis, la Sarcina mobilis.

Hay bacillus que tienen un flagellum en una de sus extremidades, como el Bacillus pyocyaneus. Otros tienen dos pestañas, una en cada extremidad, como el Bacillus subtilis. Algunos tienen cuatro o seis que nacen de toda la superficie del cuerpo, son peritriquias, como el Bacillus coli communis. Y se encuentran especies que poseen hasta diez y ocho y veinte y cuatro pestañas, como el Bacillus typhosus.

Los vibriones pueden tener, como los bacillus, una sola pestaña en una extremidad, como el Vibrio

Metschnikovi; o una o más pestañas en cada extremidad, como el Vibrio choleræ asiaticæ.

Los Spirillum pueden tener un flagellum en una extremidad como el Spirillum rugula. Y hay algunos con una o más pestañas en cada extremidad, como el Spirillum undula.

En el caso de tener flagella los microbios que están unidos formando cadenas o filamentos, los flagella se hallan en el primer anillo y en el último solamente; pero al separarse los individuos, reaparecen los flagella en cada uno de ellos, como se puede observar en el Proteus vulgaris.

Protoplasma.—La sustancia contenida en el interior de la membrana del microbio, se presenta a un primer examen con un aspecto homogéneo; pero estudiándola con un fuerte aumento se distinguen claramente la sustancia protoplasmática y granulaciones incluidas en ella.

La sustancia protoplasmática se colora fuertemente por los colores básicos de la anilina; una vez coloreada, se vé que está constituida por láminas o tabiques que circunscriben cavidades o areolas de diverso tamaño, y que probablemente están llenas de una materia semilíquida.

Las areolas están dispuestas unas veces en forma radiada partiendo del centro geométrico del microbio como en el Chromatium Okenii. Otras veces en forma de planos perpendiculares al eje, principalmente en las formas alargadas, como en el Spirillum rugula. En ciertos casos hay una sola vacuola central, como en el Bacillus oxalaticus.

Estos son los dos caracteres fundamentales del protoplasma: el de tener estructura alveolar, y el de colorearse enérgicamente por los colores básicos de la anilina, a la manera de la cromatina nuclear de las células histológicas.

El protoplasma de los microbios presenta una gran resistencia a la acción de los ácidos y de los alcalis que destruyen el protoplasma de las otras células; generalmente se tiñe de amarillo por el yodo, pero hay casos

en que el yodo tiñe el protoplasma de azul, como sucede con el Bacillus butyricus, con el Spirillum amyliferum; con esta reacción se ponen en evidencia las sustancias amiláceas disueltas en el protoplasma.

Granulaciones.—Las granulaciones contenidas en el protoplasma son muy variadas.

Hay las granulaciones esporógenas de Ernst, llamadas también gránulos rojos, que se coloran de rojo por el azul de Löffler en caliente, y se diferencian por el bruno de Bismark.

Los gránulos esporíferos de Bunge, coloreables, después de tratados por un occidante como el ácido crómico, el bioxido de sodio u otro, por el método de coloración de los espórulos; se encuentran en el Bacillus megaterium y otros muchos microbios.

Los gránulos cromáticos de Bütschli coloreables por la hematoxilina, por el verde de metilo ácido y otros coloreantes nucleares; se hallan en el Bacterium lineola y otros microbios.

Las granulaciones thiógenas o sulfurosas, verdaderos thioleucitas, que son solubles en el sulfuro de carbono, y que se encuentran en las sulfobacterias, como en el Thiothrix nivea.

Las granulaciones proteicas de Mígula las cuales se encuentran en varios microbios, como el Baccillus oxalaticus. Las granulaciones de glicógeno, que tratadas por el cloroyoduro de zinc se coloran de rojo bruno.

Las granulaciones de pigmento que se encuentran en algunas especies cromógenas, como en el Beggiatoa roseo persicina.

Núcleo.—En el interior del microbio no se percibe corpúsculo nuclear alguno. Para explicar esta carencia de núcleo, sabiéndose la importancia de este corpúsculo en la vida de las células, unos bacteriologistas suponen con Bütschli que casi la totalidad de la sustancia contenida en el interior de la membrana sería un núcleo, el cual estaría separado de la membrana por una delgada lámina de protoplasma difícilmente perceptible.

Otros bacteriologistas y biologistas opinan con Henneguy que el núcleo no existe como órgano separado del protoplasma, sino que se encuentra diseminado en él, en forma de gránulos o filamentos de sustancia nuclear.

CAPITULO V

Actividades Fisiológicas

Los microbios como todos los seres vivos, presentan ciertas actividades que son la manifestación de la vida, las cuales son las actividades de nutrición, de movimiento y de multiplicación.

Actividades de nutrición

Las actividades o funciones de nutrición comprenden la asimilación, la desasimilación, la respiración y las elaboraciones.

Asimilación.—Los microbios son células generalmente desprovistas de clorofila; así es que viven como parásitos de las sustancias orgánicas animales o vegetales.

Estas sustancias orgánicas, bien sean sustancias albuminoideas, o sustancias grasosas o azúcares y féculas, se encuentran disueltas o en suspensión en el medio ambiente del microbio, y podemos suponer que pasan al través de la membrana por endosmosis, lo mismo que las sales, para venir a formar parte del cuerpo del microbio.

Las albúminas podrán ser así fijadas por el protoplasma del microbio, y reemplazar las que antes existían; bien que lo más frecuente será que previamente su molécula sea modificada de manera que venga a ser igual a la de la albúmina del protoplasma.

Esta transformación de las albúminas del medio ambiente, en albúminas del protoplasma del microbio,

será producida por diastasas convenientemente elaboradas por el microbio.

Pero algunos microbios colocados en soluciones puramente minerales, en los que se han llamado caldos minerales, se desarrollan perfectamente; lo cual indica que ellos pueden producir las albúminas por síntesis y asimilarlas. Funcionan como las células provistas de clorofila, y podemos suponer que lo hacen de la manera siguiente:

Primeramente formación del aldehido fórmico a expensas del anhidrido carbónico.

$$\underset{\text{anhidrido carbónico}}{CO^2} + \underset{\text{agua}}{H^2O} = \underset{\text{aldehido fórmico}}{COH^2} + \underset{\text{oxígeno}}{O^2}$$

En seguida elaboración del ácido cianhídrico sirviéndose del ácido nítrico de los nitratos, de la manera siguiente:

$$\underset{\text{ácido nítrico}}{2\,Az\,O^3H} + \underset{\text{formaldehido}}{5C\,H^2O} = \underset{\text{ácido cianhídrico}}{2\,C\,Az\,H} + \underset{\text{anhidrido carbónico}}{3\,C\,O^2} + \underset{\text{agua}}{5\,H^2O}$$

Y por último reacción entre el aldehido fórmico y el grupo cianhídrico; reacción que da por resultado la producción de la albúmina.

$$\underset{\text{aldehido fórmico}}{66\,C\,H^2O} + \underset{\text{ácido cianhídrico}}{17\,C\,Az\,H} = \underset{\text{albúmina elemental o proteina}}{C^{62}H^{103}Az^{17}O^{23}}$$

$$+ \underset{\text{ácido glicólico}}{5\,C^2H^4O^3} + \underset{\text{ácido oxálico}}{5\,C^2H^2O^4} + \underset{\text{anhidrido carbónico}}{C\,O^2} + \underset{\text{agua}}{8\,H^2O}$$

Además, hoy está perfectamente demostrado que varios microbios asimilan el azoe gaseoso de la atmósfera, lo cual viene a confirmar esta hipótesis de la formación sintética de la albúmina.

Los azúcares igualmente pasan al través de la membrana del microbio y se asimilan inmediatamente en el caso de ser de la misma naturaleza de los que existen en el protoplasma; o pueden ser modificados, si es que

son diferentes. Los microbios pueden también producirlos por síntesis, polimerisando el aldehido de la manera siguiente:

$$\underset{\text{aldehido fórmico}}{6\ C\ H^2O} = \underset{\text{glicosa}}{C^6H^{12}O^6}$$

o cualquiera otro azúcar; y también pueden formar materias amiláceas o celulósicas por deshidratación de una o más moléculas de glicosa.

$$\underset{\text{glicosa}}{N\ (C^6H^{12}O^6)} = \underset{\text{materia amilácea o celulósica}}{(C^6H^{10}O^5)^N} + \underset{\text{agua}}{N\ (H^2O)}$$

Los materias grasas son también necesarias para la construcción del protoplasma; ellas vienen del medio alimenticio en que vive el microbio, en donde casi siempre se encuentran o emulsionadas o saponificadas; de ambas maneras pasan la membrana del microbio y,o son fijadas en el protoplasma inmediatamente, o antes sufren cambios en su molécula.

Se admite comunmente que pueden ser elaboradas las materias grasas por síntesis en el interior del microbio; y esto mediante dos operaciones: formación del ácido graso y luego producción de la glicerina.

Por fermentación de la glicosa el microbio produce el ácido graso.

$$\underset{\text{glicosa}}{C^6H^{12}O^6} = \underset{\text{ácido butírico}}{C^4H^8O^2} + \underset{\text{ácido carbónico}}{2\ C\ O^2} + \underset{\text{hidrógeno}}{2\ H^2}$$

Por hidrogenación del aldehido fórmico produce la glicerina.

$$\underset{\text{formaldehido}}{3\ C\ H^2O} + \underset{\text{hidrógeno}}{H^2} = \underset{\text{propil-glicerina}}{C^3H^8O^3}$$

Después:

$$\underset{\text{glicerina}}{C^3H^8O^3} + \underset{\text{ácido butírico}}{3\ C^4H^8O^2} = \underset{\text{tributirina}}{C^{15}H^{26}O^6} + \underset{\text{agua}}{3\ H^2O}$$

Y así mismo puede formar cualquiera otra grasa.

La energía necesaria para producir esas transformaciones moleculares, se la procura el microbio descomponiendo aquellas moléculas ricas en energía, y transformándolas en moléculas menos ricas en energía o del todo inertes.

De esta manera el Bacillus lacticus transforma la glicosa en ácido láctico.

$$\underset{\text{glicosa}}{C^6H^{12}0^6} = 2\ \underset{\text{ácido láctico}}{C^3H^60^3}$$

Esta transformación *se hace de tal* manera, que la totalidad del peso de la glicosa se encuentra en el ácido láctico; de lo cual podemos inferir que ella no tiene por objeto el proveer al microbio de la materia necesaria para la construcción del protoplasma.

En cambio la cantidad de energía contenida en las moléculas de glicosa es mayor que la contenida en el ácido láctico, puesto que un gramo de glicosa produce 3.739 Calorías, y un gramo de ácido láctico sólo produce 3.661; el Bacillus lacticus ha puesto en esta operación 78 Calorías en libertad, y estas calorías le han servido para construir las moléculas de su protoplasma.

Desasimilación.—Los microbios para efectuar la elaboración de las moléculas de su protoplasma, necesitan transformar las moléculas alimenticias del medio en que viven; estas transformaciones dejan una mayor o menor cantidad de residuos que vienen a formar la desasimilación del microbio.

La desasimilación varía con los distintos microbios, y para un mismo microbio puede variar según los diferentes medios en que se cultive. Estos productos de desasimilación pueden ser volátiles o fijos. Los volátiles son: el hidrógeno, el ácido carbónico, los hidrocarburos, el hidrógeno sulfurado o el fosforado y aun el telurado.

Pueden ser también ácidos grasos como el ácido butírico, el valeriánico u otros. El ácido butírico se

reconoce agregando una traza de alcohol etílico y ácido sulfúrico al líquido del cultivo y calentando luego; se desarrolla un olor de fresas debido al éter butírico que se produce.

Pueden ser amoniacos compuestos; mercaptanes, el metilo o el de alilo, que extraídos del líquido del cultivo por el éter, se revelan, dejando evaporar el éter, por su olor típico. Y con frecuencia los microbios producen fenol, escatol e indol; este último que sirve para distinguir algunos microbios que lo producen de otros, se reconoce por sus reacciones especiales, entre otras por la reacción de Salkowski, por la de Nencki o por la de Weyl–Legal.

Reacción de Salkowski.—Se toma un cultivo del microbio en solución de peptona, se le añade un centímetro cúbico de solución de nitrito de potasio al dos por diez mil, y luego un centímetro cúbico de solución de ácido sulfúrico químicamente puro, al uno por cuatro; si el cultivo contiene indol, se produce un matiz de color de rosa.

Reacción de Nencki.—Se añaden al cultivo dos o tres gotas de ácido acético cristalisable, luego tres centímetros cúbicos de alcohol–éter; se mezcla, se deja reposar y se decanta el éter que se evapora en una cápsula de porcelana; al residuo se le añaden dos gotas de la solución de nitrito de potasio al dos por diez mil, y algunas gotas de ácido sulfúrico puro. Si hay indol aunque sea en mínima cantidad se presenta el color de rosa.

Reacción del Weyl-Legal.—Agregando diez gotas de solución de nitro–prusiato de soda al cinco por ciento, y otras tantas gotas de legía de soda al treinta por ciento al cultivo, toma éste un tinte bruno; después se le añaden quince gotas de ácido acético cristalisable; si hay indol se produce un tinte azul al cabo de algunas horas.

Los más notables productos fijos de desasimilación son amidas y aminas; la leucina que se reconoce por sus cristales y por la reacción de Scherer, que se efectúa

evaporando el líquido de cultivo mezclado con ácido nítrico, y el residuo calentado con una solución de soda se colora de amarillo.

La tirosina que se pone de manifiesto en el líquido de cultivo, calentándolo con ácido sulfúrico concentrado, después de evaporado, y al redisolverlo se presenta una coloración roja que es fugaz. Y muchas veces se encuentra la glicocola que se puede reconocer en los líquidos de cultivo por sus cristales que son grandes prismas clinorrómbicos.

Respiración.—Los microbios se dividen por su respiración, según Pasteur, en dos grandes clases: los aerobios y los anaerobios.

Son aerobios aquellos microbios que absorben el oxígeno del aire, el que está en solución en el agua o el que está en combinación instable. Este oxígeno les sirve para la combustión y transformación de las sustancias que entran en su constitución.

Los aerobios son ávidos de oxígeno. Engelmann lo demostró examinando al microscopio una gota de agua que contenía microbios y algunas algas verdes, sobre las que hacía caer un rayo de luz disperso; los microbios se movían rápidamente hacia las algas, y se colocaban de preferencia hacia el rojo que es en donde hay mayor desprendimiento de oxígeno por acción de la clorofila.

Como ejemplo de microbios aerobios se pueden citar el Bacillus anthracis, el Bacillus typhosus, el Bacillus diphteriæ, el Micrococcus prodigiosus, el Diplococcus pneumoniæ y otros muchos.

Son anaerobios aquellos microbios que no necesitan del oxígeno del aire para vivir; y aun para la mayor parte de ellos este gas es completamente tóxico.

Sin embargo los anaerobios también necesitan del oxígeno para vivir; pero el oxígeno que emplean es el combinado; y para procurárselo descomponen las moléculas muy oxigenadas y forman otras menos ricas en oxígeno; son verdaderos agentes de reducción. Pasteur reservaba el nombre de fermentación para estas

transformaciones moleculares producidas independientemente del oxígeno.

Los anaerobios son anaerobios estrictos, siempre que sea imposible cultivarlos en presencia del aire aunque esté en pequeña cantidad. Tales son el Bacillus septicus, el Bacterium Chauvæi, el Bacillus fragilis.

Otros se denominan anaerobios facultativos, o aero-anaerobios, porque admiten trazas de aire en el cultivo, como el Bacillus tetaui; o porque al fin se pueden cultivar en presencia del aire, como el Bacillus pseudo-œdematis maligni.

Los espórulos de los anaerobios soportan sin perecer la presencia del aire, aunque sea por mucho tiempo.

Elaboraciones.—Los microbios son agentes activos de elaboraciones; las sustancias producidas pueden quedarse incluidas en el protoplasma del microbio, y entonces se llaman elaboraciones endoplásticas; o pueden ser arrojadas al exterior del microbio, y entonces se llaman elaboraciones exoplásticas.

Elaboraciones endoplásticas. Son poco conocidas; las granulaciones que están en el protoplasma son las principales elaboraciones endoplásticas y quizás son las únicas. Dado el pequeñísimo tamaño de los microbios, se comprende que en el interior del protoplasma, no pueden quedar muchas sustancias, ni en mucha cantidad.

Elaboraciones exoplásticas. Estas elaboraciones han sido mejor estudiadas, y son de una grande importancia, puesto que ellas sirven para la clasificación de los microbios.

Unos microbios producen diastasas como principal sustancia elaborada; son los microbios zimógenos y los saprógenos.

Otros microbios elaboran principalmente toxinas o toxalbúminas; estos son los microbios patógenos.

Hay muchos microbios que producen sustancias colorantes o pigmentos; son los cromógenos.

Y por último, otros microbios elaboran sustancias fosforescentes; estos son los microbios fotógenos.

Las elaboraciones exoplásticas, al principio están en el interior del microbio en donde permanecen por un tiempo más o menos largo; después se difunden en el medio ambiente, con rapidez variable para cada una de ellas.

Funciones de movimiento

Entre los microbios hay unos que son inmóviles, mientras que otros presentan movimientos de traslación, movimientos de rotación sobre su eje, oscilaciones u otros movimientos.

Gota pendiente.—Para estudiar los movimientos de los microbios se emplea el método de la gota pendiente, que se hace colocando una pequeña gota del líquido en que están los microbios en una lámina cubre-objeto, la cual se coloca sobre una lámina porta-objeto excavada de Koch, de tal suerte que la gota quede pendiente en la excavación, y se estudia al microscopio.

Coccus.—Los coccus son en general inmóviles; sólo presentan un movimiento de trepidación, que no es otro que el movimiento browniano, aunque muchos bacteriologistas han creído que se trataba de un movimiento vital.

Se conocen solamente entre los coccus como especies móviles, el Micrococcus agilis, el Micrococcus agilis flavus, la Sarcina mobilis.

Bacillus.—Entre los bacillus se encuentran muchas especies móviles, como el Bacillus typhosus, el Bacillus coli communis, el Bacillus pyocyaneus, el Bacillus subtilis y varios otros.

Spirillum.—Los spirillum presentan también especies dotadas de movilidad, como son: el Vibrio septicus, el Vibrio choleræ asiaticæ, el Spirillum tenue y otros.

Los movimientos en estas especies son debidos a las pestañas vibrátiles o flagella que poseen; pero hay

especies movibles en las cuales no se han podido ver las pestañas, como la Beggiatoa alba; en ellas el movimiento se produce por la contractilidad propia del protoplasma probablemente.

Quimiotaxia.—Los movimientos de los microbios se producen a causa de su irritabilidad química, llamada también la quimiotaxia de Pfeiffer.

Hay sustancias químicas que ejercen acción atractiva sobre los microbios, entonces se dice que la quimiotaxia es positiva. Así obran las sales de potasio, la peptona, la asparragina y otras.

Hay sustancias que ejercen una acción repulsiva sobre estos gérmenes; ejercen entonces la quimiotaxia negativa; tales son el alcohol, los ácidos y los alcalis en soluciones concentradas y varias otras.

El oxígeno ejerce quimiotaxia positiva sobre los aerobios y negativa sobre los anaerobios.

El sentido de la quimiotaxia es independiente de la acción útil o nociva de la sustancia química sobre el microbio; así hay algunos antisépticos que producen quimiotaxia positiva, mientras que algunas sustancias alimenticias, la producen negativa.

La movilidad existe en el microbio mientras se encuentra colocado en buenas condiciones, respecto al medio de cultivo, y a la temperatura. En general, en los cultivos viejos los microbios pierden casi siempre la facultad de moverse.

Muchas especies movibles, como el Bacillus subtilis y otros, pierden su movilidad durante la esporulación.

Las aglutininas inmovilizan los microbios, y las temperaturas muy altas, o muy bajas producen el mismo resultado.

Si los microbios se colocan en soluciones salinas fuertes, se inmovilizan, y recuperan los movimientos al diluírseles la solución salina. Y algunas especies cultivadas en ciertos medios de cultivo, o por otras circunstancias poco conocidas, pierden su movilidad; así en el intestino se encuentra el Bacillus coli communis inmóvil, al lado de otros Colibacillus movibles.

Reproducción

Los microbios se multiplican de dos modos distintos: por atroesporulación, que también se llama división simple; y por endoesporulación, llamada generalmente esporulación.

La multiplicación por división es la manera general de reproducirse los microbios, común a todos ellos, bien sean coccus, bacillus o spirillum.

La endoesporulación sólo se encuentra en algunos bacillus y spirillum, aunque se citan el Micrococcus ochroleucus y la Sarcina pulmonum como coccus capaces de multiplicarse por esporulación.

División.—La división en los bacillus y spirillum se produce de la manera siguiente: terminado el desarrollo del microbio, empieza la multiplicación, por la formación gradual de un tabique que divide el protoplasma en dos partes; este tabique va haciéndose cada vez más grueso, hasta llegar a superar el espesor de la membrana del microbio; entonces su parte media se licúa, y en seguida se separan los dos microbios.

No se conocen los fenómenos de la división del protoplasma, que debe anteceder a la aparición del tabique, el cual será elaborado probablemente por cada una de las dos porciones del protoplasma.

Los coccus en el momento de dividirse se alargan, tomando una forma elipsodea; luego en el ecuador del microbio aparece una depresión o hendedura que cada vez se pronuncia más, hasta que por fin divide el coccus en dos partes, las cuales al separarse adquieren la forma propia del microbio primitivo.

Si en lugar de un plano ecuatorial de división, hay dos, uno ecuatorial y otro meridiano, resulta una merismopoedia; y si los planos son tres, se obtiene una sarcina.

La división empieza tanto más pronto en el microbio, cuanto más rico es el medio de cultivo; hay algunos microbios, que a las dos horas de haber sido

producidos, ya empiezan a multiplicarse; otros tardan varios días, y aun semanas para empezar a dividirse.

El tiempo que dura el fenómeno de la división, está también en relación con las circunstancias más o menos favorables al desarrollo, en que se encuentra el microbio. En los microbios de evolución rápida es de veinte a cuarenta minutos. El Bacillus typhosus gasta treinta minutos en dividirse, si la división empieza a las ocho horas de sembrado; y setenta minutos, si el cultivo es de veinte y cuatro horas.

Esporulación.—La multiplicación por esporulación se observa en los bacillus o spirillum que se encuentran en malas condiciones de nutrición; ella tiene por objeto, la producción de un elemento de resistencia contra los agentes destructivos, llamado el espórulo.

Así, luego que un microbio se halla en circunstancias desfavorables a su desarrollo, por privación de agua, o de oxígeno; o porque el medio alimenticio se le ha hecho insuficiente, se vuelve inmóvil, si es que antes era movible; su protoplasma se pone turbio, más granuloso que antes; y en un punto de él aparece un gránulo esférico u ovoideo, sumamente pequeño, brillante y refringente; este gránulo se llama el prospórulo.

El prospórulo crece lentamente hasta que su diámetro llega a ser igual al diámetro transversal del microbio, o a veces algo mayor; en cuyo caso éste presenta un ensanchamiento, o una gibosidad en el punto en que está el corpósculo, que entonces se llama el espórulo.

Espórulo.—El espórulo permanece más o menos tiempo en el interior del microbio, hasta que licuándose la membrana de éste, viene a quedar en libertad en el líquido ambiente.

El espórulo está caracterizado por las propiedades especiales de ser esférico u ovoideo; de tener una gran refringencia, de ser muy brillante. Presenta una gran

resistencia a la coloración, de suerte que se necesitan métodos especiales para colorearlo. También resiste fuertemente a los agentes de destrucción: es la forma de resistencia de los microbios.

Está compuesto de una membrana y una sustancia contenida en su interior. La membrana es gruesa, bien visible, y está formada de dos hojillas: una exterior, llamada el exosporo; y una interna, aplicada sobre la sustancia del espórulo, llamada el endosporo.

La sustancia del espórulo es homogénea, carece de granulaciones, y es incolora casi siempre; en el Bacillus erythrosporus es roja, y en otros es verdosa. Presenta el aspecto de una pequeña gota de grasa, y Koch dice que el espórulo del Bacillus anthracis está formado de una gota de grasa, envuelta en una delgada lámina de protoplasma, y por fuera la membrana. Otros creen que es una sustancia albuminoidea.

Ordinariamente no hay sino un espórulo para cada microbio; en el Bacillus *inflatus* y en el Bacillus ventriculus hay dos espórulos.

El diámetro del espórulo es de 0,2 μ o 0,4 μ hasta 1 μ, y en algunas especies grandes llega hasta 1½ μ. Presenta una duración indefinida, citándose casos en que los espórulos persistieron durante varios años, conservando su vitalidad.

Colocado en un medio nutritivo, y en una temperatura convenientes, el espórulo reproduce el microbio; primeramente se produce la dehiscencia del exosporo; el protoplasma pierde en gran parte su refringencia, y se enturbia; luego crece quedando cubierto por el endosporo, que le forma una membrana delgadísima; sale al través de la hendedura del exosporo, que se licua por completo y desaparece; y al poco tiemo alcanza el tamaño y la forma del microbio que había producido el espórulo.

En el Bacillus ramosus el desarrollo gasta siete horas, desde que se coloca el espórulo en el cultivo, hasta que se producen los bacillus adultos.

Hay especies que poseyendo la facultad de esporular, la pueden perder a causa de varias circuns-

tancias; así el Bacillus anthracis cultivado a la temperatura de 42½°, se desarrolla bien, pero se hace asporógeno, es decir, que ya no puede producir espórulos, y en lo sucesivo sólo se reproducirá por división.

Duración de los microbios.—La duración de la vida de los microbios no se conoce de una manera cierta.

Es sabido que los espórulos tienen una resistencia mucho mayor que los microbios, de suerte que se conservan durante largo tiempo capaces de germinar, sobre todo si se les mantiene privados de aire, de luz y tambien de sustancias antisépticas. Así se han podido obtener cultivos de Tyrothrix, sirviéndose de espórulos conservados durante 9, 14, 17 y 19 años.

Los microbios que no esporulan, se mantienen vivos durante un tiempo que también es relativamente largo, aunque menor que el de los espórulos, siempre que estén privados de aire, de luz y de antisépticos. Un cultivo de Micrococcus prodigiosus, y otro de Bacillus pyocyaneus, estaban todavía vivos a los diez años.

Mantenidos en los cultivos según el método ordinario, la duración de la vida de los microbios varía según las distintas especies; así el Bacillus influenzæ debe resembrarse cada quince días, porque después de este tiempo los bacillus se encuentran muertos; igual cosa le sucede al Diplococcus pneumoniæ; mientras que el Bacillus tuberculosis permanece vivo en los cultivos durante muchos meses.

CAPITULO VI

Clasificación de los microbios

Los microbios se clasifican generalmente por sus funciones; es la clasificación fisiológica.

Unos microbios presentan como actividad funcional sobresaliente la de producir fermentaciones: estos son los microbios zimógenos.

Otros microbios que tienén la misma actividad funcional que los anteriores, pero que atacan de preferencia los cuerpos albuminoideos, haciendoles entrar en fermentación pútrida, o putrefacción, son los microbios saprógenos.

Hay microbios que producen enfermedades en el hombre y en los animáles; los cuales se llaman microbios patógenos.

Algunos microbios segregan materias colorantes variadas, y por eso se llaman microbios cromógenos.

Y finalmente, se llaman microbios fotógenos los que tienen la propiedad de producir sustancias fosforecentes.

CAPITULO VII

Microbios zimógenos

Se llama fermentación la transformación de un cuerpo en otro u otros, por la acción de una *diastasa. Los microbios zimógenos* producen, pues, la fermentación indirectamente, por medio de una sustancia especial, formada por ellos y llamada fermento soluble, enzima, zimaza o diastasa.

Diastasas.—Los microbios elaboran las diatasas a expensas de las moléculas alimenticias, o de las de su protoplasma; o bien por síntesis. Esta elaboración se hace mediante dos operaciones sucesivas: primeramente producción de la prodiastasa o prozimasa, y en seguida transformación de esta prodiastasa en la diastasa definitiva; esta última operación se llama zimogénesis.

La fórmula química de las diastasas nos es desconocida, porque no se han podido obtener completamente puras. Una de ellas, la invertina, presenta la composición siguiente: C = 44.20 ; H=8.50 ; Az = 6.4 ; S=0.63 ; O=41.47 ; cenisas, formadas prin-

cipalmente de fosfatos, veinte por ciento. En suma, más se acercan por su composición a las nucleínas que a las albúminas.

Son solubles en el agua y en la glicerina, y de esas soluciones precipitan por el alcohol absoluto. Son arrastradas de sus soluciones acuosas o glicerinadas, haciendo nacer en ellas precipitados como gelatinosos de fosfato de cal, de carbonato de magnesia, de colesterina u otros.

No dialisan; y tienen la propiedad de fijarse sobre ciertas sustancias, probablemente de una manera electiva, como lo hace una tintura; así se fijan sobre los hilos de seda, sobre la fibrina fresca, y sobre otros cuerpos que se introducen en los líquidos que las tienen en solución.

Las sustancias antisépticas generalmente no impiden la acción de las diastasas, como impiden la acción de los seres vivos; puestas en presencia del cloroformo, del ácido cianhídrico, del timol, del fluoruro de sodio, continúan obrando.

Las diastasas son muy sensibles a la temperatura; y para cada una hay una temperatura de acción mínima, otra máxima, y una temperatura óptima.

En solución acuosa las diastasas son destruidas por una temperatura de menos de cien grados. Desecadas, ellas pueden soportar cien grados, y aun ciento veinte; pero pasado este límite son destruídas. El calor elevado es, pues, zimolítico, mientras que el moderado es zimodinamogénico.

La luz tiene en general una acción deletérea sobre las diastasas; pero tanto para la acción de la luz, como para la del calor, se necesita de la presencia del oxígeno, porque es oxidándose que ellas se destruyen.

Unas diastasas obran muy bien en las soluciones ácidas diluidas. Las soluciones ácidas concentradas suspenden toda acción diastásica. Otras diastasas obran mejor en medios alcalinos; y hay diastasas para las cuales la reacción del medio les es indiferente.

El frío es zimoinhibidor. De las sales, unas son zimodinamogénicas y otras zimoinhibidoras; algunas go-

zan de las dos propiedades con respecto a dos diastasas distintas; así, las sales de calcio impiden la acción de la amilasa, y ayudan la de la presura.

Las diastasas se clasifican por su acción química, según Duclaux: en diastasas de oxidación; diastasas reductoras; diastasas de hidratación; diastasas de deshidratación; diastasas de coagulación; diastasas de decoagulación; diastasas de desdoblamiento.

Estas operaciones químicas las producen por acción catalítica, y como están dotadas de un intenso movimiento vibratorio intramolecular, trasmisible a las moléculas sobre las cuales van a obrar, se cree que entran en combinación instable con ellas, y después se regeneran, una vez producida la transformación conveniente, como se ve en la ecuación siguiente:

$$M + D = M\ D$$

El cuerpo fermentescible M. en presencia de una diastasa cualquiera, de una oxidasa D por ejemplo, forma el cuerpo M D instable y ávido de oxígeno, luego:

$$M\ D + 0 = M\ 0 + D$$

Donde se ve que el cuerpo oxidable M D, al oxidarse reengendra la diastasa.

Así obraría cualquiera otra diastasa; y como se reengendra sin cesar, se comprende que una sola molécula de diastasa pueda transformar un número indefinido de moléculas fermentescibles. De donde podemos deducir la ley de las acciones diastásicas.

Ley. Una cantidad infinitamente pequeña de diastasa puede determinar transformaciones químicas infinitamente grandes.

Los productos de las acciones diastásicas son zimoinhibidores; por lo cual se observa una disminución de velocidad en las transformaciones obradas por las diastasas, a medida que progresa la operación; retirados

estos productos, recupera la acción diastásica su velocidad primitiva.

Diastasas de oxidación.—Se llaman oxidasas, y están todavía mal estudiadas. Hay un microbio, el Micrococcus nitrificans que produce una oxidasa que transforma los nitritos en nitratos.

$$\underset{\text{nitrito de potasio}}{2\ Az\ 0^2K} + \underset{\text{oxígeno}}{0^2} = \underset{\text{nitrato de potasio}}{2\ Az\ 0^3K}$$

Cultivado en un medio mineral que contenga pequeñas cantidades de sales amoniacales, produce la nitrificación; la cual se demuestra agregando una gota del cultivo a una pequeña cantidad de una solución de difenilamina, y se obtiene la coloración azul característica.

Esta operación de la nitratación se hace en dos tiempos: primeramente transformación de las sales amoniacales en nitritos; y en seguida cambio de los nitritos en nitratos.

El Bacillus aceti produce también fenómenos de oxidación, probablemente en virtud de una oxidasa.

$$\underset{\text{alcohol etílico}}{C^2H^60} + \underset{\text{oxígeno}}{0^2} = \underset{\text{ácido acético}}{C^2H^40^3} + \underset{\text{agua}}{H^20}$$

El Micrococcus oblongus transforma la glicosa, en presencia del aire, en ácido glicónico.

$$\underset{\text{glicosa}}{C^6H^{12}0^6} + \underset{\text{oxígeno}}{0} = \underset{\text{ácido glicónico}}{C^6H^{12}0^7}$$

Diastasas reductoras.—Se conoce una diastasa reductora, el filotión, que produce hidrógeno naciente, da hidrógeno sulfurado con la flor de azufre, y reduce el carmín de índigo en frío. Esta diastasa es producida por muchos microbios.

Hay microbios que producen fenómenos de reducción, pero cuyas diastasas no se han aislado todavía.

El Bacterium denitrificans δ, y el Bacterium denitrificans ϵ., reducen los nitratos, y los cambian en nitritos, protoxido de azoe y aun azoe libre.

$$\underset{\text{Nitrato de potasio}}{2\,Az\,0^3K} = \underset{\text{Nitrito de potasio}}{2\,Az\,0^2K} + \underset{\text{Oxígeno}}{0^2}$$

$$\underset{\text{Nitrato de ammonium}}{Az\,0^3, Az\,H^4} = \underset{\text{Protoxido de azoe}}{Az^20} + \underset{\text{agua}}{2H^20}$$

$$\underset{\text{Nitrito de potasio}}{4\,Az\,0^2K} = \underset{\text{azoe}}{2\,Az^2} + \underset{\text{óxido de potasio}}{2K^20} + \underset{\text{oxígeno}}{30^2}$$

El Vibric hydrosulfureus reduce los sulfatos metálicos por el hidrógeno naciente.

$$\underset{\text{Sulfato de calcio}}{S0^4Ca} + \underset{\text{Hidrógeno}}{4\,H^2} = \underset{\text{Sulfuro de calcio}}{Ca\,S} + \underset{\text{agua}}{4\,H^20}$$

Diastasas de hidratación.—Son las más conocidas; unas obran produciendo solamente la hidratación, como son la ureasa, la maltasa, la trehalasa; otras producen hidratación y desdoblamiento; como son la sucrasa, la lactasa.

El Micrococcus uræ produce la ureasa, la cual hidrata la urea y la convierte en carbonato de amoniaco.

$$\underset{\text{urea}}{C0\,(Az\,H^2)^2} + \underset{\text{agua}}{2\,H^20} = \underset{\text{carbonato de amoniaco}}{C0^3\,(Az\,H^4)^2}$$

La maltasa transforma la maltosa en dextrosa; su temperatura óptima es de 40°; los medios neutros o ligeramente ácidos le son zimodinamogénicos; los medios excesivamente ácidos o alcalinos le son zimoinhibidores.

$$\underset{\text{Maltosa}}{C^{12}\,H^{22}\,0^{11}} + \underset{\text{agua}}{H^20} = \underset{\text{dextrosa}}{2\,C^6H^{12}0^6}$$

Su acción es reversible; es decir, que después de haber convertido una cierta cantidad de maltosa en dextrosa, cesa el fenómeno y se produce la reacción inversa; la dextrosa se convierte en parte en maltosa. Unico caso hasta hoy conocido de una acción diastásica sintética.

La dextrinasa convierte la dextrina en maltosa; la trehalasa obra sobre la trehalosa convirtiéndola en dextrosa.

El Bacillus megaterium, el Proteus vulgaris y otros microbios producen sucrasa, la cual hidrata la sacarosa y la desdobla en dextrosa y levulosa; su temperatura óptima es también de 40°.

$$\underset{\text{sacarosa}}{C^{12}H^{22}0^{11}} + \underset{\text{agua}}{H^{2}0} = \underset{\text{dextrosa}}{C^{6}H^{12}0^{6}} + \underset{\text{levulosa}}{C^{6}H^{12}0^{6}}$$

La lactasa obra semejantemente, y después de hidratar la lactosa la desdobla en dextrosa y galactosa; la produce, entre otros microbios, el Aspergillus niger.

Diastasas de deshidratación.—Solamente se conoce la deshidratación de la dextrosa, y su transformación en maltosa efectuada por la maltasa. El Bacterium xilinum forma celulosa a expensas de la glicosa; deshidratándola.

$$\underset{\text{glicosa}}{N\,(C^{6}H^{12}0^{6})} = \underset{\text{celulosa}}{(C^{6}H^{10}0^{5})^{n}} + \underset{\text{agua}}{N\,(H^{2}0)}$$

Diastasas de coagulación.—Se conoce la presura o lab–ferment, producida por varios microbios, como el Bacillus lacticus, el Bacillus pyocyaneus y otros; coagula la caseína de la leche. Según Arthus, esta coagulación es un desdoblamiento de la sustancia caseinogena, en lactosueroproteosa y caseum. Las sales de calcio son zimodinamogénicas de la presura.

Diastasas descoagulantes.—La caseasa disuelve el coágulo de la caseína; es elaborada por varios microbios como el Tyrothrix tenuis, el Bacillus subtilis y otros.

Muchos microbios licúan la gelatina; y esto lo hacen porque segregan una diastasa idéntica a la tripsina pancreática.

Diastasas de desdoblamiento.—Se conoce la zimasa de las levaduras, que desdobla la glicosa en alcohol y anhidrido carbónico.

$$\underset{\text{glicosa}}{C^6H^{12}0^6} = \underset{\text{alcohol etílico}}{2\,C^2H^60} + \underset{\text{anhidrido carbónico}}{2\,C0^2}$$

El Bacillus butyricus desdobla el ácido láctico en ácido butírico, anhidrido carbónico e hidrógeno.

$$\underset{\text{ácido láctico}}{2\,C^3H^60^3} = \underset{\text{ácido butírico}}{C^4H^80^2} + \underset{\text{anhidrido carbónico}}{2\,C0^2} + \underset{\text{hidrógeno}}{2\,H^2}$$

CAPITULO VIII

Microbios saprógenos

Los microbios saprógenos son agentes muy importantes de la putrefacción; la cual se puede definir: la descomposición de la materia orgánica, efectuada principalmente por los microbios, la cual engendra principios volátiles de olor infecto. Las sustancias engendradas durante la putrefacción son inservibles para la industria actual.

Propiamente no hay diferencia esencial entre la fermentación y la putrefacción; ambas son producidas por transformaciones químicas, efectuadas por las diastasas, segregadas por los microbios.

Los microbios no son los únicos agentes de la putrefacción, pues en ella toman parte también los insectos y otros vegetales inferiores, como los hongos y las algas verdes.

Hay tres períodos en la parte que desempeñan los microbios en la putrefacción; los dos primeros casi siempre son efectuados por aerobios, y el tercero por anaerobios.

Los microbios que obran primero, son los saprofitos comunes: el Bacillus subtilis, el Bacillus mesentéricus vulgatus, el Bacterium termo y algunos otros.

Al terminar este primer período, desaparecen las especies que lo producen, y aparecen los que van a efectuar el segundo período de la putrefacción; los cuales son principalmente el Bacillus fluorescens liquefaciens, el Bacillus fluorescens putridus, el Bacillus violaceus y otros.

Durante estos dos períodos, las sustancias orgánicas descompuestas en presencia del oxígeno, llegan a ser transformadas en compuestos inodoros o casi inodoros, como son el anhidrido carbónico, el hidrógeno, el metano, el agua y otros semejantes.

El tercer período es el de los anaerobios, de los cuales los principales son el Proteus vulgaris, el Proteus mirabilis, el Bacillus putridus gracilis, el Bacillus spinosus y otros.

Las modificaciones sufridas por las sustancias en descomposición, son menos radicales, de suerte que se van produciendo cuerpos complexos, como son los amoniacos compuestos, los mercaptanes, ácidos grasos volátiles de mal olor; compuestos de olor fecaloideo, como el indol, y el escatol, y por último hidrógeno sulfurado e hidrógeno fosforado.

Pasado este período, la verdadera putrefacción ha cesado, y entonces aparecen algas verdes, indicio de que ya la sustancia orgánica se ha transformado en los productos simples, convenientes para estos organismos.

Los microbios saprógenos efectúan la putrefacción por medio de diastasas en todo semejantes a las de los microbios de la fermentación, y que como aquéllas, transforman la sustancia orgánica mediante las operaciones químicas de oxidación, reducción, hidratación, hidrogenación, desdoblamiento.

CAPITULO IX

Microbios patógenos

Los microbios patógenos son aquéllos que tienen la facultad de vivir en el cuerpo de los animales, produciendo sustancias tóxicas.

Microbios comensales.—Son los microbios que viven en el interior del cuerpo del hombre y de los animales sin producir sustancias tóxicas, ni por lo tanto trastornos funcionales manifiestos; y aun algunos de ellos que viven en el tubo digestivo, ayudan tal vez al proceso de la digestión, en ciertos casos.

Algunos microbios patógenos no pueden vivir sino en el interior del cuerpo, de suerte que al salir al exterior mueren prontamente, si no pasan a otro animal. Estos son los patógenos estrictos. Hay otros que pueden vivir tanto en el medio exterior, como en el cuerpo de los animales. Por eso se llaman patógenos facultativos.

Para que un microbio pueda considerarse como la causa de una enfermedad, se necesita según Pasteur y Koch; primero: que se encuentre en el organismo de un individuo enfermo o en un cadáver; segundo: que pueda ser aislado y cultivado él solo; tercero: que inoculados estos cultivos puros, a un animal sano receptivo, se reproduzca la enfermedad; y cuarto: que finalmente se encuentre el mismo microbio en el animal inoculado, enfermo o muerto.

Virulencia.—Se llama virulencia la aptitud de un microbio para producir enfermedades.

Esta aptitud la puede perder un microbio patógeno y de esta manera convertirse en saprofito, como le sucede al Bacillus anthracis, que cultivándolo en un medio de cultivo con antisépticos, se vuelve inofensivo.

Inversamente un saprofito puede adquirir la virulencia y volverse patógeno, como le sucede al Bacillus

megaterium, que cultivado en sacos de colodión, en el peritoneo del conejillo de Indias, se vuelve virulento.

Toxinas.—Los microbios producen las enfermedades de dos maneras distintas: o por medio de las toxinas que elaboran, y este es el modo general; o por su presencia en el interior del organismo, la que determina la irritación de los tejidos y su alteración; así parece que obran el Aspergillus fumigatus, varios Cladothrix y el Actynomyces bovis.

Es pues, la secreción de toxinas la que determina la virulencia de un microbio; y tanto mayor será ésta, cuanto más toxinas sean segregadas; las cuales una vez elaboradas permanecen en el interior del microbio durante un tiempo más o menos largo, y después son arrojadas al exterior.

Composición de las toxinas.—La composición química de las toxinas nos es desconocida. Presentan gran analogía con las diastasas. La toxina diftérica se compone según Brieger y Fränkel de C = 45,35; H = 71,13; Az = 16,55; S = 1,39.

Son precipitables por el alcohol. El calor obra sobre ellas como sobre las diastasas, es decir, que calentadas en solución a una temperatura inferior a cien grados se vuelven inactivas. La luz tiene sobre ellas una acción deletérea. Adhieren a los precipitados de apariencia gelatinosa, formados en el líquido que las contiene, por el fosfato de cal, por el carbonato de magnesia y por otros cuerpos.

Como las diastasas, las toxinas se fijan sobre ciertas sustancias a la manera de una tintura, de un modo electivo; así la toxina tetánica adhiere al carmín y a la sustancia nerviosa cerebral y no adhiere a otras muchas sustancias.

Esta acción electiva da una gran luz para la explicación de las enfermedades, y permite comprender cómo una dosis mínima y hasta infinitesimal de toxina tetánica inoculada en cualquiera parte del cuerpo de un animal, no se fija sino en los centros nerviosos, aunque ha sido puesta en contacto, por la sangre en que va disuelta, con todos los tejidos.

Según Ehrlich, la molécula de toxina está compuesta de dos grupos; uno estable, llamado el grupo haptóforo, que sirve para fijar la molécula; otro llamado el grupo toxóforo, que es lábil, por lo cual viene a ser la parte activa de la toxina. Y como se modifica fácilmente por numerosos agentes físicos y químicos, al transformarse engendra una toxalbúmina modificada, o sea una toxoide.

Las toxoides se dividen según el grado de afinidad que presentan por las antitoxinas, en protoxoides, syntoxoides y deutero-toxoides.

Las toxinas circulan en el organismo sirviéndoles de vehículo la sangre, la linfa y aun los mismos tejidos sólidos; como se ve en la toxina tetánica que camina con más velocidad cuando va por los tubos nerviosos, que cuando va por la sangre.

Incubación.—Las toxinas no obran inmediatamente después de su penetración en el organismo, sino al cabo de un tiempo variable. Se llama este tiempo en que están sin obrar, su período de incubación, y se cree que depende de la poca difusibilidad de la toxina.

Clasificación.—Como no se conoce la constitución de las toxinas, la única clasificación que puede hacerse de ellas, está fundada en la acción que producen en el organismo.

Llámanse toxinas piretógenas aquellas toxinas que producen fiebre; toxinas flogógenas las que determinan inflamaciones; toxinas miostenisantes las que dan convulsiones, por lo cual también se llaman tetanisantes o convulsivantes; mioastenisantes o neuroastenisantes las que producen parálisis, que por eso se llaman también paralizantes; toxinas hipercrinisantes, las que aumentan las secreciones naturales.

Toxoproteínas.—Los microbios también pueden envenenar al organismo sano, por sus propias albúminas que son tóxicas, por lo que se las llama toxoproteínas.

Las toxoproteínas se caracterizan: porque no dialisan; porque son precipitadas por el sulfato de amoniaco;

por su gran afinidad por el mercurio y sus sales. Además no tienen período de incubación, de suerte que sus efectos sobre el organismo son inmediatos, intoxicándolo rápidamente.

Defensa orgánica.—Los microbios al penetrar en el organismo determinan en él actos defensivos contra esta invasión, y por lo tanto contra la enfermedad consiguiente. De suerte que esta no se manifiesta, sino después de una lucha entre el organismo y el microbio o la toxina que tratan de invadirlo.

Los agentes activos de la defensa del organismo son los elementos anatómicos de los tejidos y los líquidos orgánicos.

Fagocitosis.—El proceso de defensa por los elementos anatómicos se llama fagocitosis; los elementos defensores se denominan fagocitos.

Los fagocitos se dividen en movibles y fijos. Los fagocitos movibles son principalmente los glóbulos blancos polinucleares, y mononucleares grandes. Los fagocitos fijos son las células fijas de los tejidos, como los endotelios vasculares sanguíneos y linfáticos, las células de tejido conjuntivo, las células nerviosas. A estos fagocitos fijos pertenecen también los órganos fagocitarios como el bazo, los ganglios linfáticos, la médula osea.

Los fagocitos producen la destrucción del microbio, de dos maneras: o por la introducción del microbio en su protoplasma, al cual hacen sufrir transformaciones químicas, probablemente diastásicas, y semejantes a las transformaciones digestivas; o por la producción de anticuerpos específicos que van a obrar contra el microbio y sus toxinas.

Estos anticuerpos específicos, generalmente salen del interior de los fagocitos y se diseminan en los líquidos orgánicos, en donde efectúan la destrucción de aquellos gérmenes y la de sus productos nocivos.

La defensa del organismo por los líquidos orgánicos, y principalmente por el suero sanguíneo, es, pues, en último análisis, la misma función fagocitaria.

El anticuerpo de las toxinas es la anti-toxalbúmina o antitoxina.

Los anticuerpos específicos contra el microbio y sus albúminas o toxoproteínas son tres: las alexinas, las inmunisinas y las aglutininas.

Antitoxina.—La producción de la antitoxina, y la neutralización de la toxina, se verifican de la manera siguiente: introducidas las toxinas o las toxoides en el organismo, los fagocitos producen grupos receptores, que en parte quedan fijos en el interior del fagocito, y en parte salen de él, y circulan en los humores y principalmente en el suero sanguíneo.

Estos receptores libres constituyen las antitoxinas, las cuales fijan la molécula de toxina por el grupo haptóforo, y la inmovilizan impidiéndole toda acción ulterior.

Alexinas e inmunisinas.—Los fagocitos producen en su lucha contra el microbio y sus albúminas, las alexinas, cuyas moléculas tienen un grupo haptóforo estable, y un grupo zimotoxo lábil, que también por eso viene a ser la parte activa de la alexina.

Producen también las inmunisinas o amboceptores, sustancias sensibilizadoras de los microbios, y que permiten la acción destructiva de las alexinas sobre estos microorganismos. Estas inmunisinas tienen su molécula compuesta de un grupo haptóforo y un grupo complementófilo.

La destrucción del microbio se verifica así: inmediatamente después de haber penetrado el microbio en el suero sanguíneo, el grupo haptóforo de la inmunisina se adhiere al receptor del microbio, mientras que el grupo complementófilo atrae y fija el grupo haptóforo de la alexina, la cual queda fijada de esta manera al microbio por el grupo haptóforo, y sirviéndose de su grupo zimotoxo neutraliza las albúminas del microbio y por consiguiente al microbio mismo.

Las alexinas obran también sobre los microbios muertos por la acción del calor, del éter o por la del cloroformo, neutralizando sus toxoproteínas.

Fenómeno de Pfeiffer.—Después de unidas las alexinas a los microbios por el intermedio de las inmunisinas, se observa el fenómeno de Pfeiffer: los microbios son inmovilizados, y se transforman algún tiempo después en numerosos gránulos, los cuales al fin se disuelven y desaparecen.

Aglutininas.—Los fagocitos pueden segregar también aglutininas, las cuales obran sobre los microbios reuniéndolos en grupos compactos, que se presentan separados los unos de los otros; obran aglutinándolos.

Suero-diagnóstico de Widal.—El método del suero-diagnóstico de Widal está fundado en esta propiedad que tienen las aglutininas sobre los microbios. Si se toman dos o tres gotas de suero sanguíneo de un enfermo de fiebre tifoidea, por ejemplo, y se añaden a una emulsión de Bacillus typhosus, se produce inmediatamente la aglutinación. En caso de duda, este fenómeno sirve para establecer el diagnóstico de la enfermedad.

Sueros específicos.—Estos anticuerpos se encuentran principalmente en el suero de la sangre, en cuyo caso, el suero que los posee se llama suero específico, y los animales que los suministran se llaman animales inmunes.

El suero que contiene antitoxinas, es un suero específico antitóxico, como el suero antidiftérico.

El suero natural contiene alexinas, pero el suero que contiene alexinas e inmunisinas es un suero específico bactericida, como el suero antiestreptococcico.

Se demuestra fácilmente que los sueros naturales contienen alexinas, y que los sueros específicos bactericidas contienen alexinas e inmunisinas, por la circunstancia de que las alexinas se destruyen a la temperatura de 55°, mientras que las inmunisinas soportan esta temperatura sin alterarse. Calentando pues el suero bactericida a 55°, pierde sus propiedades bactericidas, y las recupera si se le añade suero natural.

El suero que contiene aglutininas es suero específico aglutinante. El suero de la sangre de los animales

y del hombre infectados por ciertos microbios, es aglutinante para los mismos microbios infectantes.

La virulencia de un microbio puede aumentarse o disminuirse experimentalmente.

El aumento de la virulencia se manifiesta por la disminución de la dosis mínima mortal, y por la disminución del tiempo de incubación. El mejor modo para exaltar la virulencia de un microbio consiste en cultivarlo en sacos de colodión en el interior del cuerpo de los animales adecuados. También se emplean las inoculaciones en serie practicadas en animales receptivos.

La asociación generalmente exalta la virulencia de los microbios.

La disminución de la virulencia se efectúa colocando el microbio en condiciones disgenésicas, como cultivándole en presencia de la luz, de un calor mayor que el conveniente, de las sustancias antisépticas, de una presión aumentada. Los microbios que se conservan desecados, al fin pierden la virulencia.

Las inoculaciones pueden en algunos casos exaltar la virulencia de un microbio con relación a un animal, dejándolo poco virulento, y aun volviéndolo inofensivo para otros; así el Streptococcus erysipelatis inoculado en el conejo hasta hacerlo hipervirulento para este animal, se vuelve inofensivo para el hombre.

La disminución de la virulencia puede ser transitoria o definitiva; en este último caso, se llama atenuación. La atenuación convierte un microbio patógeno en saprofito. Los espórulos no son susceptibles de atenuación.

Vacunación.—Los microbios atenuados pueden inocularse a algunos animales sin que sobrevenga la muerte; y muchas veces estas inoculaciones hacen perder al animal que las ha recibido, la receptividad para el microbio virulento; se dice que está vacunado.

Este mismo resultado se puede obtener inoculando, en lugar de los microbios, las toxinas diluidas o adicionadas de sustancias químicas, que dificultan su acción.

Antagonismo.—Se llama así la oposición que puede haber entre varios microbios, debida a la acción perju-

dicial que ejercen los unos contra los otros. El antagonismo obra disminuyendo la virulencia, como se observa en el caso del Bacillus anthracis que inoculado junto con el Bacillus pyocyaneus, no produce la muerte del animal, como lo hace si se inocula él sólo.

Los microbios pueden llegar al organismo sano de dos partes distintas: del hombre o de un animal enfermos; o del medio ambiente, la tierra, el agua o el aire; en el primer caso se dice que hay contagio; en el segundo que hay infección.

Penetran los microbios en el organismo por la piel lesionada o intacta, en cuyo caso lo hacen por la vaina de los pelos; por las mucosas digestivas, respiratoria, genitourinaria lesionadas o intactas; por la red nerviosa.

La infección producida por el microbio en el lugar de su penetración puede propagarse a los tejidos vecinos: es la infección por contigüidad; o puede trasmitirse a partes distantes del lugar de la penetración: es la infección por metástasis; en este caso el agente infectivo puede ir por la sangre, por la linfa, por el tejido nervioso.

Inmunidad.—Si el organismo resiste a la penetración del microbio, o si después de haber éste penetrado, resiste a las toxinas elaboradas, se dice que este organismo es refractario o inmune naturalmente.

Pero la inmunidad puede producirse experimentalmente por la vacunación, o por la inyección de sueros preventivos tomados de animales inmunizados; y puede adquirirse por la misma enfermedad contraída anteriormente, y por la herencia.

Tanto la inmunidad natural, como la adquirida pueden ser vencidas, por una virulencia muy grande de los microbios, o por toxinas muy concentradas, y también debilitando por varios medios la resistencia orgánica del animal.

Los microbios muertos son venenosos generalmente, y algunos de ellos pueden producir la misma enfermedad que ocasionan cuando están vivos, como lo hace el Bacillus tuberculosis muerto, que engendra tuberculosis

perfectas una vez inoculado. Esta acción tóxica se debe, como ya hemos visto, a las toxoproteínas, que después de destruida la membrana se disuelven en el medio ambiente.

CAPITULO X

Microbios cromógenos

Los microbios cromógenos son aquéllos que producen materias colorantes o pigmentos. La composición química de estos pigmentos es poco conocida; se los considera análogos a las ptomainas.

Son elaborados por el protoplasma, y unas veces no se difunden por el medio ambiente durante la vida del microbio; otras veces el pigmento sale del microbio al ser formado y viene a teñir el medio, como lo hace el del Bacillus pyocyaneus.

El pigmento se forma en unos casos en presencia de una luz moderada; para algunos, como el Micrococcus ochroleucus, la luz parece indispensable.

Casi todos los microbios cromógenos necesitan del oxígeno para elaborar sus pigmentos; no hay sino el Spirillum rubrum, el Bacillus rubellus y el Diplococcus pyogenes, para los cuales, la total privación de oxígeno, es una condición indispensable en esta elaboración.

Los antisépticos vuelven incoloros los microbios cromógenos.

El optimum térmico para la función cromógena oscila entre 20° y 25°. Los medios de cultivo ejercen sobre ella una gran influencia, y los más favorables son los que contienen sustancias amiláceas; en la papa se obtienen las mejores pigmentaciones.

La reacción más favorable es la neutra o la ligeramente ácida, mientras que la reacción alcalina es per-

judicial. Favorables son también los fosfatos, la magnesia, la potasa, la peptona.

Algunos de estos pigmentos son solubles en el agua, como el del Bacillus pyocyaneus, el del Bacillus erythrosporus; otros son insolubles en este líquido.

Los insolubles en el agua se dividen en dos clases: los que son solubles en el alcohol, como el del Staphylococcus pyogenes aureus, el del Bacillus prodigiosus, y los de otros; y los insolubles en este líquido, como el del Micrococcus cereus flavus, el del Bacillus cyanofuscus, y los de otros varios.

La mayor parte de los cromógenos no dan sino un solo pigmento, como el Bacillus fluorescens putridus; los hay que dan dos, como el Bacillus cyanogenus; muy raros son los que dan tres, como el Bacillus pyocyaneus.

Se encuentra una gran variedad de colores en estos pigmentos.

Los hay rojos, como el del Micrococcus prodigiosus, el del Spirillum rubrum.

Anaranjados como el del Staphylococcus pyogenes aureus, el del Bacillus luteus, el de la Sarcina aurantiaca.

Amarillos como el del Micrococcus ochroleucus, el de la Sarcina sulfúrea.

Verdes como el del Bacillus viridis pallescens, el del Bacillus virescens.

Azules como el del Bacillus ceruleus, el del Bacillus beroliensis indicus.

Indigo como el del Bacillus indigoferus, el del Bacillus indigogenus.

Violeta como el del Micrococcus violaceus, el del Bacillus membranaceus amethystinus.

Además los hay también de color de rosa, como el del Micrococcus agilis, el de la Sarcina incarnata; brunos, como el del Bacillus bruneus, el del Micrococcus fuscus; negros como el del Bacillus lactis niger.

De estos pigmentos los dos más conocidos son la piocianina y la bacterio purpurina

La piocianina es producida por el Bacillus pyocyaneus, que es el microbio del pus azul. Es soluble en el agua y el cloroformo; cristaliza en láminas rectangulares, o en largas agujas de tinte azul; el aire y los reductores la transforman en un pigmento amarillo, la pioxantosa.

Se obtiene la piocianina tratando los cultivos en caldo del Bacillus pyocyaneus, por el cloroformo, que después de decantado, se trata por el agua acidulada; esta toma el pigmento y le cambia el color en rosado, que vuelve a ponerse azul neutralizando el agua acidulada; de nuevo se trata por el cloroformo que lo absorbe, y dejándolo evaporar se forman los cristales de piocianina.

La bacterio-purpurina producida por la Beggiatoa roseo-persica principalmente, es insoluble en el agua, el cloroformo, el alcohol, el amoniaco; muy oxidable; presenta al examen espectral tres bandas de absorción cerca de las líneas D. E. F. de Frauenhoffer y una cuarta en el infrarojo.

Algunos de estos cromógenos pueden tener clorofila, como el Bacterium chlorinum que produce en los cultivos un abundante desprendimiento de oxígeno.

La función cromógena puede perderse y los microbios que la poseían, se transforman en razas incoloras.

Algunos cromógenos son también patógenos, como el Staphylococcus pyogenes aureus.

CAPITULO XI

Microbios fotógenos

Hay microbios que producen fosforescencia y por eso se llaman fotógenos. Ellos viven comunmente en el agua, de preferencia en la del mar, y también se desarrollan en las carnes, el pescado, los hongos.

Unas veces la fosforescencia es muy débil y otras veces es más pronunciada. La temperatura ejerce una marcada influencia en la función fotógena, la cual nece-

sita más bien de las temperaturas bajas, manteniéndose, desde—14° y—20° hasta 15° y 25°, bien manifiesta. A los 47° la función desaparece por completo.

La composición del medio de cultivo influye también considerablemente sobre esta producción de luz; los medios líquidos que contienen gelatina y cloruro de sodio son los más adecuados.

El oxígeno es indispensable; los microbios cultivados en el vacío pierden su fosforescencia.

Las sustancias químicas que matan los microbios, hacen desaparecer instantáneamente la fosforescencia.

Dubois cree que la fosforescencia es debida a diastasas elaboradas por los microbios, y dice haber aislado una que él llama luciferasa.

La fosforescencia es de un tinte azul en el Bacillus phosphorescens indigenus; verdosa en el Bacillus smaragdino phosphorescens; amarillenta en el Bacillus argenteo phosphorescens liquefaciens ; blanca en el Bacillus argenteo phosphorescens. Con cultivos del Micrococcus phosphorescens que también da luz blanca se ha obtenido un espectro continuo desde la b. de Frauenhoffer hasta el violeta.

La intensidad de la luz es algunas veces bastante grande para poderse leer la hora en el reloj, y para permitir la impresión fotográfica.

Los microbios fosforescentes son inofensivos para el hombre, aunque pueden ser patógenos para algunos animales. Se han señalado sudores fosforescentes en el hombre.

CAPITULO XII

Resistencia de los microbios a los agentes físicos

Calor.—El calor obra sobre los microbios de una manera diferente, en cuanto a la intensidad de acción, según sea calor húmedo o seco.

El calor húmedo hace perecer los microbios a una temperatura relativamente baja, y en poco tiempo; casi

todos mueren si se exponen a la temperatura de 80° durante 25 o 30 minutos. Los espórulos resisten a la temperatura de 80° y aun a la de 100° durante el mismo tiempo; para hacerlos perecer se necesita de una temperatura de 109° durante 15 minutos; y si se emplea el vapor de agua, entonces son necesarios 115° o 120° durante 20 minutos.

El calor seco lo resisten mejor los microbios; para matarlos es necesario emplear una temperatura de 98° a 128°, durante dos horas; para matar los espórulos en el mismo tiempo se necesita de un calor de 158°, o de 180° durante una hora, y de 200° durante 5 minutos. En el aire seco caliente el límite máximum de la resistencia de los espórulos es, pues, de 200°.

El frío en grado moderado disminuye las actividades de los microbios, y a una temperatura de 10° o 15° los patógenos ya no pueden germinar.

Los fosforescentes se multiplican todavía a 0°; pero aunque con sus actividades en suspenso, ellos se conservan vivos a una temperatura inferior a 0°. De manera que se han sometido algunos de ellos durante cinco días a—120° conservándose vivos; y también se mantienen vivos aunque se les tenga por algunos minutos a—200°.

El Bacillus typhosus ha resistido durante tres meses un frío continuo de algunos grados bajo cero.

Pero los microbios resisten menos bien las oscilaciones de temperatura; así el Bacillus typhosus muere con solo algunas oscilaciones de congelación y deshielo.

Luz.—La luz difusa tiene una acción retardante sobre el desarrollo de los microbios, de suerte que casi todos germinan mejor en la oscuridad.

La luz solar directa tiene una acción esterilizante total; todos los microbios mueren si se los expone a los rayos solares durante un tiempo variable para cada uno; el Bacillus typhosus muere después de seis horas de insolación; el Bacillus tuberculosis muere después de siete horas.

Los espórulos no desecados mueren en el mismo tiempo que los bacillus de donde provienen; desecados resisten más.

No todos los rayos del espectro obran de la misma manera; los rojos y amarillos no son tan nocivos, mientras que los azules, los violeta y los ultra-violeta, es decir los rayos químicos, son los eficaces.

Electricidad.—Las corrientes eléctricas débiles no tienen influencia apreciable sobre los microbios; las corrientes intensas mantenidas por largo tiempo, por 24 horas, producen la muerte de estos gérmenes. Los que están cerca del anodo mueren antes que los que están junto del catodo.

Las corrientes de inducción tienen una acción menos manifiesta. Los rayos de Roentgen no ejercen influencia alguna sobre ellos.

Presión.—Movimiento.—La presión tiene poca influencia sobre los microbios; colocando bajo una presión de tres mil atmósferas el Staphylococcus pyogenes aureus, no parece sufrir ningún cambio, mientras que el Bacillus anthracis en las mismas circunstancias, experimenta una ligera atenuación.

La agitación es desfavorable al desarrollo de algunos microbios, en tanto que para otros es indiferente.

Desecación.—La desecación influye muy desfavorablemente sobre los microbios; el Spirillum choleræ y el Micrococcus gonorrheæ perecen a las pocas horas de desecados.

Los espórulos resisten por mucho tiempo a la privación de agua; se conocen experiencias hechas con los espórulos de la pústula maligna, los cuales desecados a la temperatura ambiente, al cabo de algunos años se conservaban capaces de germinar.

Los microbios contenidos en sustancias orgánicas desecadas, como sangre, esputos, porciones de órganos, se conservan vivos por mucho tiempo, por varios años; esto es debido a que estas sustancias les forman a los microbios una envoltura protectora, la cual es higroscó-

pica y de contado les impide la total desecación, que como se sabe, les es prontamente funesta.

CAPITULO XIII

Acción de los agentes químicos sobre los microbios

Oxígeno.—Aunque el oxígeno es indispensable para la vida de los aerobios, sin embargo, en muchos casos les es desfavorable; se sabe, por ejemplo, que un cultivo viejo conserva más tiempo los gérmenes vivos si se les disminuye la cantidad de oxígeno; también se sabe que si se deja envejecer un cultivo de microbios patógenos en presencia del aire, se atenúa considerablemente su virulencia.

El oxígeno es inerte para los espórulos.

El oxígeno comprimido es perfectamente bactericida; a la presión de ocho o diez atmósferas se detienen la fermentación y la putrefacción. Los espórulos resisten al oxígeno comprimido.

El oxígeno es un agente tóxico muy poderoso para los anaerobios.

Hidrógeno-Azoe—Acido carbónico.—El hidrógeno y el azoe son inofensivos. El anhidrido carbónico es tóxico para algunos microbios, como el Bacillus anthracis, el Spirillum choleræ asiaticæ; para otros es inofensivo como para el Bacillus typhosus y para el Bacillus Friedlaenderi; a una presión fuerte, el anhidrido carbónico es más activo contra los microbios.

El óxido de carbono es inofensivo. El hidrógeno sulfurado y el hidrógeno carbonado tienen poca acción bactericida, lo mismo que los anestésicos, cloroformo y éter a pequeñas dosis.

Antisépticos.—Las sustancias químicas que solamente suspenden las actividades vitales de los microbios en los medios de cultivo, se llaman sustancias anti-

sépticas infertilizantes; y se llaman sustancias antisépticas esterilizantes, microbicidas o germicidas, las que destruyen radicalmente la vida de los microbios.

Los antisépticos se dividen en cuatro clases: los muy fuertemente antisépticos, que son aquellos que obran en solución de uno por mil a lo menos, como son el sublimado corrosivo, el nitrato de plata, el hipoclorito de calcio, el yodo, el aldehido fórmico y otros.

Los fuertemente antisépticos, que son los que obran en solución de uno por ciento, como el ácido fénico, el ácido salicílico, el ácido pícrico, el permanganato de potasio, el ácido bórico y otros.

Los moderadamente antisépticos son los que sólo obran en solución de uno por diez, como son el cloruro de hierro, el sulfato de hierro, los alcoholes y otros.

Los débilmente antisépticos, que son aquéllos que obran en soluciones de uno por cinco, como son el cloruro de potasio, el yoduro de potasio, el cloruro de sodio y otros.

CAPITULO XIV

Microbios del aire, del agua y del suelo

Microbios del aire.—El aire contiene generalmente microbios, que casi todos provienen del suelo, y que las corrientes de aire levantan junto con el polvo, y transportan a una distancia mayor o menor.

En general, las distancias recorridas por los microbios sirviéndoles de vehículo el aire, no son grandes, pues al cesar la corriente que los lleva, ellos vuelven a caer por su propio peso, al suelo. De donde se infiere que no es el aire quien transporta los microbios en las epidemias.

El número de microbios del aire varía considerablemente según los lugares: el aire de las regiones ele-

vadas y el del mar a alguna distancia de las costas, son asépticos. El aire de las ciudades, y el de los lugares confinados, como las prisiones y hospitales, están muy cargados de microbios.

Mientras más débil es el estado higrométrico y mayor es la presión, hay mayor número de microbios. La lluvia, con tal que sea de alguna duración, purifica el aire.

Los microbios que casi siempre se encuentran en la atmósfera de las ciudades son: el Micrococcus radiatus, el Micrococcus viticulosus, la Sarcina alba, el Bacillus aerophilus, el Bacillus inflatus, el Bacillus pestifer.

Los patógenos que se han encontrado en el aire son pocos: el Diplococcus pneumoniæ, el Streptococcus erysipelatis, los Staphylococcus; ellos viven poco tiempo en el aire por la desecación que pronto les sobreviene en él.

Microbios del agua.—Los microbios del agua son más numerosos que los del aire; unos viven en ella solamente poco tiempo, como les sucede generalmente a los patógenos; otros pueden considerarse como verdaderos microbios acuáticos.

No todas las aguas están contaminadas por los microbios; las de fuente en su origen, están privadas de ellos; igual cosa le sucede a las de lluvia, sobre todo después que la atmósfera ha sido lavada por lluvias anteriores.

Las aguas de pozo o de cisterna casi siempre contienen microbios, y muchas veces microbios patógenos; estos últimos viven poco tiempo en el agua por la falta de materiales alimenticios convenientes; pero sus espórulos se van al fondo del pozo o cisterna, y allí permanecen en el limón formado por el reposo del agua, hasta que son ingeridos y pueden desarrollarse.

Las aguas de los ríos, sobre todo si estos atraviesan las ciudades, contienen muchísimos microbios; son las menos adecuadas para la alimentación, porque muchas veces sirven de vehículo para los microbios patógenos, como lo demuestra bien la epidemiología.

La cantidad de materias orgánicas contenidas en el agua, no guarda proporción con su riqueza en micro-

bios; una agua pura químicamente puede contenerlos si ha sido contaminada.

El Bacillus typhosus sembrado en agua natural esterilizada, se mantiene vivo durante un mes; el Spirillum choleræ asiaticæ en algunos casos ha permanecido vivo varios meses; el Bacillus diphteriæ, de una a tres semanas; el Bacillus anthracis, el Bacillus Nicolaïerii, el Vibrio septicus, por varios meses.

Los principales saprofitos encontrados en el análisis de las aguas naturales son: el Micrococcus aquatilis, el Streptococcus albus, el Bacillus gracilis, el Bacillus filiformis, el Bacillus liquefaciens, el Bacillus plicatus, el Spirillum amyliferum, el Spirillum plicatilis, el Spirillum rugula, el Spirillum undula.

Los patógenos encontrados en diversas ocasiones, y en diversos lugares, en las aguas potables, han sido: el Bacillus typhosus, el Spirillum choleræ asiaticæ, el Bacillus coli communis, el Bacillus Friedlaenderi, el Bacillus lactis aerogenes, el Staphylococcus pyogenes aureus, el Staphylococcus pyogenes albus; el Streptococcus pyogenes, el Bacillus pyocyaneus, el Bacillus anthracis, el Bacillus tetani, el Vibrio septicus.

Microbios del suelo.—En el suelo deben encontrarse todos los microbios, como en su receptáculo natural. El análisis de los terrenos ha demostrado que en efecto, un gran número de microbios pululan en ellos, siendo más abundantes allí donde el terreno contiene más materiales orgánicos, animales o vegetales.

A medida que se profundizan las distintas capas del suelo, se observa que los microbios van desapareciendo rápidamente, a causa de la disminución de las materias orgánicas y del oxígeno; de suerte que a una profundidad relativamente pequeña, a un metro y medio o dos metros, las capas de tierra están enteramente desprovistas de gérmenes.

La experimentación demuestra la poca duración de los microbios que están en los cadáveres infecciosos después de enterrados. El Spirillum choleræ había desaparecido a los veinte y ocho días; el Bacillus tuberculosis

a los cuatro meses; el Bacillus tetani a los doce meses; el Bacillus pyocyaneus a los treinta y tres días; el Bacillus Friedlaenderi a los veinte y ocho días; el Bacillus anthracis después de un año; el Bacillus typhosus a los cien días.

Las capas de tierra subyacentes a los cadáveres se encuentran siempre desprovistas de microbios; mientras que las capas superficiales muchas veces los contienen, por causas de las lombrices de tierra, que alimentándose con los cadáveres infectados, y permaneciendo vivos los microbios en su tubo digestivo, con las deyecciones, infectan las capas superficiales; como se ha visto en casos de pústula maligna.

Los microbios que se encuentran comunmente en el suelo son: el Micrococcus nitrificans, el Bacillus diffusus, el Bacillus megaterium, el Bacillus mesentericus vulgatus, el Bacillus mycoides, el Bacillus subtilis y otros muchos.

Los patógenos que se han hallado varias veces son: el Bacillus tetani, el Vibrio septicus, el Bacillus anthracis, el Bacillus typhosus, el Bacillus coli communis, los Staphylococcus pyogenes, el Streptococcus pyogenes, el Bacillus tuberculosis, el Bacillus pestis.

CAPITULO XV

Los microbios del organismo sano

Los humores del cuerpo y los tejidos, que se encuentran en el interior del organismo, carecen en el hombre sano, de microbios; son asépticos; pero aquellas partes del cuerpo que presentan comunicación inmediata con el exterior, se encuentran habitadas por los microbios comensales, o por saprofitos puros que permanecen en ellas un tiempo variable.

En la piel se han encontrado: el Micrococcus lobatus, el Bacillus epidermitis, la Sarcina lutea; y algunos

patógenos como el Staphylococcus pyogenes albus, el Staphylococcus pyogenes aureus, el Bacillus pyocyaneus, el Micrococcus hæmatodes.

En la boca, el Leptothrix buccalis, el Bacillus mesentericus vulgatus, el Bacillus termo, el Bacillus subtilis, el Spirillum undula; y entre los patógenos los Staphylococcus pyogenes, el Diplococcus pneumoniæ, el Bacillus coli communis, el Bacillus diphteriæ.

En el estómago la Mœrismopœdia ventriculi. En el intestino, el Bacillus coprogenes fetidus, el Bacillus cavicida, el Bacillus albuminis, el Bacillus butyricus, el Bacillus intestinus motilis; y entre los patógenos el Bacillus coli communis, el Bacillus lactis aerogenes, el Vibrio septicus y el Bacillus tetani, viviendo como comensales.

En la vagina, el Micrococcus lacteus faviformes, el Micrococcus subflavus, el Bacillus vaginæ; y entre los patógenos los Staphylococcus pyogenes, el Streptococcus pyogenes, el Bacillus coli communis.

En el esmegma prepucial, el Bacillus smegmatis.

CAPITULO XVI

Microbios animales—Los protozoarios

Los protozoarios constituyen los microbios animales; los zoologistas los dividen en tres grupos, que son: los Rizopodos, los Esporozoarios y los Infusorios.

Rizopodos.—Las amibas son de todos los rizopodos los más importantes para la bacteriología, y entre ellas la Amœba dysenterica y la Entamœba histolitica, porque se cree que son los agentes de la disentería endémica.

Las amibas son células compuestas de protoplasma con vacuola, y núcleo central; presentan movimientos

amiboideos; se multiplican por división y al encontrarse en circunstancias digenésicas, se enquistan.

Esporozoarios.—Este es el grupo de mayor importancia bacteriológica; comprende dos grandes divisiones. A la primera pertenecen las mixosporidias, las microsporidias y las sarcosporidias. A la segunda pertenen las coccidias y las gregarinas.

Mixosporidias.—Su tamaño es de 100 a 300 μ; su forma es globulosa, y tienen el protoplasma granuloso y un núcleo central. Presentan movimientos lentos. Se dividen en numerosos elementos, los cuales son redondeados y se llaman esferas primitivas, las cuales tienen uno o dos núcleos.

De las esferas primitivas nacen los espórulos; los cuales constan de una cápsula bivalva, de un protoplasma nucleado y de una, hasta cuatro cápsulas polares, cada una de las cuales encierra un filamento espiral.

Al abrirse los espórulos sale de su interior el protoplasma con un núcleo; este elemento crece y viene a ser la nueva mixosporidia. Son parásitos de los peces, de los reptiles, de los artropodos y de otros animales.

Microsporidias.—Son corpúsculos de 4 μ de largo y 2 μ de ancho; de forma ovoidea o piriformes; tienen una membrana, y el protoplasma sin núcleo visible, pero con una vesícula llamada cápsula polar que contiene un filamento. La pebrina de los gusanos de seda, es producida por una microsporidia: el Microsporidium bombycis.

Sarcosporidias.—Están formadas de tubos de uno a cinco milímetros de largo, llamadas tubos de Miescher, los cuales están compuestos de una membrana con tabiques que dividen la cavidad general del microbio en alveolos, los cuales contienen los espórulos.

Los espórulos están formados de una cápsula con núcleo, granulaciones cromáticas y una cápsula polar. Viven las sarcosporidias como parásitos en los músculos y en el tejido conjuntivo de los mamíferos y de los pájaros.

Coccidias.—Las coccidias son parásitos celulares de muchos animales y del hombre, puesto que a ellas pertenece el hematozoario de Laveran.

Presentan un doble ciclo de evolución; un ciclo caracterizado por la reproducción sexual o esporogonia, y el otro caracterizado por la reproducción asexual o schizogonia.

Esporogonia.—Los elementos celulares machos se llaman microgámetas, y los elementos hembras macrogámetas.

Los macrogámetas tienen una forma alargada o elíptica, con un núcleo que contiene un cariosoma, protoplasma granuloso y sin membrana.

Los microgámetas vienen de una célula con protoplasma granuloso, producida por un merozoito, con núcleo provisto de cariosoma y sin membrana, llamada microgametoblasto, la cual se divide en muchos elementos fusiformes y encorvados, generalmente provistos de flagella, los cuales son los microgámetas.

Los microgámetas fecundan los macrogámetas, penetrando en su interior y fundiéndose con ellos. La fecundación la opera un solo microgámeta para cada macrogámeta, y el elemento fecundado se llama el zígote, el cual poco tiempo después se forma una cápsula, y entonces se llama el ooquiste. Dividiéndose después el ooquiste engendra los esporoquistes, los cuales se dividen a su vez en dos o más esporozoitos.

Schizogonia.—Los esporozoitos penetran en las células animales en donde toman por lo común la forma redondeada y entonces se llaman schizontes; los schizontes crecen y se dividen en merozoitos que son movibles y penetran de nuevo en la célula animal para repetir su evolución asexual.

Después de varias evoluciones asexuales, los últimos merozoitos se transforman en gámetas, diferenciándose en macrogámetas y microgametocitos, los cuales engendran los microgámetas.

Las coccidias comprenden los generos Coccidium, Klossia, Plasmodium, Hemogreganina y Piroplasma.

El Plasmodium encierra el hematozoario del hombre, el del mono, el del murciélago y el de las aves. El Hemogreganina contiene los hematozoarios de los animales de sangre fría. El Piroplasma contiene hematozoarios de muchos animales y del hombre.

Gregarinas.—Las gregarinas son parásitos de los artrópodos, formados por una envoltura, el epicito, y un contenido que puede estar formado de uno o dos segmentos; el segmento anterior, cabeza o protomeridio, lleva un apéndice fijador, el epimeridio; el segmento posterior llamado cuerpo o deutomeridio contiene el núcleo.

Infusorios.—A los infusorios pertenecen los tripanosomas, que son parásitos del hombre y de los animales. Son elementos que tienen una extremidad con un flagellum y la otra libre; una membrana ondulante continua con el flagellum; un núcleo y cariosoma.

Los tripanosomas pueden multiplicarse por segmentación longitudinal o transversal; o a veces tomando la forma esférica se segmentan en muchos elementos que vuelven a tomar la forma primitiva.

TRATADO SEGUNDO

—

TECNICA BACTERIOLOGICA GENERAL

—

La Técnica Bacteriológica comprende tres partes que son: la técnica usada para hacer una preparación microscópica; la empleada para la obtención de los cultivos; y la técnica para la experimentación de los animales.

CAPITULO I

Técnica de las preparaciones microscópicas

Para hacer una preparación microscópica, hay procedimientos que se usan con la generalidad de los microbios, y métodos especiales a determinados microbios.

El método general usado para hacer una preparación microscópica, comprende tres operaciones llamadas la colocación, la fijación y la coloración.

Colocación.—La colocación es aquella operación por la cual la sustancia que contiene los microbios es puesta en la lámina o en la laminilla en que se van a estudiar al microscopio.

Para transportar los microbios, se emplea un alambre de platino soldado a una barra de vidrio; el alambre

se esteriliza enrojeciéndolo a la llama, generalmente del mechero de Bunsen, antes y después de usarlo.

Colocación por unción.—Tomando, pues, una mínima gota del líquido en que están los microbios, con el alambre de platino esterilizado, se la unta en el centro de la cara superior de la lámina microscópica, tenida con unas pinzas, de manera a formar una capa delgadísima.

Si los microbios se encuentran en un cultivo sólido es necesario poner previamente en la lámina una pequeña gota de agua para diluir la masa que forman estos gérmenes en dichos cultivos.

Colocación por fricción.—Si en lugar de tenerlos en cultivos, es en los tejidos en donde están los microbios, entonces se emplean pinzas en vez de alambre, las cuales se esterilizan antes y después de la operación, que se hace tomando un pequeño pedazo del tejido y frotándolo contra la cara superior de la lámina.

Una vez terminada la colocación, se espera que la parte untada de la lámina se deseque, antes de pasar a la segunda operación; y se puede acelerar la desecación, calentando ligeramente la lámina untada, encima del mechero de Bunsen, a una distancia conveniente de la llama.

Fijación.—La segunda operación se practica pasando tres o cuatro veces la lámina, con la cara untada vuelta hacia arriba, por la llama del mechero de Bunsen, o en su defecto por la de una lámpara de alcohol.

La fijación puede hacerse también sumergiendo la lámina en alguno de los líquidos llamados fijadores, de los cuales los más empleados en bacteriología son el alcohol–éter: partes iguales de alcohol absoluto y de éter sulfúrico; o el alcohol–acetona: cinco partes de alcohol absoluto y una de acetona.

Coloración.—La tercera operación se efectúa colocando algunas gotas de la solución colorante en la parte untada de la lámina, y dejándola allí durante un tiempo que varía, según la solución empleada, de algunos segundos a varias horas.

Las materias usadas para preparar las soluciones colorantes, son los colores de anilina y algunas veces la hematoxilina y el carmín.

Los colores de anilina se dividen según Ehrlich en colores ácidos, básicos y neutros.

Los colores ácidos son aquellos formados por un ácido colorante, unido a una base coloreada o no; son los colorantes difusos del protoplasma celular, es decir que no son colores electivos. Los más usados son la eosina, la fluorescina, la aurancia, la coccinina, la fuchsina ácida, el orange G. El picrocarmín es también colorante ácido, derivado del carmín.

Los colores básicos son aquellos producidos por un ácido incoloro y una base colorante; son colorantes electivos, es decir, que tiñen el núcleo o más bien la cromatina nuclear, y son los propios colorantes de los microbios, los cuales toman el color a la manera de los núcleos celulares. Son muy numerosos, y se dividen en violetas, azules, rojos, verdes, brunos y negros.

Los violetas más usados son: el violeta de genciana, la tionina, el kristall-violet, el violeta de metilo B, el violeta de metilo 6 B, el violeta dahlia, el violeta de París.

Los azules son: el azul de metileno, el azul de quinoleina, el azul Victoria, el azul policromático de Unna.

Los rojos son: la fuchsina, la rubina, el Neutral-Roth, la safranina.

Los verdes son el verde de metilo y el verde malaquita.

Los brunos son el bruno de Bismark y la vesuvina.

Los negros son el negro Colín y la indulina.

Los colores neutros vienen de la mezcla de los ácidos y de los básicos.

Las soluciones simples son la alcohólica, al uno de la materia colorante por diez de alcohol absoluto; la acuosa al uno del colorante por ciento de agua; la hidro-alcohólica al cinco de la solución alcohólica por ciento de agua; la mezcla se hace al tiempo de usarla; esta última es la que se emplea comunmente.

Para aumentar la intensidad de la coloración se han inventado soluciones, en las cuales, además de la materia colorante, hay un mordente. Las soluciones mordentadas de más uso son:

Fuchsina de Ziehl. Fuchsina, una parte; ácido fénico puro, 5; alcohol absoluto, 10; agua, 100 partes.

Kristall–violet fenicado de Roux. Kristall violet, una parte; ácido fénico, 2; alcohol absoluto, 10; agua destilada, 100 partes.

Azul de metileno fenicado de Kühne. Azul de metileno, 2 partes; ácido fénico, 2; alcohol absoluto, 10; agua, 100 partes.

Azul policromático fenicado de Unna. Solución de azul policromático de Unna, 20 centímetros cúbicos; ácido fénico, un centímetro cúbico; alcohol ordinario, 10; agua, q. s. para 100 centímetros cúbicos.

Tionina fenicada de Nicolle. Tionina, una parte; ácido fenico, una parte; alcohol ordinario, 10; agua destilada, 100 partes.

En estas soluciones el mordente es el ácido fénico; para usarlas es necesario diluirlas al uno de la solución por diez de agua, salvo en ciertos casos en que se las usa concentradas.

Azul alcalino de Löffler. Solución alcohólica de azul de metileno, 30 partes; solución de potasa cáustica al uno por diez mil, 100 partes.

Azul alcalino de Kühne. Solución alcohólica de azul de metileno, 30 partes; solución de carbonato de amoniaco al uno por ciento, 100 partes

Azul compuesto de Roux. Primera solución: Violeta de dahlia, una parte; alcohol absoluto, 10 partes; agua, 90 partes. Segunda solución: Verde de metilo, 2 partes; alcohol absoluto, 20 partes; agua destilada, 200 partes. Se mezclan las dos soluciones y se filtra.

Violeta anilinado de Ehrlich. Solución alcohólica de violeta de genciana, un centímetro cúbico; agua anilinada 10 centímetros cúbicos. El agua anilinada se prepara mezclando cinco partes de aceite de anilina, con cien partes de agua y luego se filtra. Se debe preparar cada vez que se necesite.

Azul de Borrel. Se colocan, en un frasco de ciento cincuenta centímetros cúbicos de capacidad, 2 gramos de nitrato de plata, 50 gramos de agua destilada, y efectúada la disolución, 100 gramos de lejía de soda al diez por ciento; el precipitado de óxido de plata que se forma, se lava varias veces en agua destilada; decantada la última agua del lavado, se añade la cantidad de solución acuosa saturada de azul de metileno, necesaria para llenar el frasco, se agita varias veces, se deja en reposo durante ocho días y se decanta el azul que se filtra cada vez que va a usarse.

Método de Gram.—El método de Gram es un procedimiento muy usado en bacteriología para reconocer los microbios; a las tres operaciones comunes de colocación, fijación y coloración, se añade una cuarta: la decoloración. Durante esta última operación, unos microbios se decoloran y entonces se dice que no toman el Gram, mientras que otros quedan coloreados, y se dice en ese caso que toman el Gram.

Se practica de la manera siguiente: después de colocados y fijados los microbios en la lámina, se coloran durante cinco minutos por el violeta de genciana anilinado de Ehrlich, o cualquier otro colorante en solución acuosa o hidro-alcohólica; luego sin lavar, se trata durante uno o dos minutos por el líquido de Gram: agua, 300 partes; yoduro de potasio, 2; yodo una parte; después se decolora con alcohol absoluto, o con aceite de anilina puro, o con alcohol-acetona, hasta decoloración completa del fondo de la preparación; y para terminar se lava ésta en xilol.

Método de Claudius.—El método de Claudius sirve para el mismo fin de reconocer los microbios; los que quedan coloreados, se dice que toman el Claudius; y los que se decoloran, que no toman el Claudius.

Para hacer el Claudius se colora la preparación con una solución acuosa de violeta de metilo 6 B, al uno por ciento, durante un minuto; luego se trata durante un minuto por el líquido siguiente: solución saturada de ácido pícrico, una parte; agua destilada, una parte; des-

pués se decolora con el cloroformo hasta que no destiña más. Este método tiene la ventaja de que la decoloración se detiene por sí misma, y no puede por lo tanto hacerse de una manera excesiva, como sucede algunas veces con el de Gram.

Una vez terminada la coloración de las preparaciones, se pueden montar en el bálsamo de Canadá disuelto en cloroformo o en xilol; para lo cual se las deja secar bien, se les agrega una gota del bálsamo disuelto, encima de éste se pone la laminilla, se comprime suavemente y se deja secar el bálsamo.

Para estudiar los microbios vivos y coloreados se hace una preparación de gota pendiente, añadiéndole a la gota del líquido en que están los microbios una gota de la solución acuosa de alguna de las materias colorantes que no son tóxicos para ellos, como la vesuvina, el verde de metilo, el azul de quinoleina, la fuchsina, el Neutral–Roth.

Coloración de los espórulos.—Para colorar los espórulos hay varios métodos; el siguiente es uno de los más usados, y presenta la ventaja de dar un color al espórulo y otro al bacillus: se coloca el líquido en que están los microbios, sobre la lámina, se deja secar y se fija por la llama de Bunsen; se depositan en la parte untada algunas gotas del líquido de Ziehl, se calienta hasta que se produzcan vapores blancos, durante cinco minutos; se lava y se decolora en una solución de una parte de ácido nítrico y tres de agua; se lava y se colora con la solución acuosa de azul de metileno. Los microbios quedan azules y los espórulos rojos.

Coloración de las cápsulas.—Después de colocados los microbios en la lámina y fijados, se colorau con la solución siguiente: ácido acético, 1 parte; solución alcohólica de kristall–violet, 5 partes; agua destilada, 100 partes.

Coloración de los flagella.—Las pestañas se pueden colorar en el microbio vivo por el método de Strauss, que se hace así: se coloca sobre la laminilla una gota del cultivo en caldo, y se le añade una gota de la solu-

ción de Ziehl diluida en tres o cuatro partes de agua; se pone en seguida sobre la lámina común, o sobre la excavada de Koch con la gota hacia abajo, y se examina al microscopio.

Para colorar las pestañas en los bacillus desecados hay varios métodos: los dos siguientes son los más empleados:

Método de Nicolle–Morat. Se toma una pequeña cantidad de un cultivo reciente en gelosa, y se diluye en un poco de agua; luego se toma una gota de esta emulsión y se extiende en una laminilla lavada en alcohol y flambeada, y sostenida con las pinzas de Cornet; se deja secar a la temperatura ambiente.

Después se practica el mordentaje dejando caer algunas gotas de la tinta de fuchsina en la parte untada de la laminilla, y se calienta ésta durante algunos segundos encima de la llama de Bunsen; se lava luego suavemente para no arrastrar los microbios que no están adheridos a la laminilla; esta operación del mordentaje se repite dos o tres veces; y finalmente se colora con el líquido de Ziehl en caliente hasta la aparición de vapores, durante quince segundos.

La tinta de fuchsina se prepara así: solución al veinte de tanino, por ochenta de agua, 10 partes; solución acuosa saturada de sulfato ferroso, 5 partes; alcohol absoluto saturado de fuchsina, 1 parte. No se debe filtrar.

Método de Van Ermengen. Se prepara la emulsión de los microbios y se coloca una gota en una laminilla; se deja secar, y se hace obrar durante una hora en frío, o quince minutos en caliente, el siguiente fijador: solución de ácido ósmico al dos por ciento, 8 centímetros cúbicos; solución de tanino al diez por ciento, 16 centímetros cúbicos; ácido acético cristalizable, una gota; luego se lava en agua y en alcohol absoluto.

Después de fijada, se coloca la laminilla, durante dos o tres minutos en la solución siguiente: nitrato de plata cristalizado, un gramo; agua destilada, 200 centímetros cúbicos; en seguida sin lavar la laminilla se sumerge durante un minuto, en el baño reductor si-

guiente: ácido gállico, 5 gramos; tanino, 3 gramos; acetato de soda fundido, 10 gramos; agua destilada, 350 centímetros cúbicos. Se lleva de nuevo al baño de nitrato de plata y se agita hasta que éste tome un tinte negro; por fin se seca y se lleva al microscopio.

Método para hacer preparaciones microscópicas de los tejidos.—Para estudiar los microbios que están en los tejidos es necesario preparar éstos convenientemente mediante las tres operaciones histológicas de fijación, sección y coloración.

Fijación.—La fijación se hace tomando un pedazo del tejido, a lo más de un centímetro cúbico, y sumergiéndolo en 30 centímetros cúbicos de alcohol absoluto, durante tres horas, después de las cuales se reemplaza el alcohol viejo por otro nuevo, en el cual se deja por veinticuatro horas, con lo cual queda fijado.

En lugar de alcohol se puede emplear el sublimado ácido: solución acuosa saturada de sublimado, 100 partes; ácido acético cristalizable, una o tres partes; en treinta centímetros cúbicos de esta mezcla se coloca el tejido durante doce horas; luego se coloca, durante veinte y cuatro horas, en cien centímetros cúbicos de alcohol ordinario, al cual se añaden 20 gotas de tintura de yodo, que quitan el exceso de sublimado; y por último se lleva al alcohol absoluto, durante veinticuatro horas, para deshidratarlo.

Inclusión.—Después de fijado y deshidratado el tejido, se introduce durante cuatro horas en xilol; luego se lleva durante cinco o seis horas a la estufa, a la temperatura de treinta y ocho grados, sumergido en una mezcla de treinta partes de xilol y diez de parafina fusible a 35°; después se pone en parafina fusible a 50°, en la estufa, a la temperatura de 53° durante cuatro horas. Luego se incluye sirviéndose del molde de inclusión.

Cortes con el microtomo.—Una vez incluido el tejido se lleva al microtomo de Cambridge o al de Reichert, y se hacen cortes, los cuales se colocan sobre la lámina, se agregan unas gotas de agua a la cual se le ha añadido clara de huevo, y después que los cortes se

han extendido bien, calentándolos ligeramente, si es necesario, se escurre la solución albuminosa y se deja secar por veinticuatro horas; los cortes se adhieren a la lámina fuertemente, y puede entonces quitarse la parafina, lavando la preparación con xilol y después con alcohol.

Coloración simple.—Para hacer la coloración simple del corte, se colocan encima de la lámina que lo tiene, algunas gotas de azul de Löffler, durante quince minutos; luego durante algunos segundos, se trata por la solución acuosa de tanino al cinco por ciento, se deshidrata por el alcohol absoluto, se lava en xilol y se monta en el bálsamo.

Coloración triple.—Se hace colorando primero durante quince minutos por el carmín alcoholizado de Orth; alcohol ordinario, 1 parte; carmín de Orth, 5 partes; el carmín de Orth se compone de: carmín N° 40, 3 gramos; solución acuosa saturada de carbonato de litina, 100 centímetros cúbicos.

Después se lava en agua destilada y se colora durante dos minutos con el violeta de genciana fenicado; luego se trata por la solución de ácido pícrico a saturación, mezclada con igual volumen de agua destilada, durante dos minutos; se lava con cloroformo, se aclara con esencia de clavos; se lava con xilol y se monta en bálsamo de Canadá.

CAPITULO II

Técnica del cultivo de los aerobios

El cultivo de los aerobios comprende tres operaciones: la preparación del medio de cultivo, la siembra y la colocación a la temperatura eugenésica.

Preparación de los cultivos. Instrumentos.—Los medios de cultivo se preparan en balones comunes; en

los matraces de Pasteur, que son balones con tapa de vidrio cubriente, esmerilada y terminada en un tubo de vidrio; en frascos de Erlenmeyer, que son frascos cónicos; en envases de Fernbach, que son frascos aplanados, con largo cuello estrangulado y tubo lateral asimismo estrangulado.

También se colocan los medios de cultivo en las cajas de Roux, que son grandes cajas de vidrio rectangulares con cuello; en las cajas de Petri, que son cajas de vidrio redondeadas; en las probetas comunes. Estos envases deben lavarse primero con una solución de potasa, después con una solución de ácido sulfúrico o clorhídrico y por último con agua pura.

Esterilización de los instrumentos.—Luego que estos envases están secos, se tapan con algodón en rama, o se envuelven en papel de filtro ordinario los que se pueden tapar, y se esterilizan en seguida en el horno de Pasteur.

Horno de Pasteur.—Se compone de un cilindro de latón, de doble pared, con un fuerte mechero de gas en su parte inferior; los objetos que se van a esterilizar se ponen en una cesta metálica que hay en el interior del cilindro, y se tapa éste. Se enciende el mechero, teniendo cuidado de aplicar el fósforo encendido antes de abrir la llave del gas, para evitar la explosión.

El horno de Pasteur sirve para esterilizar los instrumentos de vidrio solamente; éstos deben permanecer en él el tiempo necesario para que el algodón de las tapas, o el papel envolvente, tomen un color bruno claro; este color indica que los objetos han estado en el horno el tiempo necesario, que es de treinta minutos, a la temperatura conveniente, que es de 180°, para su esterilización.

En vez del horno de Pasteur, puede usarse el horno de Chantemesse, que no difiere de aquél sino porque es rectangular, en vez de cilíndrico.

Medios de cultivo.—Los medios de cultivo se dividen en medios líquidos y medios sólidos. Los medios

sólidos pueden ser medios sólidos trasparentes y medios sólidos opacos.

Los medios líquidos son: los caldos de carne; los líquidos orgánicos naturales, como son: la leche, la orina, el suero de la sangre, el humor acuoso; las preparaciones principalmente minerales, como los líquidos de Raulin, de Pasteur, de Cohn. Los más usados de estos medios líquidos son: los caldos de carne, el suero líquido y la leche.

Caldo.—Para preparar el caldo de carne, según Roux, se toman 500 gramos de carne picada y se hacen macerar durante doce horas a cero grados, o durante media hora en baño-maría a 60°, en un litro de agua; se cuela en un pedazo de tela gruesa, y se lleva lentamente a ebullición agitándolo; se deja hervir durante algunos minutos, y se hace pasar por un filtro mojado; se le añaden diez gramos de peptona y 5 gramos de sal común, y se alcaliniza ligeramente con lejía de soda.

Después se calienta en el autoclave a 115° durante un cuarto de hora; se filtra al retirarlo del autoclave; se reparte en los envases de cultivo y se esteriliza en el autoclave a 115° durante veinte minutos.

Autoclave de Chamberland.—Se compone de una caldera de cobre que se cierra con una tapa de bronce, en la cual hay una válvula de seguridad, una llave de vapor y un manómetro metálico, que marca la presión en atmósferas y la temperatura en grados centígrados.

La adaptación entre la caldera y la tapa se hace por medio de tornillos y tuercas y la interposición de un aro de caoutchouc. En el interior hay una cesta de tela de cobre sobre pies de cinco centímetros de alto. La caldera reposa sobre un horno de latón, que tiene una o dos coronas de mecheros de gas.

Para hacerlo funcionar se ponen en la caldera uno o dos litros de agua; luego la cesta con los objetos que se van a esterilizar; se tapa, se abre la llave de vapor y se enciende el mechero de gas. Se deja hervir el agua hasta que salga por la llave de vapor un chorro continuo de vapor de agua, y entonces se cierra esta llave. La

aguja del manómetro sube rápidamente, y así que llega a la temperatura deseada, se arregla el gas por tanteos, de suerte que la temperatura se mantenga al mismo grado durante el tiempo necesario.

Terminada la esterilización, se apaga el gas; se deja que la aguja manométrica vuelva al cero, y se abre la llave de vapor; así que ha salido todo el vapor, se destapa la caldera y se sacan los objetos.

Durante la esterilización al autoclave, principalmente desde que se cierra la llave de vapor, no es permitido separarse de él, para impedir que se produzca una explosión.

Caldos pepto-glicosado y pepto-glico-glicerinado. —Antes de la última esterilización del caldo, se le pueden añadir 30 gramos de glicosa, y se tiene el caldo pepto-glicosado. También se le pueden añadir, además de los 30 gramos de glicosa, 40 gramos de glicerina y se tiene el caldo pepto-glico-glicerinado.

Caldo suero. Caldo sangre.—El caldo suero se prepara añadiendo al caldo ya esterilizado la mitad, la tercera o la cuarta parte de suero sanguíneo aséptico. El caldo sangre se hace añadiendo al caldo ya esterilizado la mitad, la tercera o la cuarta parte de sangre aséptica.

Leche. —La leche se prepara repartiendo en probetas esterilizadas, leche fresca alcalina que se calienta en el autoclave a 115° durante veinte minutos. También puede pasteurizarse o tindalizarse para evitar las transformaciones que la alta temperatura produce en ella.

Pasteurización.—Se colocan las probetas que tienen la leche en el baño-maría a sesenta grados durante ocho días; los gérmenes mueren en este lapso de tiempo y la leche queda esterilizada.

Tindalización.—Se ponen las probetas con la leche en baño-maría a la temperatura de sesenta y cinco o setenta grados, durante una hora todos los días, por cinco o seis días consecutivos; esta oscilación de temperatura mata los microbios, y la leche queda esterilizada.

Humor acuoso.—El humor acuoso se extrae extirpando los ojos del buey, del carnero o del puerco, acabados de matar, y con una pipeta de Pasteur esterilizada, rota la punta, se punciona la cornea, previamente cauterizada con una lámina de platino caliente, y se hace penetrar el líquido ejerciendo presión sobre el ojo; se cierra la punta de la pipeta a la lámpara, y si se quiere conservar el humor acuoso, se cierra también la otra extremidad de ella.

Pipeta de Pasteur.—La pipeta es un tubo de vidrio, estirado en uno de sus extremos, tapado con algodón en el otro extremo, y el cual presenta una estrangulación. Se esteriliza en el horno de Pasteur.

Medios sólidos.—Los medios sólidos transparentes más empleados son: la gelatina, el agar-agar o gelosa y el suero gelatinado. Los medios opacos son: la papa, que es el más usado, la albúmina de huevo endurecida y otros que casi nunca se usan en la técnica común.

Gelatina.—Para preparar la gelatina, se maceran 500 gramos de carne picada, durante doce horas en frío o media hora a 60°, en un litro de agua y después se cuela la maceración por una tela gruesa; se le añaden 10 gramos de peptona, 5 gramos de sal común y 100 gramos de gelatina blonda; se calienta al baño-maría a 60° para disolver la gelatina y se alcaliniza.

Se hierve después a 100° en el autoclave durante una hora; si no coagula bien o no tiene bastante transparencia se le agrega una albúmina de huevo diluida en 50 gramos de agua y se calienta a 100°; se filtra en caliente y en un filtro de Chardin mojado y se reparte en las probetas, en las cuales se esteriliza a 100° durante quince minutos por tres días consecutivos.

Gelatina de Buchner.—Se prepara disolviendo en caliente en mil gramos de agua, cien gramos de gelatina, veinte de azúcar, cinco de extracto de carne de Liebig y cinco de peptona; después se le añade a la solución 5 gramos de fosfato tricálcico y se hace hervir durante algunos minutos, se esteriliza a 115°, se filtra

se pone en probetas y se esteriliza de nuevo a 115°, durante quince minutos.

Los tubos de gelatina se ponen a enfriar colocados verticalmente o inclinados; al solidificarse la gelatina, la superficie libre queda horizontal en los primeros y formando un plano inclinado en los otros.

Gelosa.—La gelosa se prepara haciendo macerar, como para el caldo y la gelatina, 500 gramos de carne en un litro de agua; se cuela y exprime en una tela; se le añaden 10 gramos de peptona y cinco gramos de sal común, se hace hervir y se filtra. Se alcaliniza bien con la lejía de soda, se añaden 15 gramos de gelosa picada que se ha lavado bien en una solución débil de ácido clorhídrico y después en agua, repetidas veces.

Se calienta la mezcla agitando hasta que se disuelva la gelosa, se cuela por una tela gruesa o por un tamiz, se deja enfriar a 55°, se le añade una albúmina de huevo disuelta en cincuenta gramos de agua, se calienta a 120° en el autoclave durante tres cuartos de hora, se filtra por papel Chardin en un embudo de filtrar en caliente y se reparte en probetas, que se esterilizan a 115°, durante veinte minutos.

Gelosa glicerinada.—Para hacer la gelosa glicerinada, se añaden 40 gramos de glicerina a la maceración de carne, y los demás tiempos se hacen como para la gelosa pura. Y si se quiere tener gelosa pepto-glico-glicerinada, se añaden, junto con la glicerina, 50 gramos de glicosa.

Gelatina-gelosa.—Para preparar la gelatina-gelosa, se hace un litro de caldo ordinario, al cual se le añaden 100 gramos de gelatina, se calienta, y una vez disuelta la gelatina y alcalinizada, se le agregan 5 gramos de gelosa; se hierve hasta disolución, se deja enfriar a 55°; se le añade una albúmina de huevo disuelta en cincuenta centímetros cúbicos de agua, se esteriliza a 115° durante 20 minutos, se filtra, se reparte en las probetas y se esteriliza de nuevo a 115° grados durante treinta minutos.

Los tubos de gelosa se ponen a enfriar colocándolos oblicuamente de manera que al solidificarse tengan la superficie libre en forma de plano inclinado.

Suero sanguíneo. Método de Nocard y Roux.— Para preparar el suero sanguíneo según este método, se necesitan los envases de suero, que son bocales con cuello ancho que se tapan con dos tapas cubrientes de papel atadas al cuello, de las cuales la exterior baja más que la otra. Se esterilizan en el horno de Pasteur.

Se necesita también un trocart a cuya cánula, una vez retirado el estilete, se le puede adaptar un tubo metálico que lleva un tubo de caoutchouc, el cual por el otro extremo termina en un tubo de vidrio afilado y cuya extremidad libre está cortada a bisel. Van metidos en una probeta y allí se esterilizan en el autoclave.

Son necesarias además unas pinzas de forci-presión con los dientes cubiertos de caoutchouc, unas tijeras curvas, un bisturí y pinzas comunes.

Se extrae el suero del caballo o del asno, para lo cual se afeita la región de la yugular y se lava con soluciones antisépticas; se comprime la parte inferior de la yugular para que se ponga prominente y se corta la piel por encima del punto comprimido; luego por la herida de la piel se mete el trocart, y se penetra en la vena dos o tres centímetros más abajo para que no coincida la herida de la vena con la de la piel.

Se saca el estilete de la cánula y se ajusta el tubo metálico, por el cual sale la sangre, que se recoge en los envases de suero, los que se colocan en un lugar fresco, para que se efectúe la coagulación y retractación del coágulo, lo cual tiene lugar al cabo de veinte y cuatro o cuarenta y ocho horas.

Balón pipeta de Chamberland.—Para extraer el suero de los envases, se emplea el balón-pipeta de Chamberland, que es un balón cuyo cuello se prolonga en un tubo inclinado a 45°, abierto en su extremidad superior y con una o dos estrangulaciones que sirven para sujetar el tapón de algodón que lleva; en la parte superior del balón y al lado del cuello hay otro tubo

doblemente encorvado, que termina adelgazándose y cerrado a la lámpara, el cual se llama la pipeta lateral.

Globo de Miquel.—También se puede emplear el globo de Miquel, el cual es un globo de vidrio con dos tubos, uno que sale del polo superior, inclinado a 45°, con una estrangulación para la tapa de algodón; el otro que sale del polo inferior, está encorvado en forma de U, después se dirige hacia afuera y arriba, termina afilado y está cerrado a la lámpara.

Para efectuar el transvase del suero se toma el balón-pipeta esterilizado, se quiebra la punta de la pipeta lateral, se introduce ésta después de flambeada en el envase del suero, sin que toque el coágulo, y se aspira el líquido. Una vez lleno el balón-pipeta, se introduce la pipeta lateral en las probetas y se va virtiendo en ellas el suero hasta un cuarto de su capacidad. Si se quiere conservar el suero en el balón-pipeta, entonces al sacarlo del envase del suero se cierra a la lámpara la pipeta lateral.

Suero glicerinado.—Si se quiere tener suero glicerinado, antes de cerrar la pipeta lateral, se aspira por ella glicerina esterilizada previamente a 115°, en la cantidad de seis por ciento del volumen de suero contenido en el balón-pipeta, y después se reparte en las probetas, o se cierra a la lámpara la pipeta lateral.

Suero gelatinado.—Para gelatinizar el suero se colocan las probetas que lo contienen, en el aparato de Koch o en la estufa de Arsonval, de manera que queden oblicuas, para que al solidificarse presente el suero una superficie oblicua; se hace que la temperatura suba a los 70°, y se dejan allí los tubos el tiempo necesario para la solidificación; y como no se solidifican todos al mismo tiempo, es necesario irlos retirando del aparato o de la estufa a medida que lo estén y presenten un aspecto ambarino y una semi-trasparencia especial.

Método de Koch para la preparación del suero.—Se toman las campanas de Koch, que son dos grandes cubetas de vidrio, de las cuales la una sirve de tapa a la otra, y previamente esterilizadas, se llevan al lugar

en que van a sangrar el animal; se recoge la sangre en la cubeta inferior hasta los dos tercios de su capacidad, se vuelve a tapar y se lleva a un lugar fresco, en donde se deja en reposo para que se efectúe la coagulación.

Después se extrae de las campanas el suero, con el balón-pipeta, se reparte en probetas y se llevan a tindalizarse, calentándolas a 58°, durante una hora en el baño-maría, por seis u ocho días seguidos. Si se quieren gelatinizar se procede como se dijo en el método anterior.

Papas.—Las papas se preparan quitándoles cuidadosamente la película, lavándolas bien con un cepillo y poniéndolas después en una solución de sublimado al uno por mil, durante una hora; luego se cortan en pedazos y se ponen en una caja de Petri, o en un tubo de Roux, que es una probeta grande, que presenta en su tercio inferior una estrangulación, la cual impide que la papa toque el fondo de la probeta; y forma en ella una cavidad llamada cámara de agua, porque allí se deposita el agua que sale de la papa durante la cocción.

Después las cajas de Petri, o los tubos de Roux, con las papas, se esterilizan a 115° durante media hora.

CAPITULO III

Método para efectuar la siembra de los microbios

Siembra en caldo.—La operación de la siembra en caldo puesto en la probeta comprende tres tiempos: destapar la probeta, introducir los microbios y volverla a tapar.

Se toma la probeta con el pulgar, el índice y el medio de la mano izquierda y se la mantiene muy inclinada; con los mismos tres dedos de la mano derecha se sostiene la barra de vidrio que lleva el alambre de platino en su extremidad, en el cual van los microbios;

se destapa entonces la probeta, tomando el algodón que la tapa entre el anular, el meñique y la eminencia hipotenar de la mano derecha.

Inmediatamente después se procede al segundo tiempo, introduciendo el alambre de platino en el caldo, agitándolo varias veces, y retirándolo en seguida, teniendo cuidado de no tocar con él las paredes de la probeta al introducirlo ni al sacarlo; y para terminar se vuelve a colocar la tapa.

Es muy conveniente el flambear la extremidad de la probeta antes y después de ponerle la tapa, luego que se ha efectuado la siembra. Por último se pone el rótulo con el nombre del microbio, si se sabe, y la fecha del día en que ha sido sembrado.

Siembra en gelatina.—La siembra en gelatina se hace de dos maneras: por punción en aquellas probetas en que la gelatina tiene horizontal la superficie libre; y por estriación en las que la tienen oblicua.

Para hacer la siembra por punción, se toma la probeta con el pulgar, el índice y el medio de la mano izquierda y se tiene oblicuamente, como se hace con el caldo; igualmente con los mismos tres dedos de la mano derecha se sostiene la barra que lleva el alambre de platino cargado de microbios; se destapa la probeta siguiendo el mismo método dicho para el caldo, es decir, tomando el algodón entre el anular, el meñique y la eminencia hipotenar de la mano derecha.

Después se introduce el alambre hasta la superficie de la gelatina, se hace penetrar por la parte central de dicha superficie; se sigue por el eje del cilindro que forma la gelatina, hasta llegar al fondo de la probeta, y se retira el alambre siguiendo el mismo trayecto por el cual se entró; luego se tapa la probeta, se flambea y se rotula. También se puede hacer la siembra teniendo la probeta verticalmente con la abertura hacia abajo.

Para hacer la siembra por estriación, después de destapada la probeta se introduce el alambre y se raya con él la superficie de la gelatina desde la parte inferior hasta la superior; los demás tiempos se hacen como en la siembra por punción.

Siembra en gelosa y en suero —La siembra en gelosa se hace por estriación o por punción como en la gelatina. La siembra en suero se hace solamente por estriación.

Siembra en papas.—La siembra en papas se hace por estriación como en los medios anteriores, o por unción. La unción se practica paseando el alambre suavemente por la superficie de la papa, de manera que quede cubierta toda ella de la semilla.

Las siembras en los balones, en los frascos de Erlenmeyer, en los matraces de Pasteur y en los envases de Fernbach, se hacen aplicando las reglas generales dadas para las siembras en las probetas, y modificándolas según el envase en el cual se va a sembrar.

Cultivos en placas.—Las siembras en las placas de Petri se emplean constantemente en bacteriología con tres objetos: estudiar la forma de la agrupación de microbios, o sea la colonia de cualquier microbio en estado de pureza, la cual en ciertas especies es característica; purificar los cultivos separando las diversas especies que contienen los que estan impuros; aislar los distintos microbios que pueden encontrarse en los medios naturales, o en las distintas materias provenientes del organismo.

Para sembrar en placas, se toma una probeta de gelatina que se licúa con el calor de la mano, o en baño-maría a la temperatura de 35° o 40°, y se siembran allí los microbios, como si se sembrara en caldo.

Luego se toma la probeta ya sembrada, con la mano derecha, se destapa, se flambea su abertura, y con la mano izquierda se levanta la tapa de la caja de Petri, abriendo sólo un lado, y únicamente lo indispensable para permitir la penetración de la extremidad superior de la probeta; se vierte su contenido dentro de la caja, que se vuelve a tapar en seguida.

Se extiende después la gelatina por toda la superficie de la caja de Petri, para formar en el fondo de ella una delgada capa, y se coloca sobre una superficie fría para que se coagule pronto.

Cultivos en cajas de Roux.—Para hacer los cultivos en las cajas de Roux, se siembran los microbios en la gelatina licuada, como para las siembras en placas; se toma la caja de Roux entre el pulgar y el índice de la mano izquierda, y la probeta con los mismos dedos de la mano derecha; se destapa la probeta con los dedos libres de la mano izquierda y se flambea.

Después se destapa la caja de Roux con los dedos libres de la mano derecha; se pone horizontal; se introduce la extremidad de la probeta dentro, y se vierte la gelatina; se flambea el orificio de la caja y se tapa; se reparte la gelatina por toda la superficie de ella y se pone en un plano frío a solidificar.

Colocación a la temperatura óptima.—Después de sembrados los microbios, necesitan para germinar, primeramente, el ser colocados a la temperatura favorable a su desarrollo, y adecuada al medio de cultivo en que han sido sembrados; y en segundo lugar, que esta temperatura se mantenga fija, sin oscilaciones, por leves que sean.

Estas dos condiciones las llenan los aparatos llamados estufas de incubación; las que se usan generalmente son las de Roux y la de Arsonval.

Estufa de Roux.—Consiste esta estufa en un armario rectangular de madera, con puerta de vidrio, colocado sobre cuatro patas, encima de un mechero de gas. Alrededor de la cara interna de las paredes hay una serie de tubos de cobre verticales, por los cuales circula el aire caliente por la combustión del gas, y de los cuales irradia el calor al interior de la estufa. Presenta aberturas en las partes inferior y superior que permiten la ventilación interior de ella.

La temperatura se mantiene fija, merced a un regulador formado por dos láminas, una de zinc y otra de acero, soldadas y encorvadas en forma de U, el cual está fijado a la pared de la estufa por una barra horizontal, que une la rama interna de la U a dicha pared. De la otra rama parte una barra metálica que sale al exterior, al través de la pared, y que en su extremidad libre

lleva un tornillo, el cual se pone en contacto con una válvula que abre o cierra la entrada del gas que alimenta el mechero.

Para arreglar la estufa, se tuerce el tornillo de la rama del regulador, de manera que abra la totalidad de la válvula que da el gas, y se prende el mechero. Así que un termómetro colocado en el interior de la estufa, marca medio grado menos de la temperatura que se desea obtener, se tuerce el tornillo, hasta que quede en contacto con la válvula, sin ejercer presión sobre ella; en cuyo caso el mechero queda alimentado solamente por el gas que sale por el agujero de seguridad de la válvula. Poco después la temperatura sube el medio grado que faltaba y permanece fija.

En efecto, si acaso la temperatura quisiera bajar, como el metal más dilatable, que es el zinc, se encuentra del lado fuera de la U, el descenso de la temperatura hace separar las ramas, o abrir la U; y como sólo una rama es movible, esta se aleja de la otra, llevando consigo el tornillo que comprime la válvula del gas y la abre. Entra entonces mayor cantidad de gas, y por consiguiente se produce mayor calor. Si la temperatura tiende a subir, se produce el fenómeno contrario, de suerte que la regulación de la temperatura es perfecta.

Estufa de Arsonval.—Esta estufa es una caja metálica, cilíndrica y de doble pared; en su parte inferior, la pared externa es de acero, flexible, y sobre ella se aplica una lámina cóncava, que limita un espacio al cual llega el gas por un tubo que la atraviesa por un paso de tornillo; dos tubos que parten de la lámina, llevan el gas a un mechero situado en la parte inferior de la caja. La parte superior de la misma pared externa, presenta una abertura, en la cual hay un tapón de caoutchouc atravesado por un tubo de vidrio.

Para prepararla se llena el espacio que hay entre la doble pared, de agua recientemente hervida, para que no tenga aire, y se encienden los mecheros. Así que la temperatura marca medio grado menos del que se desea, se coloca el tapón de caoutchouc, y de esta manera queda fija la temperatura.

La temperatura eugenésica u óptima varía con las distintas especies de microbios. Pero relativamente a los medios de cultivo es necesario saber que la gelatina no puede colocarse a más de 20°, porque se licúa a una temperatura mayor; los demás soportan cualquiera de las temperaturas eugenésicas.

CAPITULO IV

Técnica del cultivo de los anaerobios

Los anaerobios se cultivan en medios sólidos o líquidos. Pueden cultivarse en el vacío o en presencia de un gas inerte; el gas de elección en este caso es el hidrógeno. Se ha empleado algunas veces el anhídrido carbónico, el cual no es un gas a propósito, por su acción tóxica para muchos microbios. También se ha usado el gas del alumbrado, fácil de conseguirse, pero que contiene antisépticos, los cuales a veces impiden el desarrollo de estos gérmenes.

Pipeta de Roux para anaerobios.—Este es un tubo de diez centímetros de largo y diez y ocho milímetros de diámetro.

Una de sus extremidades se continúa con un largo tubo afilado y cerrado a la lámpara; la otra extremidad está unida a un tubo más delgado que lleva un tapón de algodón entre dos estrangulaciones.

Para cultivar los anaerobios en la pipeta de Roux, se siembran primeramente en caldo en la probeta común, se rompe la punta del tubo afilado de la pipeta, se flambea, y se introduce en el caldo ya sembrado, el cual se aspira por el tubo del otro extremo, hasta llenar la pipeta en los dos tercios de su capacidad; se retira ésta entonces de la probeta, tapando con el dedo el tubo en que está el tapón de algodón, y se la pone horizontal para cerrar de nuevo a la lámpara el tubo afilado.

Después se lleva la pipeta a la máquina pneumática, y se hace el vacío; así que haya salido gran parte del aire, se hace hervir a una baja temperatura el caldo sembrado; luego se hace penetrar el hidrógeno, que se extrae de nuevo, y después de lavar la cavidad interior de la pipeta, varias veces con el hidrógeno, se cierra a la lámpara el tubo en que está el tapón de algodón, al nivel de la estrangulación superior, y se lleva la pipeta a la estufa.

Tubo de Pasteur para anaerobios.—Consta de un tubo de dos ramas cerradas, al cual está soldado en la parte convexa un tubo de menor diámetro, que lleva una estrangulación; cada una de las ramas lleva un tubo afilado, delgado y cerrado a la lámpara.

Para usarlo se siembran los microbios en caldo, como ya se ha dicho, después se rompe la extremidad de uno de los tubos afilados, se flambea y después de frío se introduce en la probeta en que está el caldo sembrado, y se aspira por el tubo estrangulado, hasta llenar las dos terceras partes de la rama correspondiente, y después se cierra a la lámpara el tubo afilado. De una manera idéntica se llena la otra rama con caldo no sembrado que va a servir de testigo del cultivo.

También hay el tubo simple de Pasteur, que es una sola rama del tubo ya descrito, con el tubo de la estrangulación, y el tubo afilado; por el tubo de la estrangulación se aspira el caldo sembrado en una probeta, en la cual se ha introducido el tubo afilado; se hace el vacío y el lavado con hidrógeno, después de cerrado a la lámpara el tubo afilado; y para terminar se cierra también el tubo estrangulado y se lleva a la estufa.

Los anaerobios también se pueden sembrar en las probetas de caldo comunes, las cuales se ponen bajo la campana de la máquina pneumática; se hace el vacío, y se llevan a la estufa, dejándolas bajo dicha campana.

Método del frasco de Pasteur.—Se toma un frasco fuerte con una tapa de caoutchouc que tenga dos orificios; por uno de ellos, se hace pasar un tubo de vidrio

que baja hasta el fondo del frasco, cuya parte exterior está acodillada, y presenta una estrangulación para detener el algodón que lo tapa; por el otro orificio se hace pasar un pequeño tubo, tapado con algodón y con una cubierta de papel. El frasco debe llevar, además, un tapón de caoutchouc, que pueda entrar en el tubo pequeño, envuelto en papel.

Para hacer el cultivo, se pone el caldo en el frasco, se tapa y se esteriliza en el autoclave; al sacarlo se pone inmediatamente en comunicación por medio del tubo encorvado, con el aparato productor de hidrógeno, se hace que este gas circule por el frasco, y mientras tanto se quitan el papel y el algodón del otro tubo, y por él se siembran los microbios.

Una vez sembrados, se vuelve a poner el algodón, teniendo cuidado de no flambear, y en seguida se pone la tapa de caoutchouc que se toma con unas pinzas flambeadas; se cierra el otro tubo con el soplete, por fuera del algodón, se cubren los tapones de caoutchouc con cera Golas derretida, y se lleva el frasco a la estufa.

Método del balón común.—Se toma un balón ordinario, al cual se le hace una estrangulación en la parte inferior del cuello; se esteriliza y se pone en él caldo esterilizado; se siembran los microbios y la tapa de algodón se hace penetrar hasta la estrangulación; después se estira con el soplete, el cuello del balón, para que pueda entrar en el tubo de caoutchouc de la máquina pneumática; se hace el vacío y se lava con el hidrógeno varias veces; se cierra con el soplete por fuera del algodón, y se lleva a la estufa.

Se puede hacer el cultivo en una pipeta de Roux, sin necesidad de hacer el vacío, para lo cual se enfría bruscamente una probeta de caldo, al sacarla del autoclave, o haciéndola hervir previamente; se siembran los microbios en seguida que se enfríe; se aspira el caldo con la pipeta hasta la primera estrangulación del tubo del algodón; se cierran el tubo afilado y el estrangulado y se lleva al autoclave.

Cultivo de los anaerobios en medios sólidos.— Pueden hacerse en probetas de veinte y dos centímetros de largo, las cuales se llenan hasta la mitad con gelatina o gelosa, y tapándolas con su algodón, se esterilizan en el autoclave. Al sacarlas, se hacen enfriar bruscamente, sumergiéndolas en agua helada; se siembran por punción, con un largo alambre de platino, que llegue hasta el fondo; luego se vierte encima del medio de cultivo algún cuerpo aislador, como aceite esterilizado o gelosa derretida.

Se le puede añadir al medio de cultivo, alguna de las sustancias oxidables, que absorben el oxígeno, y favorecen así la germinación de los anaerobios. De esta manera puede añadírseles a la gelosa o a la gelatina, la cantidad necesaria para darles un color azul oscuro, de una solución esterilizada de sulfa-indigotato de soda. Al desarrollarse los gérmenes, el color cambia de azul en amarillo claro, por la transformación del indigo azul en blanco.

La glicosa en la proporción de medio o dos por ciento, añadida al medio de cultivo, después de preparado, y antes de la última esterilización, sirve también para estos cultivos.

Puede usarse, asimismo, la pipeta de Roux, aspirando con ella la gelosa o la gelatina acabadas de sacar del autoclave, hasta llenarlas por completo, y cerrando después los dos tubos, se espera que se solidifique el medio; luego se rompe la extremidad del tubo afilado, y por ella se siembran los microbios; se vuelve a cerrar el tubo, y se lleva la pipeta a la estufa.

Método de Roux por el Bacillus subtilis.— El Bacillus subtilis absorbiendo el oxígeno del medio de cultivo, permite que los anaerobios se desarrollen.

Se licúan la gelatina o la gelosa de una probeta, haciéndolas hervir para privarlas de aire, y se hacen solidificar bruscamente; se siembran los anaerobios por punción; se hace caer encima gelosa líquida, la cual al solidificarse sirve de capa aisladora; sobre ella se vierte un cultivo en caldo de Bacillus subtilis, y se cie-

rra la probeta al soplete. El bacillus subtilis forma un velo en la superficie del caldo, que absorbe el oxígeno, y los anaerobios germinan en la parte inferior.

Tubo de Buchner.—Consta de una probeta de grandes dimensiones, que tiene en el fondo un sostén de vidrio o de metal, y una tapa de caoutchouc; dentro de esta probeta se pone una probeta común.

Para hacer el cultivo, se pone el medio sólido o líquido, de cultivo, en la probeta pequeña, previamente tapada con algodón, y esterilizada; se la hace hervir, para privar el medio de aire, se hace enfriar bruscamente, y se siembran los microbios.

En la probeta grande se vierte la solución siguiente: ácido pirogálico, 1 gramo; potasa al alcohol, 1 gramo; agua destilada, 10 gramos. Esta solución no debe llegar a cubrir el sostén; se introduce después la probeta pequeña ya sembrada, se pone el tapón de caoutchouc y se lleva a la estufa.

Tubo de Turró.—Es una probeta terminada en un tubo más delgado, el cual va metido en un balón y soldado a él; este balón tiene una tapa de caoutchouc.

Para usarlo, se vierte dentro de la probeta, por su tubo delgado, el medio de cultivo; se tapa el balón y se esteriliza en el autoclave; al sacarlo se hace enfriar bruscamente, y se siembran los microbios; luego se vierte en el balón la solución de ácido pirogálico, se tapa y se lleva a la estufa. El ácido pirogálico absorbe el oxígeno y permite el desarrollo de los microbios.

Método de Rosenthal.—Se toma una probeta común, tapada con algodón y esterilizada; se vierte en ella el medio de cultivo, y en seguida lanolina licuada por el calor; se tapa con el algodón, se esteriliza a 120° en el autoclave y se hace enfriar bruscamente en posición vertical.

Esta probeta así preparada, se puede conservar cerca de dos meses; cuando se quiere hacer la siembra, se licúa la lanolina a 42°, que es su temperatura de fusión, y al través de ella se siembran los microbios, y después se hace enfriar para solidificar la lanolina.

El cultivo tiene lugar en tubo sellado, según la expresión de Rosenthal. Este es muy buen método.

Cultivo en papas de los anaerobios.—Se toma un tubo de Roux para papas al cual se le suelda en su parte inferior, por debajo de la extrangulación, un tubo lateral estirado en sus dos tercios extremos, y con tapa de algodón.

Se introduce en él la papa, y se esteriliza en el autoclave; así que está la superficie de la papa con el grado de humedad conveniente, se siembran los microbios, y se cierra al soplete la parte superior del tubo; el tubo lateral se pone en comunicación con la máquina pneumática, y así que ya está hecho el vacío, se cierra dicho tubo a la lámpara, y se lleva a la estufa.

Cajas de Kitasato.—Para separar las distintas especies de anaerobios de los cultivos impuros, se emplea la caja de Kitasato, la cual es una caja circular del tamaño de una caja de Petri, que tuviera soldadas las dos partes, y con dos tubos laterales, uno afilado y cerrado a la lámpara, y el otro estrangulado y con tapa de algodón.

Este aparato se esteriliza en el horno de Pasteur; se rompe, para usarlo, la punta del tubo afilado y se sumerge en la probeta de gelatina licuada en que han sido sembrados los microbios; se aspira por el otro tubo, y se cierra de nuevo el afilado; se hace el vacío y el lavado con hidrógeno; se cierra al nivel de la estrangulación; se extiende bien la gelatina por el fondo de la caja, y se pone en la estufa a la temperatura conveniente.

Tubo de Vignal.—También pueden separarse los anaerobios sirviéndose del tubo de Vignal, el cual es un tubo de tres o cuatro milímetros de diámetro y de un metro de largo, afilado en uno de sus extremos y cerrado a la lámpara; el otro extremo presenta una estrangulación y en él va la tapa de algodón. Se esteriliza calentándolo fuertemente en el mechero de Bunsen.

Para usarlo se hace hervir una probeta esterilizada de gelatina con sulfo indigotato de soda; se la deja enfriar bajo una corriente de hidrógeno, que se hace llegar al fondo de la probeta por una pipeta acodillada, la cual se pasa al través del algodón de la probeta; antes de que se solidifique la gelatina, se siembran los microbios.

Se quiebra la punta de la extremidad afilada del tubo de Vignal, se flambea, y se sumerge después de fría, en la gelatina sembrada, la cual se aspira hasta la estrangulación del tubo; se cierran ambas extremidades a la lámpara, y se lleva a la estufa.

CAPITULO V

Técnica de la experimentación en los animales

La técnica de la experimentación en los animales comprende tres partes: las inoculaciones; las observaciones de los animales inoculados, y extracción de sus productos patológicos; y la técnica de las autopsias.

Inoculación.—La inoculación comprende tres operarios que son: la elección y contención del animal; la preparación de los instrumentos y de la materia de inyección; y la inyección.

Elección.—Se usan los mamíferos comunmente; y se elige aquel que presenta receptividad, o que en general conviene a la experiencia que se va a practicar. Los animales que más se usan son: el conejo, el conejillo de Indias, la rata, el ratón, la paloma y la gallina. Los grandes mamíferos, como el caballo, el buey, el carnero, el puerco, necesitan de instalaciones especiales. El perro es casi siempre refractario, y por lo tanto poco usado en bacteriología.

Contención.—El conejo se sostiene sujetando con la mano izquierda la cabeza, y con la derecha las cua-

tro patas; o también en el aparato de contención Czermak, que es una tabla con agujeros, en los cuales se atan las cuerdas, que vienen de los cuatro miembros del animal; tiene también un bozal metálico, sujeto en uno de los extremos de la tabla, el cual sirve para inmovilizar la cabeza. Se anestesia con el éter, o dándole a respirar por *poco tiempo una fuerte dosis* de cloroformo.

El conejillo de Indias se sostiene con las manos, como el conejo; o se introduce la parte anterior de él, en un tubo metálico, con hendeduras laterales; o en el mismo aparato de Czermak. Puede anestesiarse con el cloroformo, aunque rara vez se hace.

La rata y el ratón blancos se agarran con unas pinzas de forci-presión, que tienen las ramas en forma de anillos. Se anestesian con éter. El ratón común es más difícil de manejar, y es necesario servirse de dos pinzas.

La gallina y la paloma se mantienen con las manos. Si alguna vez se quiere experimentar en el perro, lo mejor es servirse de la mesa de vivisección de Jollyet, empleada en la técnica fisiológica.

Instrumentos.—Se necesitan los instrumentos comunes para toda operación: bisturíes, tijeras, pinzas, sondas acanaladas, separadores, agujas de sutura, y otros; los cuales se esterilizan poniéndolos en agua hirviendo durante media hora, antes y después de usarlos. Se necesita también hilo esterilizado y algodón hidrófilo aséptico.

Inyectadoras.—El instrumento especial para esta operación es la jeringa de inoculación, de la cual hay varios modelos; las siguientes son las más usadas:

Inyectadora de Koch.—Es un cilindro de vidrio, al cual por un extremo más angosto se le adapta la aguja; por el otro tiene una pera de caoutchouc; comprimiendo la pera se hace penetrar el líquido de la inyección.

Inyectadora de Strauss-Colín.—Es la inyectadora de Pravaz, en la cual al pistón de cuero se ha sustitui-

do uno de médula de sauco, o de amianto, el cual puede ajustarse más o menos.

Inyectadora de Roux.—Tiene el pistón de caoutchouc en forma de para-caídas doble, y los cojinetes también de caoutchouc.

Inyectadora de Malassez.—Tiene el pistón de vidrio, de suerte que puede exterilizarse con un ácido fuerte, como el ácido nítrico.

Inyectadora de Debove.—Tiene el pistón de amianto y puede desmontarse para hacer mejor la esterilización y la limpieza consecutiva.

Para las inyecciones de grandes cantidades de líquido se usa el aparato para la inyección de suero artificial de Devobe, que puede ser esterilizado fácilmente en el autoclave.

Las agujas pueden ser de acero o de platino iridiado; estas últimas son las mejores, porque las primeras se alteran rápidamente por la acción del calor.

Tanto las inyectadoras, como las agujas, deben ser cuidadosamente desinfectadas antes y después de haberlas usado. Se esterilizan en el autoclave a 120°; o si no se han empleado para inoculaciones con cultivos esporulados, pueden esterilizarse poniéndolas durante media hora en agua hirviendo.

Preparación de las sustancias de inoculación.—Los procedimientos para preparar las materias que van a inocularse, varían según sean éstas sólidas o líquidas. Las sustancias líquidas más usadas, son los cultivos en caldo de los microbios, o las soluciones de las toxinas. También se inoculan la sangre, el suero sanguíneo, los esputos, las serosidades pleural o peritoneal, el pus.

Para preparar la inyección de un cultivo en caldo, primeramente se ha de verificar al microscopio que es un cultivo puro. Con una pipeta de Pasteur exterilizada se aspiran dos o tres centímetros cúbicos de él, y se vierten en un vaso cónico esterilizado, o en una cápsula de platino flambeada; se aspira con la inyectadora provista de su aguja; casi siempre queda una pequeña burbuja de aire en el interior, que lo mejor es

dejarla allí; o si se quiere sacar, hay que tener mucho cuidado para que junto con ella no salte una gota de caldo a infectar el suelo o las personas.

La sangre casi no puede inyectarse, porque se coagula dentro de la inyectadora y de la aguja. La preparación de la inyección de suero y de las serosidades pleural o peritoneal, es idéntica a la de los cultivos en caldo.

El pus se prepara poniendo unas gotas de él, en un vaso cónico, agregándole un poco de caldo, o de la solución de cloruro de sodio al ocho por mil, mezclándolos bien con la pipeta y aspirando la mezcla con la inyectadora.

Los esputos se recogen por el procedimiento de Kitasato: el enfermo se lava repetidas veces la cavidad bucal y la faringea con agua hervida; el esputo se recoge en un vaso cónico esterilizado; se puede lavar con agua esterilizada; se mezcla con agua esterilizada, y la emulsión obtenida se aspira con la inyectadora.

Los cultivos en medios sólidos se preparan tomando con el alambre de platino, una pequeña cantidad, y emulsionándola en un poco de agua o de caldo esterilizado, y aspirándola con la inyectadora.

Las pulpas de órganos, los fragmentos de tejidos, se preparan tomando un pedazo pequeño con unas pinzas esterilizadas; y poniéndolo en un vaso cónico, se machaca con una barra de vidrio flambeada; así que está reducido a una papilla se le agrega gota a gota, una pequeña cantidad de la solución de cloruro de sodio, y se mezcla para emulsionarla. Si quedaren grumos, se cuela por un pedazo de tela fina esterilizada.

Si los tejidos son muy resistentes, se dividen con tijeras esterilizadas, y los fragmentos se muelen en el mortero; luego se agrega la solución de sal, y se cuela si es necesario.

Inoculación.—La operación final se practica inmediatamente después; mas antes es necesario preparar la región elegida para hacerla. Los pelos deben ser cortados, o afeitados, y las plumas arrancadas. Después se

aseptiza la piel, lavándola con la solución de sublimado al uno por mil, o con la de oxicianuro al mismo título.

Inoculación endérmica.—Se lleva a cabo haciendo con un bisturí escarificaciones superficiales sobre la piel afeitada y aseptizada, y untando encima el cultivo que se lleva en un algodón fijo en unas pinzas de forci-presión. Se puede hacer en casi todos los animales, y se escoge la cara dorsal de la oreja, o la piel del dorso, que el animal no puede tocarse. De la misma manera se hace la inoculación endomucosa.

Inoculación subcutánea.—Se hace tomando un pliegue, entre el pulgar y el índice izquierdos, de la piel ya preparada, y en la base de él se introduce la aguja de la inyectadora; se aprieta el pistón hasta que pase todo el líquido; se retira la aguja, y se cierra la herida con colodión antiséptico.

Las sustancias muy sólidas, como los fragmentos de hueso, los de cartílago y otros que no pueden emulsionarse, se introducen bajo la piel, haciendo una incisión con el bisturí, desprendiéndola después con la sonda acanalada, del tejido conjuntivo, e introduciendo el fragmento con unas pinzas flambeadas; luego se sutura la herida, y se cubre con colodión.

Inoculación intramuscular.—Se toma la masa muscular con los dedos índice y pulgar izquierdos; se introduce la aguja profundamente en pleno músculo, y se vierte en él la inyección. En los mamíferos estas inoculaciones se hacen en la raíz de los miembros, y en las aves en los músculos pectorales.

Inoculación intravenosa.—Se comprime con un dedo, o con unas pinzas de presión, la extremidad proximal de la vena, para ponerla prominente, después de haber preparado la piel; se hace, en seguida, penetrar la aguja muy oblicuamente y con lentitud, hasta que se sienta que la punta se mueve libremente en el interior del vaso; se quita la compresión y se vierte la inyección lentamente; se retira la aguja, y se cierra la herida como siempre.

Para hacer esta inoculación en el conejillo de Indias, se escoge la vena yugular. Se prepara la región, y en la parte media del trayecto del vaso, se hace una incisión que comprenda la piel y el cutáneo, y se aisla la vena; se introduce la aguja y se hace penetrar la inyección; se sutura después, y se hace la oclusión de la herida.

En el perro la vena de elección es la pequeña safena; en el conejo la marginal externa de la oreja; en el caballo y los bovídeos es la yugular; en las aves la vena axilar.

Inoculación arterial.—Las inyecciones arteriales se usan también en bacteriología, y las arterias en las cuales se practican son la femoral y la carótida, que tienen en la mayor parte de los animales, una situación muy semejante a la que tienen en el hombre.

Inoculación intraperitoneal.—La inyección intraperitoneal de las sustancias líquidas no necesita de la laparotomía; después de preparada la piel del abdomen, se toma con la mano izquierda un pliegue que comprenda todos los tejidos de la pared; en la base de él se hunde la aguja lentamente, hasta que se la sienta libre en la cavidad peritoneal; se empuja la inyección, se extrae la aguja y se cierra la herida.

Para la inoculación intraperitoneal de las sustancias sólidas, después de preparada la piel, se hace una incisión sobre la línea media; se corta después de la piel, la aponeurosis que une los rectos, sobre la sonda acanalada, y levantando los labios de la herida con pinzas, se introduce el cuerpo que se va a inocular; se suturan la aponeurosis y la piel sucesivamente y se obtura la herida.

Sacos de colodión.—Pueden cultivarse muchos microbios en sacos de colodión, que se incluyen en el peritoneo de los animales; los microbios se encuentran así libres de los fagocitos, que no pueden atravesar la pared del saco, aunque ésta permite los cambios osmóticos entre el medio de cultivo y el organismo del animal.

Los sacos de colodión se fabrican introduciendo una probeta del diámetro que se quiera dar al saco, en un frasco que contenga colodión no ricinado, e imprimiéndole un movimiento de rotación regular, durante el tiempo que se juzgue necesario para darle al saco el espesor conveniente; se saca al exterior y se hace girar al aire libre durante un minuto, hasta que el colodión tome una consistencia semiblanda.

Se secciona después circularmente la extremidad superior de la capa de colodión; se separa de la probeta; se distiende por insuflación; se le adapta un pequeño tubo de vidrio, atándolo con un hilo de seda que se cubre de colodión; se llena de agua; se tapa con un tapón de caoutchouc y se coloca en un frasco con un poco de agua en el fondo, el cual se tapa con el algodón para esterilizarlo en el autoclave.

Para usarlo, se le saca el agua con una pipeta y se reemplaza con el cultivo en caldo del microbio que se va a estudiar, se tapa de nuevo con el tapón de caoutchouc, al cual se le corta la parte excedente, se deshidrata con alcohol absoluto y se cubre de colodión; luego haciendo la laparotomía se introduce en el peritoneo.

Los cultivos en sacos de colodión se hacen en el conejo, en el conejillo de Indias, en el perro, en el carnero, en el buey. En lugar de los sacos de colodión pueden usarse los sacos de rosal.

Las inoculaciones pueden hacerse también en las vías biliares, para lo cual se abre el vientre con las precauciones ya dichas; se busca el duodeno, y en él la desembocadura del canal colédoco, en el cual se introduce la aguja y se vierte la inyección.

Puede inyectarse también en la vena porta, haciendo una incisión, después de la preparación habitual, que costee el borde inferior de las costillas; se busca el duodeno, y en él las venas mesaraicas que conducen a la porta, en la cual se vierte el líquido de la inyección.

Inoculación en la cámara anterior del ojo.—Para hacer esta inoculación, se instilan en el ojo unas gotas de la solución de cocaína al uno por cincuenta; a los

diez minutos se sostiene el globo ocular con los dedos pulgar e índice izquierdos, y se hace penetrar la aguja perpendicularmente al eje del globo ocular, en el borde de la córnea, en donde se junta a la esclerótica; se inyectan una o dos gotas, y se retira la aguja.

Observación de los animales inoculados y extracción de sus productos

Se deben notar todos los días los síntomas que presenta el animal después de la inoculación. Hay que observar cuidadosamente la lesión local, la temperatura, el peso; se debe auscultar, y ver el estado de sus funciones digestivas, el de la orina; y examinar con cuidado las modificaciones que presente en su aspecto exterior.

Biopsia.—Se practica para estudiar los tejidos alterados por la enfermedad, de la manera siguiente: se anestesia el animal bien local, bien generalmente, y se extrae una pequeña parte del tejido u órgano, suficiente para el análisis microscópico, la cual se tratará como ya se ha dicho al hablar de las preparaciones microscópicas.

Para obtener la sangre se hace una punción, con la inyectadora, en una vena, siguiendo la técnica de las inyecciones intravenosas, y una vez la aguja dentro del vaso, se aspira con ella la sangre, la cual servirá para el examen microscópico o para hacer los cultivos.

En el caballo, el asno, el buey, el conejillo de Indias, se hace la extracción de la sangre en la yugular; en el conejo en las venas de la oreja, en el perro en la safena externa y en las aves en la axilar.

También se puede extraer la sangre directamente del corazón, haciendo una punción en el cuarto o quinto espacio intercostal, en el borde izquierdo del esternón, de suerte que la aguja penetre quince o diez y ocho milímetros, y se hace la aspiración. Se puede igualmente extraer del bazo, haciendo la punción en plena matítez esplénica, y luego aspirando la sangre.

Sirviéndose de la inyectadora, o de una pipeta de Pasteur, se puede aspirar el pus de las colecciones purulentas, el líquido contenido en el peritoneo, o en la pleura, y el humor acuoso.

Técnica de las autopsias

Generalidades.—Las reglas indispensables para practicar sin peligro las autopsias son: evitar que el suelo, la mesa y los demás objetos que se encuentran cerca del lugar de la autopsia, sean contaminados; colocar el cadáver y los instrumentos usados, sobre una lámina de zinc o de cobre; tener cuidado de que las manos del operador no se contaminen; esterilizar los instrumentos antes y después de la autopsia, la cual se debe hacer inmediatamente después de la muerte del animal; incinerar el cadáver y el papel y el algodón contaminados; esterilizar la lámina de la autopsia.

Técnica.—Para hacer la autopsia, se ata el cadáver sólidamente a la lámina, acostado sobre el dorso. Los animales pequeños, como el ratón, se clavan con alfileres en una lámina de corcho, que después se quema. Se mojan los pelos de la región anterior del pecho y abdomen, con una solución antiséptica y se cortan; las plumas de las mismas regiones se arrancan. Si el cadáver presenta abcesos superficiales, se esteriliza la piel con una barra enrojecida al fuego, y se extrae el pus con la pipeta de Pasteur.

Se abre en seguida el cadáver, haciendo una incisión mediana que va desde la horquilla esternal hasta la sinfisis del pubis; de ésta parten cuatro incisiones, una a cada miembro; se diseca la piel; se abre el tórax por medio de una incisión que siga el borde de las costillas, y dos más que vayan por la línea axilar de cada lado; se levanta la placa esterno–costal resultante, hacia la cabeza del animal, o se desprende del todo; se abre el abdomen haciendo una incisión en la línea media, y dos laterales sobre las arcadas pubianas.

La serosidad que se encuentra a veces en la pleura, en el pericardio, en el peritoneo, se recoge con una pipeta de Pasteur. La sangre se toma del corazón, para lo cual se cauteriza la superficie del ventrículo con una barra enrojecida, y se hace penetrar en la parte cauterizada la pipeta, y se aspira la sangre, la cual también se puede extraer del bazo, siguiendo el mismo procedimiento.

Para tomar la pulpa del hígado, la del bazo, la de los riñones, se hunde el alambre de platino en el órgano, después de cauterizada su superficie, y se saca imprimiéndole movimientos de torsión; y con el alambre cargado se hacen cultivos o preparaciones microscópicas, las cuales también pueden hacerse por fricciones, como ya se dijo.

CAPITULO VI

Del microscopio y sus accesorios

La Bacteriología es una de las ciencias que necesitan del empleo del microscopio. Es indispensable, pues, poseer un buen microscopio construido en alguna de las fábricas afamadas, como son la Zeiss en Yena, la de Leitz en Wetzlar, la de Reichert en Viena.

El Estativo Ia, el Estativo I de Zeiss o los mismos de Leitz, son los mejores; es necesario que tengan un diafragma-iris, un iluminador de Abbe y un revólver.

El objetivo de inmersión homogénea, Nº $\frac{1}{12}$ de Zeiss o de Leitz; el A A de Zeiss o el Nº 4 de Leitz; el E de Zeiss o el Nº 9 de Leitz, son de uso constante en el análisis bacteriológico. Los objetivos apocromáticos de Zeiss son de lo más perfecto en su género.

Es necesario tener los oculares de Huyghens, desde el Nº 1 hasta el Nº 5; o a lo menos desde el Nº 2,

hasta el N° 4. Los objetivos apocromáticos piden oculares especiales llamados oculares compensadores.

Se necesitan láminas y laminillas, así como también los demás instrumentos empleados en Histología para hacer las preparaciones microscópicas.

Los microtomos más usados en Bacteriología son el de Cambridge y el de Reichert.

SEGUNDA PARTE

—

BACTERIOLOGIA ESPECIAL

—

ENFERMEDADES COMUNES AL HOMBRE Y A LOS ANIMALES
ENFERMEDADES PROPIAS DEL HOMBRE

—

CAPITULO I

Pústula maligna

Definición.—La pústula maligna, antrax maligno o carbón, es una enfermedad específica, infectiva, inoculable y contagiosa, producida por el Bacillus anthracis. Descubierto por Davaine en 1850, el cual viendo que era inmóvil, lo llamó Bacteridia carbonosa, para diferenciarlo de las Bacterias, que él creía que todas eran movibles.

Carbón espontáneo.—Común al hombre y a los animales. El hombre puede adquirir la infección por la piel, y entonces se tiene la Pústula maligna; o por la vía pulmonar: el Carbón pulmonar; y también el germen puede penetrar por el tubo digestivo: el Carbón intestinal.

Los animales generalmente se infectan por la vía digestiva. Los que la padecen espontáneamente son: el

carnero, el buey, el caballo. Los refractarios a la enfermedad espontánea son el perro, el gato, el puerco, las aves. La inmunidad puede ser vencida en ciertos casos, de suerte que el puerco puede contraer naturalmente la enfermedad.

Las moscas de trompa punzante parecen ser agentes principales en la trasmisión de la enfermedad.

Carbón experimental.—Los animales receptivos son: el carnero, el conejo, el conejillo de Indias, el ratón, el caballo, el perro y el gato recién nacidos. Poco receptivo, el buey. Los animales refractarios son: el perro y el gato adultos, la gallina, la paloma, la rata blanca, la rana.

Por artificios experimentales, como el enfriamiento, el ayuno prolongado; por ciertos agentes medicamentosos depresivos, como la antipirina, puede hacerse que los animales refractarios contraigan la enfermedad.

Se puede producir la infección por la inoculación subcutánea, por la intravenosa, por la intramuscular, o por la ingestión de sustancias infectadas. La inyección subcutánea es el procedimiento de elección.

Síntomas —Doce o quince horas después de la inyección subcutánea, hecha en la región inguinal del conejillo de Indias, se observa en ese punto un edema pastoso; los ganglios de la región se tumefacen, y la temperatura sube uno o dos grados; veinte y cuatro o cuarenta y ocho horas después, el animal está agitado, con la respiración acelerada, con micciones frecuentes; más tarde se echa en el suelo, se adormece; su temperatura baja seis u ocho grados, entra en coma y muere.

Autopsia.—En el lugar de la inoculación hay la lesión característica, que es una infiltración edematosa, de aspecto gelatinoso, transparente, ligeramente teñida de rojo y semejante al humor vítreo. Los ganglios vecinos están voluminosos, rojos, equimóticos y rodeados de una zona de edema.

La sangre está negra, difluente, coagula con dificultad, no enrojece en presencia del aire; hay hiper-

leucocitosis, los glóbulos rojos están aglutinados. El bazo está turgescente, difluente e hipertrofiado. El hígado, los pulmones, los riñones presentan los vasos sanguíneos dilatados y manchas equimóticas.

El Bacillus se encuentra en la linfa de la pústula maligna; en la serosidad del edema del punto de inoculación; en la sangre. En el hígado, el pulmón, el bazo, los riñones, la placenta, los microbios se encuentran en el interior de los capilares sanguíneos; nunca entre los elementos epiteliales, a menos de rupturas vasculares; de la placenta no pasan al feto sino a favor de estas rupturas vasculares.

Morfología.—Es polimorfo; en el organismo tiene siempre la forma bacilar simple; en los cultivos presenta además la forma filamentosa y la forma esporulada. En la forma bacilar simple se presenta como bastoncillos de 5 μ a 10 μ de largo, y de 1 μ a 1,5 μ de ancho, que son inmóviles. La forma filamentosa está constituida por largos filamentos, no ramificados, de 2 μ de ancho e inmóviles. En la forma esporulada se ven los espórulos en el interior de los microbios y también se hallan en libertad en el medio ambiente.

Coloración.—Toma todos los colores básicos; los microbios colorados se presentan con las extremidades sinuosas en vez de rectas. Toma el Gram.

Cultivos.—Es aerobio; su temperatura eugenésica es de 35°; su medio de cultivo debe ser neutro o ligeramente alcalino.

Caldo.—A las pocas horas de sembrado, se presentan flueços tenues, al principio en suspensión en el caldo, el cual queda transparente; después los flueços crecen y se unen entre sí formando nube; más tarde toman un aspecto pulverulento, y caen al fondo del envase.

Gelatina.—Por punción se ve, al cabo de algunas horas, una línea blanca central, de la cual parten arborizaciones semejantes al árbol de Saturno; los días siguientes se marca más esta disposición del cultivo, y la gelatina empieza a licuarse por su parte superior, y

poco a poco toda ella se licúa, al cabo de doce o catorce días.

En placas de gelatina, aparecen a las veinte y cuatro horas las colonias, que tienen el aspecto de filamentos enredados, las cuales son características de este microbio.

Gelosa.—Al fin del primer día aparece una estría blanca, que va extendiéndose poco a poco, hasta que cubre casi toda la superficie libre de este medio de cultivo, en el cual, por otra parte, nada presenta de característico.

Papas–Suero–Leche.—Se cultiva en estos medios sin presentar nada de típico. Coagula la leche.

Cultivado en cualquiera de estos medios a 42½°, pierde la facultad de esporular, se vuelve asporógeno temporalmente; cultivado en medios fenicados, o adicionados de bicromato de potasio, se vuelve definitivamente asporógeno.

Biología.—Se desarrolla bien desde+14° a + 43°. Sus espórulos se producen desde+18° hasta+42. No esporulado perece a+50°. Resiste durante una hora la temperatura de—100°. Se atenúa volviéndolo asporógeno, como se ha dicho. La inoculación de los cultivos atenuados, confiere la inmunidad. Los microbios atenuados, recuperan la virulencia, pasándolos por los animales receptivos.

Toxinas.—La naturaleza de la toxina carbonosa no ha podido ser determinada todavía.

Toxina de Hankin.—Cultivado el microbio en caldo de extracto de carne de Liebig, adicionado de fibrina fresca; filtrado el cultivo por la bujía de porcelana de Chamberland; tratado el líquido filtrado por el sulfato de amoniaco y el precipitado dialisado en una corriente de agua de 42° a 45°, para privarlo del sulfato de amoniaco; precipitado por el alcohol fuerte y lavado el precipitado en alcohol absoluto; redisuelto en el agua y filtrado por amianto; el líquido filtrado es la toxina. Es poco nociva para los animales receptivos y mucho para los refractarios.

Toxina de Brieger y Fränkel.—Se extrae de los cadáveres de animales muertos de carbón. Mata, a la dosis de 3 centígramos, un ratón de 22 gramos.

Toxina de Marmier.—Se hace el cultivo en una solución de peptona glicerinada; se trata el cultivo, como para preparar la toxina de Hankin. Muy tóxica para el conejo, que muere con una dosis de 25 milígramos. Los animales refractarios no son influidos por ella. Se vuelve inactiva por una insolación prolongada, o por la adición del líquido de Gram, o de los hipocloritos alcalinos. Se atenúa calentándola a 110°.

Vacunación.—Se le inocula al animal, al carnero, por ejemplo: primero un cultivo muy atenuado, capaz de matar al ratón, pero no al conejo; doce díaz después se le inocula un cultivo capaz de matar al conejillo de Indias y al conejo; doce días después, la vacunación está adquirida.

Se puede vacunar por las toxinas, calentando sangre carbonosa desfibrinada a 55° durante diez minutos, e inoculándola al conejo, el cual queda vacunado; se pueden también usar las toxinas de Hankin y de Marmier.

Seroterapia.—Una inyección de cultivo de carbón, adicionado de suero de la sangre de la rata blanca; hecha al ratón, no le produce la enfermedad. El suero de rata blanca tiene, pues, propiedades bactericidas.

El suero de carneros y de conejos inmunizados con cultivos atenuados, goza de propiedades preventivas y curativas, sin ser bactericida ni antitóxico. El suero de perro inmunizado posee las mismas propiedades.

Aglutininas.—No se ha podido averiguar si los sueros específicos poseen aglutininas.

CAPITULO II

Tuberculosis

Definición.—La tuberculosis es una enfermedad específica, contagiosa, hereditaria, inoculable, producida por el Bacillus tuberculosis. Descubierto por Koch en 1882.

Variedades.—Bacillus humano; Bacillus bovino; Bacillus aviario; Bacillus pisciario. Unos bacteriologistas los consideran como un mismo microbio, adaptado a distintas especies animales; otros, entre los cuales está Koch, los consideran como distintos microbios.

Asociación.—El Bacillus de Koch se une frecuentemente con los Staphylococcus pyogenes, con el Pneumo-Bacillus, con el Diplococcus pneumoniæ, con el Bacillus pyocyaneus, con el Micrococcus tetragenus y con algunos otros.

Tuberculosis espontánea.—El hombre, el mono, el buey, el puerco, el perro, la gallina, los faisanes, las pintadas, las perdices, los loros, son muy propensos a la tuberculosis. El conejo, la cabra, el carnero, el caballo, el gato, la rana, la carpa, la tortuga, lo son poco.

Tuberculosis experimental.—Los mismos animales que la padecen espontáneamente la pueden adquirir por inoculación. Forzando las dosis de la materia de inyección o inoculando materias muy virulentas se puede tuberculizar a los pocos receptivos.

Tipos.—Experimentalmente se pueden producir dos tipos de la enfermedad: el tipo de Villemin y el tipo de Yersin.

Tipo de Villemin.—Se produce el tipo de Villemin inoculando al conejillo de Indias bajo la piel, una solución del cultivo puro del Bacillus de los mamíferos o del de las aves, en agua esterilizada; o productos tuberculosos deshechos en agua o en sustancia. Se pre-

senta, quince o veinte días después, un nódulo indurado en el punto de la inyección; más tarde se reblandece dicho nódulo, y se ulcera; esta es la úlcera tuberculosa. Los ganglios de la región aumentan de volumen; el animal enflaquece, se vuelve caquéctico y a los tres meses muere.

Autopsia.—El bazo está voluminoso, amarillento y con una gran cantidad de folículos tuberculosos, de tubérculos caseosos y de focos caseosos. El hígado presenta las mismas lesiones en menor grado. El pulmón está lleno de folículos tuberculosos. Las serosas tienen las mismas granulaciones. Los ganglios linfáticos de la región inoculada están caseosos.

Tipo de Gersin.—Para producir el TIPO DE GERSIN se hace una inoculación intravenosa, en el conejillo de Indias, de la misma solución de cultivo virulento; el animal se enflaquece rápidamente, se caquectiza y muere a los veinte o veinte y cinco días, durante los cuales ha tenido siempre una alta temperatura.

Autopsia.—Se encuentra un crecimiento notable del bazo y del hígado; pero ni en estos órganos, ni en ninguna otra parte del cadáver, se encuentran tubérculos. En cambio se encuentra una gran cantidad de microbios de la tuberculosis, en el bazo, en la médula de los huesos, en el hígado.

La tuberculosis del tipo de Yersin es, pues, una tuberculosis sin tubérculos.

La inoculación intraperitoneal en el conejillo de Indias, o en el conejo, produce el tipo de Villemin; en el perro se obtiene el mismo tipo, pero con una marcha algo más crónica. La inhalación produce en el conejillo de Indias, en el conejo y en el perro, la bronco-pneumonía tuberculosa, de forma caseosa. La ingestión de productos tuberculosos, puede producir en el perro, lesiones tuberculosas del intestino y generalizarse a los demás órganos.

La inoculación en la cámara anterior del ojo, produce en el conejo, a los veinte días, una gran cantidad

de granulaciones tuberculosas en el iris; sobreviene después la fusión purulenta del ojo; y luego generalización de la tuberculosis, tipo Villemin, y la muerte.

Los microbios se encuentran en los esputos, en el pus tuberculoso, en los tubérculos que infiltran los tejidos, en la leche de mamas tuberculosas, más rara vez en la sangre, en las serosas inflamadas, en las fungosidades tuberculosas, en la orina, en los casos de tuberculosis de las vías urinarias.

Morfología.—El Bacillus de Koch tiene 2 μ a 4 μ de largo y 0,3 μ a 0,4 μ de ancho; su aspecto es generalmente granuloso, si está colorado; incoloro es homogéneo; de forma recta unas veces, mas frecuentemente sinuoso u ondulado.

En los esputos y en los tejidos tuberculosos, los microbios están a veces aislados; otras veces reunidos en grupos de dos, tres o más bacillus, los cuales o están paralelos, o cruzados los unos sobre los otros formando ángulos.

En las preparaciones hechas con cultivos en medios sólidos, los bacillus se colocan formando agrupaciones alargadas, sinuosas, semejantes a madejas de pelo. En algunos cultivos, principalmente en los cultivos viejos, los microbios se presentan ramificados, con la forma de los Streptothrix.

Coloración.—Lo que caracteriza el Bacillus de Koch, es el ser difícilmente colorable, y difícilmente descolorable, aun con descolorantes muy enérgicos. La técnica de la coloración de este microbio, está fundada sobre estas dos propiedades, que comparten con él, el Bacillus lepreæ y el Bacillus smegmatis.

De los muchos métodos de coloración, los más empleados por la generalidad de los bacteriologistas, son el de Ziehl y el de Ehrlich, a los cuales se pueden añadir los métodos de Gabbé y de Fränkel, que dan la doble coloración.

Método de Ziehl.—Después de la colocación y fijación de los microbios, que se hacen según la técnica

común, se colora la preparación durante un cuarto de hora en caliente, hasta la emisión de vapores blanquecinos, en la platina calentante; o se colora en frío durante doce horas. Luego se decolora el fondo, en la solución de ácido sulfúrico en agua, al uno por cuatro, hasta que tome un color amarillo-rosado. Después se lava en alcohol absoluto. Los Bacillus quedan colorados de rojo y el fondo incoloro.

Método de Ehrlich.—Después de colocados y fijados los microbios, se coloran durante quince minutos con el violeta anilinado, en caliente, como en el método anterior; se decoloran en la solución de ácido nítrico en agua, al uno por tres, y se lava en alcohol absoluto. Los Bacillus de Koch quedan colorados de violeta.

Método de Gabbé.—Después de la colocación y fijación, se coloran los microbios con el líquido de Ziehl en caliente durante un cuarto de hora; después se decolora y recolora el fondo con la solución siguiente: azul de metileno, dos gramos; solución de ácido sulfúrico al uno por cuatro, cien centímetros cúbicos.

Método de Fränkel.—Después de colocados y fijados se coloran los microbios con la fuchsina anilinada, durante un cuarto de hora, en caliente. La fuchsina anilinada se prepara como el violeta anilinado de Ehrlich.

Se introduce, luego, la lámina durante un minuto, en la solución siguiente: alcohol a 90°, 50 centímetros cúbicos; agua de anilina, 30 centímetros cúbicos; ácido nítrico puro, 20 centímetros cúbicos; solución alcohólica saturada de azul de mitileno, q. s. para dar a la solución un tinte fuerte.

En estos dos últimos métodos, los Bacillus de Koch quedan colorados de rojo, y el fondo y los otros microbios toman el color azul.

El Bacillus tuberculosis toma el Gram.

Cultivos.—Es aerobio. Su temperatura eugenésica es de 37° a 38°. No germina sino de 30° en adelante. La germinación cesa a los 41° en el Bacillus humano,

y a los 45° en el Bacillus aviario. No comienza a germinar sino a los doce días de estar colocado a la temperatura eugenésica, y no está totalmente desarrollado, sino a la cuarta semana. No se cultiva sino en suero, y en los medios glicerinados, o glico-glicerinados.

Suero solidificado.—Sembrado el Bacillus humano en estría, aparece, el día duodécimo, una gran cantidad de puntos blancos, secos, escamosos, los cuales, conforme van creciendo, se hacen prominentes, y de bordes irregulares; son las colonias.

Estas colonias no se unen sino después de varios cultivos, y entonces forman en la superficie del suero una capa seca, blanca y rugosa. Si la siembra se hace con el Bacillus aviario, se forma una capa más abundante, espesa y húmeda.

Gelosa glicerinada o glico-glicerinada. Es el medio de cultivo más favorable; los cultivos presentan el mismo aspecto que tienen en el suero. El Bacillus humano da generalmente cultivos secos y escamosos. El Bacillus aviario los dá húmedos y gruesos; pero a veces los aspectos están invertidos, siendo secos y escamosos los del Bacillus aviario, y húmedos y gruesos los del Bacillus humano.

Caldo pepto-glico-glicerinado.—Los microbios se desarrollan muy bien en él, y forman granos aislados, que están suspendidos en el caldo, el cual queda transparente.

En los cultivos en gelosa de los Bacillus de Koch, forman estos microbios, un velo blanco en la superficie del agua de condensación del cultivo. Si se siembra este velo en el caldo pepto-glico-glicerinado, se forma en la superficie de él una membrana seca, rugosa y escamosa; otras veces, es húmeda y gruesa. El caldo queda claro.

Papa glicerinada. Medio de cultivo muy conveniente para la primera siembra, que se hace tomando un pedazo de ganglio o de bazo tuberculoso, con la parte afilada de la pipeta de Pasteur; se tritura, en la

misma pipeta, con un hilo de platino fuerte; se siembra sobre la papa glicerinada, y se lleva a la estufa a 39°. A los doce días aparece un velo espeso, plegado, blando, rara vez seco y rugoso, como en la gelosa.

Métodos para descubrir el microbio.—Para hallar los Bacillus de Koch, en los productos tuberculosos, hay tres métodos, que son: el examen microscópico; la inoculación; y el cultivo hecho con semilla de estos productos.

El examen microscópico se practica colorando los microbios por los métodos ya dichos. Los dos microbios que presentan las mismas propiedades, de ser difícilmente colorables y descolorables, que son el Bacillus lepræ y el Bacillus smegmatis preputialis, pueden distinguirse por los caracteres peculiares a estos microbios.

Así el Bacillus lepræ se colora por las soluciones acuosas de los colores básicos de anilina, que no son suficientes para colorar el de la tuberculosis. El Bacillus lepræ resiste más a la descoloración por los ácidos. Se colora por el método de Baumgarten, que se hace colorando durante cinco minutos, la preparación, con el violeta anilinado en frío, y descolorando con la solución siguiente: alcohol absoluto, 10 centímetros cúbicos; ácido nítrico, 1 centímetro cúbico; mientras que el Bacillus de Koch se descolora por este método.

El Bacillus smegmatis tiene la propiedad de descolorarse por el alcohol absoluto, mientras que el de la tuberculosis resiste a este descolorante.

Para encontrar los microbios de la tuberculosis en los esputos, se emplea la técnica común, pues con ella se encuentran fácilmente siempre que se hallen en abundancia; pero en el caso de haber pocos, es necesario primeramente licuar los esputos, hacerlos homogéneos, centrifugarlos, y después analizar el depósito.

Para licuar y hacer homogéneo el esputo hay varios métodos; los más usados son el de Biedert y el Jousset.

Método de Biedert.—Se toman 15 centímetros cúbicos de los esputos; 20 centímetros cúbicos de agua; 12 gotas de lejía de soda; se mezclan; se hace hervir la mezcla; se añade el doble de agua; se hace hervir nuevamente; se centrifuga o se deja en reposo en un vaso cónico, y se analiza el depósito.

Método de Jousset.—Se hacen digerir los 15 centímetros cúbicos de esputos, durante tres horas, en la estufa a 38°, por el jugo gástrico artificial siguiente: Pepsina, 2 gramos; glicerina pura y ácido clohídrico a 22°, de cada uno, diez centímetros cúbicos; fluoruro de sodio, 3 gramos; agua destilada, Q. S. para un litro. Se centrifuga y se analiza el depósito.

Para hallar los microbios en la sangre, se emplea este mismo método de Jousset; igualmente se usa este método para encontrarlos en el pus y en los exudados de las serosas.

En el caso de no encontrarse el Bacillus de Koch al análisis microscópico, se procede a hacer inoculaciones y cultivos según la técnica que ya se ha dicho.

Biología.—La vitalidad de los microbios que se hallan en los productos tuberculosos, se manifiesta por las inoculaciones, mejor que por los cultivos, puesto que este microbio es difícilmente cultivable.

La temperatura ugenésica para él, es la de 38°. A los 70° perece en diez minutos. Desecado, conserva su virulencia por muchos meses. El oxígeno comprimido le vuelve avirulento. En el agua conserva su virulencia por muchos días, y la putrefacción ejerce poca influencia sobre él. Resiste más a los antisépticos estando en los tejidos, que cuando está en los cultivos.

Los Bacillus muertos, inyectados en la sangre o en el peritoneo, producen la tuberculosis, y en los tubérculos se encuentran los microbios muertos; pero estos tuberculos no son reinoculables. Pueden también las inoculaciones de Bacillus muertos, provocar supuraciones, la caquexia y la muerte, en el conejillo de Indias.

Toxinas.—Es la tuberculina la que más se ha estudiado de sus toxinas; fué preparada por Koch.

Para obtenerla, se cultiva el Bacillus de la tuberculosis, la aviaria, de preferencia, porque se desarrolla más rápidamente, en caldo glicerinado. Es indispensable que se forme el cultivo en velo, el cual se presenta el vigésimo día, y se deja desarrollar hasta el día trigésimo quinto. Se esteriliza a 100° durante quince minutos, se concentra en el baño-maría, hasta que se reduzca a la décima parte, y se filtra por papel de filtro ordinario. Esta es la tuberculina bruta.

Tuberculina T A—Después de hecho el cultivo virulento en caldo, se filtra, y los Bacillus recogidos del filtro, se tratan por una solución de soda, al uno por diez, durante tres días, a la temperatura ordinaria; se filtra por papel de filtro común, y el líquido filtrado se neutraliza, y se filtra por la bujía de porcelana.

Tuberculina T O—Los Bacillus de un cultivo virulento se extraen de él por filtración; se desecan en el vacío y en la oscuridad; se pulverizan en un mortero de ágata; luego se disuelve el polvo en agua destilada, y se centrifuga la emulsión durante media hora; se retira el precipitado, y la parte líquida constituye la tuberculina. La pulverización de los microbios, es operación muy peligrosa para el que la hace, por lo cual se deben tomar muchas precauciones.

Tuberculina T R—Para preparar esta tuberculina, se toma el precipitado que dejó la operación anterior; se deseca; se pulveriza de nuevo; se disuelve en agua destilada; se centrifuga y se retira la parte líquida; el precipitado se somete a las mismas operaciones varias veces; se mezclan los líquidos así obtenidos y la mezcla es la tuberculina T R.

Tuberculina de Maragliano.—Se obtiene con los Bacillus virulentos, extraídos de un cultivo en caldo glicerinado, los cuales se hacen macerar durante 50 horas a 90° ó 100°, en un volumen de agua destilada, igual al del cultivo empleado; se reduce a la décima parte en baño-maría y se filtra por papel. El líquido filtrado es la tuberculina.

Toxalbúmina de Maragliano.—Se obtiene filtrando los cultivos virulentos por la bujía de porcelana, y concentrando el líquido filtrado, en el vacío a 30°, hasta reducirlo a la décima parte. Difiere de la tuberculina en que no produce hipertermia.

Acción de las toxinas.—Inyectada la tuberculina bruta en pequeñas dosis, a animales sanos, nada produce; cinco centímetros cúbicos inyectados al conejo, le producen una fiebre ligera, y algún enflaquecimiento; en el hombre una inyección de 0,25 de centímetro cúbico, produce una temperatura de 39°, escalofríos, diarrea, vómitos y un estado general grave.

En el hombre y en los animales tuberculosos, la tuberculina provoca reacciones intensas y graves, capaces de producir la muerte. Medio centímetro cúbico mata un conejillo de Indias tuberculoso, después de haberle producido una elevación de la temperatura, y en seguida un descenso progresivo de ella y el coma mortal. A la autopsia, se encuentra una violenta congestión de los órganos, y alrededor de los tubérculos; y manchas equimóticas.

En el hombre un cuarto de centímetro cúbico inyectado, bastaría para producirle la muerte. Dosis de 0,^{cc}003, ó 0,^{cc}004, producen una agravación muy notable de la enfermedad.

La inoculación intracerebral es la que tiene una acción más violenta; 0,^{cc}004 de tuberculina, matan un conejillo de Indias sano, y 0,^{cc}0001, mata el tuberculoso, si son introducidos por inoculación intracerebral.

La tuberculina sirve principalmente para el diagnóstico precoz de la tuberculosis animal, sobre todo en los bovídeos, por la elevación de la temperatura, que llega a ser de un grado o más, en el caso de estar el animal tuberculoso.

Las tuberculinas T A y T R, son semejantes a la tuberculina bruta; ninguna produce inmunización; la tuberculina T R confiere inmunidad contra la tuberculina bruta contra la T A y contra la T R. Los ensayos de vacunación con tuberculina o con cultivos

atenuados no han dado resultados decisivos. Idéntica cosa ha sucedido con la seroterapia. Maragliano ha obtenido un suero dotado de propiedades antitóxicas; un centímetro cúbico preserva al conejillo de Indias sano, de una dosis mortal de tuberculina.

CAPITULO III

Estafilococcias

Definición.—Las estafilococcias son lesiones supurativas producidas por el Stapylococcus pyogenes albus, el Staphylococcus pyogenes aureus y el Staphylococcus pyogenes citreus. Son tres razas de una misma especie, que no se diferencian sino por el pigmento elaborado en los cultivos de los dos últimos y por la falta de pigmento en el otro.

Estafilococcias espontáneas.—En el hombre los Staphylococcus producen el forúnculo, la osteomielitis, las pústulas de ectima, el flegmón, la infección purulenta o piohemia, las inflamaciones supuradas de las serosas.

En los mamíferos y en las aves, producen estos microorganismos un gran número de afecciones supuradas, entre las cuales está la osteomielitis de los gansos recién nacidos.

Los microbios se encuentran en el pus, y en los tejidos enfermos; y algunas veces en la sangre, en los casos de infección general.

Asociaciones.—Se une con el Bacillus de Koch, con el Diplococcus pneumoniæ, con el Bacillus diphteriæ, con el Vibrio septicus y con el Bacillus influenzæ.

Estafilococcias experimentales.—En el hombre se han podido producir forúnculos, frotando fuertemente la

piel con un algodón empapado en el cultivo de Staphylococcus aureus.

El conejo es el animal apropiado para las inoculaciones; la inoculación subcutánea produce el absceso, y a veces la septicemia. La inoculación peritoneal, da la peritonitis; en las meninges produce meningitis; la intrapleural, pleuresía. La inoculación intravenosa produce unas veces la septicemia y la muerte rápida; otras veces la piohemia, las artritis, las osteomielitis.

El conejillo de Indias, el ratón, la rata, son menos sensibles. El ganso recién nacido, inoculado, contrae la osteomielitis.

Morfología.—Estos microorganismos se presentan en forma de coccus esféricos de 0. 5 μ a 0. 9 μ de diámetro; generalmente reunidos de una manera irregular en grupos que se han comparado con los racimos de uvas. Otras veces forman series de dos, tres o cuatro elementos juntos, o del todo separados los unos de los otros.

Coloración.—Se coloran bien por todos los colorantes básicos de la anilina. Toman el Gram.

Cultivos.—Son aero-anaerobios. Su temperatura eugenésica es de 37°.

Caldo.—A la décima hora de sembrado, el Staphylococcus pyogenes aureus, empieza a enturbiar el caldo; más tarde se forma un abundante precipitado pulverulento de color amarillento, mientras que el caldo queda siempre turbio.

Gelatina.—Por punción, aparece a lo largo del trayecto dejado por el alambre, un cultivo granuloso y amarillento, al fin del primer día; cuatro o cinco días más tarde, se presenta la gelatina licuada a lo largo de la punción, en forma de embudo; este embudo de licuefacción es característico de este microbio.

En placas de gelatina, se presentan, a los dos o tres días, las colonias de forma esférica, regulares y amarillentas; alrededor de cada colonia hay una zona de licuefacción.

Gelosa.—Se desarrolla el cultivo a lo largo de la estría, y poco a poco va ganando toda la superficie de la gelosa; y al propio tiempo va tomando el color amarillo de oro típico.

Papa.—Se produce, del segundo al cuarto día de sembrado, una capa espesa y cremosa, que pronto toma el color amarillo de oro, con su mejor tinte, por ser la papa el medio de cultivo más adecuado a la producción del pigmento.

Leche.—Se coagula rápidamente al empezar la germinación del microbio.

El Staphylococcus pyogenes albus da las mismas reacciones del cultivo, excepto el color de los cultivos, que es blanco mate. El Staphylococcus pyogenes citreus tiene los mismos caracteres de los otros dos; solamente difiere de ellos porque el color de sus cultivos es amarillo canario o amarillo limón.

Biología.—Germinan desde los + 15° hasta + 44°. La temperatura óptima para la elaboración del pigmento es de + 20° o + 25°. Cultivados en el vacío no dan pigmento. Colocados a + 80° durante quince minutos, mueren. Resisten más si están mezclados con materias albuminoideas y desecados. La virulencia se atenúa con el envejecimiento. Los medios glicerinados exaltan la virulencia.

Toxinas.—Flogosina de Leber.—Se extrae de los cultivos esta toxina, que es una sustancia soluble en alcohol, cristalizable, la cual tiene propiedades flogogenas, produce la supuración y determina la necrosis de los tejidos.

Estafilolisina de Neiser y Wechsberg.—Existe en los cultivos de los Staphylococcus, lo cual se comprueba añadiendo algunas gotas de sangre a un cultivo en caldo; pocas horas después los glóbulos están todos disueltos.

Leucocidina de Van de Velde.—Si se inocula en la cavidad pleural del conejo, un cultivo de estos microbios, se obtiene un exudado que disuelve los glóbulos

blancos de la sangre, lo cual indica que contiene una sustancia semejante, en su modo de obrar, a un fermento soluble, la cual también se encuentra en los cultivos.

Vacuna. -- Seroterapia.—La vacunación de los animales no se ha obtenido de una manera uniforme y constante.

Suero de Vicquerat y Rosc y de Parascandolo.—Inyectando cultivos virulentos hechos en caldo azucarado, y esterilizados con ácido fénico al cinco por ciento, han obtenido un suero antitóxico y preventivo.

Suero de Paltchikowsky.—Suero preventivo obtenido inoculando bajo la piel del caballo, repetidas veces, cultivos virulentos de Staphylococcus pyogenes aureus.

Suero de Proscher.—Suero preventivo obtenido de la cabra inoculada con cultivos hipervirulentos.

Capman obtiene sangre dotada de propiedades bactericidas y antitóxicas, inoculando conejos y perros con cultivos filtrados de este microbio.

CAPITULO IV

Estreptococcias

Definición.—Se da el nombre de estreptococcias a infecciones casi siempre piógenas, producidas por el Streptococcus erysypelatis. Se cree que el Streptococcus pyogenes y el Streptococcus erysypelatis, son idénticos.

Estreptococcias espontáneas.—En el hombre hay la erisipela; la infección puerperal estreptocóccica; las anginas, las bronco-pneumonías, las pleuresías, las peritonitis, las meningitis, las endocarditis, las salpingitis, las osteomielitis, la infección purulenta quirúrgica, la otitis, etc., estreptocóccicas. Solamente el caballo,

presenta una infección estreptocóccica espontánea, que es el anasarca.

Asociaciones.—El Streptococcus se asocia frecuentemente con el Bacillus influenzæ, con el Bacillus typhosus, con el Bacillus diphteriæ, con el Diplococcus pneumoniæ, con el Bacillus tuberculosis. Tiene la propiedad de exaltar la virulencia de los microbios con los cuales se asocia. Puede encontrarse en el hombre sano en la superficie de la piel, o en las cavidades naturales.

Estreptococcia experimental.—El conejo es el animal más conveniente para la experimentación. Escarificándole la oreja y untando la parte escarificada con cultivos de Streptococcus, se obtiene la erisipela experimental.

Inoculando un cultivo bajo la piel de la oreja, se produce según la virulencia, un absceso, o una erisipela de la totalidad del órgano, la cual puede ser flegmonosa y complicarse con artritis supuradas. A veces esta inyección produce una septicemia rápidamente mortal.

Las inoculaciones intravenosas, o intraperitoneales, con cultivos virulentos, producen la septicemia mortal; si los cultivos son poco activos, producen inflamaciones supuradas de las serosas.

El ratón y el asno son muy receptivos; el conejillo de Indias, el perro y el carnero, son poco receptivos. En el hombre algunas veces la inoculación ha producido la erisipela; otras veces ha dado resultados negativos.

El microbio se encuentra en el pus; en la sangre, en el caso de septicemia rápida; en los exudados; en los órganos y tejidos afectados.

Morfología.—Son coccus inmóviles, asociados formando cadenas. Su diámetro es de 0.6 μ a 1 μ. Algunas veces tienen la forma ovalada.

Coloración.—Se colora por todos los colorantes básicos de la anilina. Toma el Gram casi siempre.

Cultivos.—Es aerobio facultativo. Su temperatura eugenésica es de 37°.

Caldo.—Forma en las paredes de la probeta un depósito de pequeños grumos redondeados, adherentes, que al fin caen al fondo. No enturbia el caldo.

Gelatina.—Por punción, forma a lo largo del trayecto dejado por el alambre, pequeñas colonias blancas, opacas, discretas, a lo más del tamaño de una pequeña cabeza de alfiler. No licúa la gelatina. En placas, se ven las colonias, a un pequeño aumento, como círculos granulosos.

Gelosa.—Las colonias se forman del todo semejantes a las de la gelatina, aunque más pequeñas.

Papas.—Se cultiva mal, y no produce cultivo aparente; aunque raspando la superficie de la papa se encuentran los microbios.

Los mejores medios de cultivo son los adicionados de suero o de sangre. Coagula la leche. No produce indol.

Biología.—Su mínimum térmico es de 18°. La germinación se detiene a los 46°. Es muy sensible a los antisépticos. La virulencia desaparece rápidamente en los cultivos ordinarios, pero se mantiene en los medios que tienen suero o sangre. Inoculándolo al conejo, unido a un cultivo esterilizado de Proteus vulgaris, se le exalta la virulencia. La virulencia también se exalta uniéndolo al Bacillus typhosus, o inoculándolo en serie, en el conejo, o en el ratón.

Toxinas.—Se obtiene, filtrando un cultivo virulento, por la bujía de porcelana, una toxina, que inyectada en las venas del conejo, a la dosis de quince a veinte centímetros cúbicos, le produce la muerte en dos días.

Calentando la toxina a 104°, e inyectándola a la misma dosis, en las venas del conejo, le confiere la inmunidad.

El cultivo tiene, pues, dos productos: uno que se destruye a los 104°, y que es precipitable por el alcohol, el cual es tóxico y predisponente; otro que resiste a la temperatura de 104° y que es inmunizante. Los cultivos contienen además una toxina hemolítica: la Estreptocolisina.

Vacunación.—Roger vacuna el conejo, inyectándole muchas veces cultivos esterilizados a 104° o a 120°. Marmorek vacuna el conejo, inyectándole primero cultivos antiguos, y después cultivos virulentos a dosis progresivas; también ha vacunado al asno, al carnero y al caballo, inoculándoles bajo la piel dosis pequeñas de un cultivo virulento, y repitiendo las inyecciones a dosis crecientes, desde que el animal se restablece de la inyección anterior.

Seroterapia.—Marmorek ha obtenido el primero, el suero antiestreptococcico. Para prepararlo se sirve del caballo, porque el suero de este animal es inofensivo para el hombre, y para los animales del laboratorio, aun a fuertes dosis; y además, porque el caballo soporta bien las inyecciones de cultivos virulentos; a esto se añade que el caballo puede suministrar grandes cantidades de suero.

Preparación del suero de Marmorek.—Se hace una inyección subcutánea de uno a dos centímetros cúbicos de cultivo en caldo-suero muy virulento; el caballo manifiesta una elevación de temperatura a 40°; un edema duro en el lugar de la inoculación; signos de una reacción violenta. Así que el animal se restablece, se le inyecta doble cantidad del cultivo; y poco a poco se le hacen tolerar inyecciones de 40 centímetros cúbicos. Para que el suero sea eficaz, se necesita que las reacciones de cada inyección sean violentas.

El caballo debe recibir dos litros de cultivo virulento, en dosis crecientes, en el término de seis a doce meses. La primera sangría, para obtener el suero, se debe hacer cuatro semanas después de la última inyección.

Propiedades del suero de Marmorek.—Es un suero bactericida. Inyectando en el peritoneo una dosis de suero y una de cultivo, que sean proporcionales, se observa el fenómeno de Pfeiffer: los microbios se agrupan; aumentan de volumen; pierden su afinidad por las materias colorantes; y por último son disueltos, o englutidos por los fogocitos. In vitro se observa el mismo fenómeno, si al suero de Marmorek se le añade suero fresco.

Es preventivo. Inoculado bajo la piel del conejo, veinte y cuatro horas antes de una dosis mortal de cultivo virulento de Streptococcus, lo preserva de la muerte.

Es curativo. Inyectado al conejo tres horas después de una dosis diez veces mortal de cultivo virulento, lo cura ciertamente.

Es débilmente aglutinante.

Aplicaciones terapéuticas.—El suero de Marmorek se ha usado en todas las estreptococcias con muy buen resultado unas veces, y otras veces sin ningún resultado. Dos condiciones se requieren para obtener de su empleo un buen éxito: primeramente hacer las inyecciones lo más cerca que se pueda, del comienzo de la infección; en segundo lugar, continuar las inyecciones por mucho tiempo, hasta que la infección desaparezca por completo.

CAPITULO V

Tétanos

Definición.—El tétanos es una enfermedad infectiva, inoculable, común al hombre y a los animales, producida por el Bacillus tetani. Fué descubierto este microbio por Nicolaïer, en 1885.

Tétanos espontáneo.—Se presenta en el hombre como complicación de los traumatismos o de las operaciones quirúrgicas. El tétanos sin herida se puede explicar por la penetración del microbio a través de la mucosa intestinal, o por la introducción antigua de los gérmenes en una herida ya cicatrizada, y en la cual de repente germinan, después de haber permanecido mucho tiempo inofensivos. Se presenta en el recién nacido, a causa de la herida umbilical.

Los animales en los cuales se presenta espontáneamente, como complicación de una herida, son: el caballo, el asno, el buey, el carnero y la cabra; en la vaca

aparece después del parto o del aborto. Es raro en el puerco.

Síntomas.—En el hombre empieza por la contractura de la mandíbula inferior, llamada trismus, y luego rigidez de la nuca; después se generalizan las contracturas, afectando la forma paroxística, a los músculos posteriores del tronco: opistótonos; o a los anteriores: emprostótonos; o a los laterales: pleurostótonos. La temperatura se eleva a 41° o a 42°, y el enfermo casi siempre muere en la asfixia, y en la hipertermia a 44°, muchas veces.

Tétanos experimental.—Los animales receptivos son: el ratón, la rata y el conejillo de Indias; el conejo es menos receptivo; el perro es muy resistente; las aves son refractarias.

La inoculación se puede hacer con pus de una herida tetánica, con tierra, con cultivos tetánicos, con espórulos o con toxina tetánica. Puede hacerse bajo la piel, en las venas, en el peritoneo, en los músculos, en la conjuntiva o en la dura-madre. La inoculación en el tubo digestivo se ha mostrado siempre ineficaz.

La inoculación de los espórulos solos, es ineficaz, porque los leucocitos los engluten y los destruyen; si junto con los espórulos se inocula una sustancia de quimotaxia negativa, una gota de ácido láctico, por ejemplo, no son destruidos por los leucocitos, y entonces germinan en los tejidos, y producen el tétanos.

Hay microbios que favorecen el desarrollo del tétanos, a la manera de las sustancias de quimiotaxia negativa, como el Micrococcus prodigiosus.

Síntomas.—Después de la inyección hay siempre un período de incubación, tanto más corto, cuanto más virulento es el cultivo; y la intensidad del tétanos es tanto mayor y más rápidamente mortal, cuanto más corto es el período de incubación. Si la incubación es larga el tétanos toma la forma crónica, y el animal puede curar. La contracción empieza siempre por la región inoculada; más tarde se generaliza y el animal muere.

Autopsia.—En el punto de inoculación se encuentra unas veces un foco purulento; otras veces una escara amarilla y seca; y en algunos casos un exudado membranoso y coherente; los tejidos vecinos presentan una infiltración edematosa.

El microbio se encuentra en el pus del punto inoculado solamente en los individuos muertos de tétanos espontáneo, o en los inoculados con pus de una herida complicada con tétanos, o en los inoculados con tierra tetanígena. No se encuentra en ninguna otra parte del organismo; de suerte que es un microbio que queda localizado, sin generalizarse nunca.

Si la inoculación es subcutánea, intramuscular, o bajo la dura madre, y se hace con cultivos puros, rara vez se encuentra el microbio; pero sembrando los tejidos inoculados se obtienen cultivos de tétanos. La inoculación venosa o peritoneal, con grandes cantidades de cultivos, hace fértiles las vísceras. La sangre nunca contiene microbios, ni da cultivos.

Morfología.—Presenta dos formas: la asporulada y la esporulada. La asporulada presenta dos variedades; una de ellas está formada por bacillus finos, cortos, de 3 μ a 5 μ de largo, por 0,3 μ a 0,4 μ de ancho; la otra variedad está constituida por bacillus largos, delgados, filamentosos. Ambas variedades presentan a lo largo del cuerpo bacilar pestañas o flagellas, a las cuales debe su movilidad esta forma esporulada.

La forma esporulada ha hecho que se compare el Bacillus de Nicolaïer a un alfiler, o a un clavo; está constituida por un bastoncillo corto, delgado, y que presenta en una de sus extremidades una esfera refringente, y de un diámetro doble o triple del diámetro del Bacillus. Esta forma es inmóvil.

Coloración.—El Bacilus del tétanos se colora por todos los básicos. Toma el Gram. Al colorarse el Bacillus esporífero, como el espórulo no se colora y queda transparente, el microbio toma la forma de una raqueta.

Cultivos.—El Bacillus tetani es anaerobio. Se cultiva en el vacío, o en el hidrógeno. El ácido carbónico le es perjudicial. Unido al Bacillus subtilitis se cultiva en presencia del aire. Su temperatura eugenésica es de 38°.

Caldo.—Enturbia el caldo, y produce en él pequeñas burbujas de gas; hacia el décimo quinto día, se produce un precipitado pulverulento, y el caldo se vuelve menos turbio. Desprende un olor como de cuerno quemado, o de queso rancio. El caldo adquiere una reacción fuertemente alcalina.

Gelatina.—Sembrado en punción profunda, da, al cabo de cuatro días, una gran cantidad de puntos pequeños, turbios, de los cuales parten finas agujas; hacia el noveno día, comienza a licuarse la gelatina, y se desprenden vesículas de gas.

En placas, se presentan las colonias a los cinco días, como pequeñas esferas blanquecinas, de las cuales parten finas agujas en forma de aureola; los días siguientes las radiaciones crecen y se enredan, tomando el aspecto del micelio de los hongos.

Gelosa.—En este medio, el cultivo presenta los mismos caracteres que en gelatina, pero menos marcados; y como la gelosa no se licúa, las burbujas de gas le producen fisuras.

En suero gelatinado da un cultivo parecido a los anteriores. En papas se desarrolla mal. Germina en la leche sin coagularla.

Para separarlo de los otros microbios, se procede, según Kitasato, de la manera siguiente: se siembra en caldo; cinco días después, cuando se enturbia el caldo, se pone en baño-maría a 100°, por uno o dos minutos; luego se siembra de nuevo en caldo, en el cual se desarrolla en cultivo puro el Bacillus del tétanos, porque son casi únicamente sus espórulos los que resisten a esta temperatura.

Biología.—Se cultiva desde los 14° hasta los 43°. Esporula desde los 25° en adelante, y sus espórulos son muy resistentes; se conservan vivos aunque se los tenga

a 100° durante tres o cuatro minutos; pero mueren a los ocho minutos. Se cree que en la tierra son los espórulos los que predominan. En los cultivos en caldo produce indol, y se desprenden gases, principalmente el hidrógeno, el azoe y los hidro-carburos.

Toxina.—En los cultivos existe una toxina, que inoculada a los animales, les produce el tétanos: es la Tetanina. Para prepararla se siembra el microbio en caldo de buey peptonado; después de cultivado a 38° por cinco semanas, se filtra por la bujía de porcelana. El líquido filtrado la contiene. Mata al ratón a la dosis de $\frac{1}{4000}$ de centímetro cúbico, debido a que las ramificaciones periféricas de los neuronas conducen la pequeñísima cantidad de toxina en su totalidad a los centros nerviosos.

Es una toxina neuroestenizante o convulsivante. Se demuestra su afinidad por la sustancia nerviosa, mezclándola con una emulsión de esta sustancia; se centrifuga la mezcla, y el líquido opalino que sobrenada, no contiene la toxina, que ha sido fijada por la sustancia nerviosa que forma el depósito. El carmín fija también la toxina tetánica.

Naturaleza de la tetanina.—Presenta los caracteres de las diastasas. Se altera calentándola a 65°, y se destruye a 80°.

La luz, aunque sea difusa, y el aire, la debilitan notablemente. Adhiere a los precipitados amorfos que se forman en el líquido que la contiene. Dialisa lentamente. Precipita por el alcohol. Mezclada a la gelatina esterilizada, la licúa al cabo de pocos días, debido esto a que en el líquido en que va la toxina, hay un fermento o diastasa descoagulante, el cual parece ser distinto de la tetanina.

Tetanolisina.—Es una hemolisina que los cultivos de tétanos contienen, además de la tetanina.

Vacuna.—Behring y Kitasato vacunan los conejos con inoculaciones de toxina tetánica adicionada de tricloruro de yodo. Vaillard emplea los cultivos atenuados por el calentamiento.

Roux y Vaillard practican últimamente la vacunación, sirviéndose de la toxina adicionada de solución de yodo. Para vacunar el conejo, le inyectan el primer día 3 centímetros cúbicos de toxina, con uno de líquido de Gram; el 5º día la inyección es de 5 c. c. de toxina, y 2 c. c. de líquido de Gram; el 9º día, 12 c. c. de toxina, y 3 c. c. de solución de Gram; el 17º día, como ya el animal está vacunado se le inyectan 5 c. c. de toxina pura; y se continúan las inyecciones cada ocho días, aumentando 5 c. c. en cada una, hasta llegar a 100 c. c. en una sola inyección.

Para vacunar el caballo se empieza por uno o cinco centímetros cúbicos de una mezcla de toxina y licor de Gram, en partes iguales. Esta inyección se repite cada tres o cuatro días; el 15º día la inyección es de 10 c. c. de una mezcla de dos partes de toxina y una de licor de Gram. El 25º día, se le inyecta la toxina pura en dosis de 10 c. c.; y cada dos o tres días se repiten las inyecciones, aumentado cada una de 5 c. c. El 40º día se empieza a inyectarle bajo la piel, o en la yugular, dosis crecientes de 50, 100, 150 c. c., cada ocho días. Al fin del tercer mes está inmune.

Seroterapia.—El suero de los animales vacunados, se manifiesta activo o específico. Después del tercer mes del tratamiento vacunante, y pasados diez días de la última inyección, se puede extraer el suero.

Ensayo del suero.—Para medir la actividad del suero, se emplea la notación de Roux y de Behring. Esta notación se obtiene observando la cantidad de suero que se necesita para inmunizar un gramo de ratón. De esta manera un suero activo al millonésimo, significa que con un millonésimo de centímetro cúbico, ese suero inmuniza un gramo de ratón; o que un centímetro cúbico de él inmuniza un millón de gramos de ratón, o cincuenta mil ratones de veinte gramos cada uno.

Propiedades del suero.—El suero antitetánico es antitóxico y preventivo. Sus propiedades curativas parecen ser muy débiles.

Es antitóxico. — In vitro, el suero antitetánico mezclado a la toxina la vuelve inofensiva; hay sueros que neutralizan hasta veinte veces su volumen de toxina.

Es preventivo.—Inoculado diez a cuarenta minutos, antes de la toxina, en los conejillos de Indias, a la razón de un centímetro cúbico de suero, y un ciento cincuentavo de centímetro cúbico de toxina, los preserva del tétanos; a aquellos conejillos de Indias, en los cuales la inyección de la toxina se hace antes de los cuarenta minutos de la del suero, les sobreviene un tétanos local, del cual curan.

Es muy difícil impedir el tétanos, haciendo la inyección del suero después de la de la toxina; se necesita una gran cantidad de él. También es sumamente difícil impedir el tétanos por medio de la inyección, en el caso de que los microbios estén pululando en los tejidos.

La inmunidad conferida por el suero es pasajera; al 15º día está muy disminuida, y ha desaparecido por completo el día quinquagésimo.

La curación del tétanos declarado es muy difícil de obtener y casi imposible, por dos razones: primeramente, la antitoxina no obra sino sobre la toxina que está en circulación en la sangre, y no sobre las lesiones producidas por las que han penetrado en los neuronas; en segundo lugar, la antitoxina no tiene la afinidad de la toxina por la sustancia nerviosa, de suerte que se queda en la sangre, sin poder neutralizar la toxina que está en las células nerviosas. Haciendo la inoculación del suero directamente sobre la sustancia nerviosa, se han obtenido algunas curaciones en el hombre y en los animales.

La leche de los animales inmunizados posee propiedades antitóxicas.

CAPITULO VI

Muermo

Definición.—El muermo es una enfermedad contagiosa e inoculable, producida por el Bacillus mallei. Fué descubierto simultáneamente por Löffler y Schütz, y por Bouchard, Capitán y Charrin en 1883.

Muermo espontáneo. — Enfermedad rara en el hombre, pero que ha sido observada en él varias veces. Entre los casos conocidos hay algunos en los cuales la enfermedad se ha adquirido manejando los cultivos de muermo, que son muy peligrosos; tales han sido los casos de Kalning, de Petropopoff y otros.

Los animales solípedos la padecen frecuentemente, sobre todo el caballo, la mula y el asno; los carnívoros también la padecen, y se ha observado en los leones y tigres. En todos se presenta con forma aguda o crónica; sus lesiones son: los abcesos cutáneos, o botones; las linfagitis o cuerdas; las ulceraciones o chancros.

Muermo experimental.—El animal más sensible es el asno; después, la mula y el caballo; el conejillo de Indias viene en seguida del asno; son también receptivos el ratón común, el gato, el espermófilo, el carnero, la cabra. Son poco receptivos el perro, el conejo y el ratón blanco. Son refractarios el buey, el cerdo, la rata, las aves.

Inoculado en el asno, se le produce el muermo agudo, caracterizado por un chancro en el lugar de la inoculación; la temperatura sube a 40° y a 41°; los ganglios vecinos se infartan, y el animal sucumbe rápidamente.

Autopsia.—Las mucosas nasal, y laringo-traqueal presentan botones o chancros; hay adenitis bronquial; el pulmón tiene infarctos hemorrágicos y tubérculos maléicos, los cuales se encuentran también en el híga-

do, el bazo, los ganglios mesentéricos, las cápsulas supra-renales, el riñón, el ovario.

El microbio se encuentra en el moco, el pus, los tubérculos maleicos y en la sanies de los chancros. No existe en la sangre, ni en la saliva pura, ni en el jugo muscular, a menos que se trate de casos sobreagudos.

Morfología.—Son bacillus pequeños de 3 μ a 5 μ, rectos o ligeramente encorvados, con extremidades redondeadas; algunas veces los bacillus son tan cortos que parecen coccus; y también se encuentran formas filamentosas ramificadas.

Coloración.—Presenta poca afinidad por las soluciones acuosas; son, por esto, preferibles las soluciones mordentadas. No toma el Gram. Colorado presenta espacios claros.

Cultivos.—Es aerobio. Su temperatura eugenésica es de 38°.

Caldo.—En este medio, y mejor en caldo glicerinado produce un enturbamiento y después un precipitado blanco.

Gelosa.—Se presenta a las veinticuatro horas, una película blanca a lo largo de la estría, que no es característica.

Gelatina.—Germina en ella produciendo un cultivo muy fino. No la licúa.

Papas.—Este es el medio de cultivo más apropiado, y constituye el cultivo en papas una de las maneras de reconocer el microbio. Forma en la superficie de la papa una capa espesa, húmeda, viscosa, de un color amarillo oscuro o bruno, típico.

Leche.—La coagula al cabo de trece o catorce días.

Biología.—Empieza a desarrollarse a los 25°, y cesa a los 42°. La temperatura de 60° esteriliza los cultivos. Es muy sensible a los antisépticos. Su virulencia desaparece desde que el cultivo pasa de ocho días.

Toxina.—Esterilizando un cultivo virulento en caldo glicerinado a 100°, y evaporándolo en el baño-maría, hasta reducirlo a la décima parte, se obtiene la Malleina bruta. Tratada ésta por el alcohol, da un precipitado, que se hace desecar, y constituye la Malleina seca.

Inyectada en dosis muy débil en los animales enfermos de muermo, determina en ellos una violenta reacción, que sirve para el diagnóstico de la enfermedad en los casos dudosos. Inoculada a la dosis de un centímetro cúbico, al conejo, le produce la muerte.

Vacuna.—Seroterapia.—Los experimentos de vacunación no han dado resultados satisfactorios. Igual cosa ha sucedido con la seroterapia del muermo.

CAPITULO VII

Septicemia gangrenosa de Pasteur

Definición.—La septicemia gangrenosa, o edema maligno, es una enfermedad infectiva e inoculable producida por el Bacillus septicus o Vibrio septicus de Pasteur. Descubierto por Pasteur en 1875.

Enfermedad espontánea.—Casi siempre se presenta en el hombre como complicación de los traumatismos, en la forma de un edema gaseoso, que determina la muerte rápidamente. En el caballo y en el buey, se ha observado esta misma complicación, como también en algunos otros animales domésticos.

Enfermedad experimental.—La mayor parte de los animales son receptivos. El conejillo de Indias, el ratón, el conejo, el carnero, la cabra, el caballo, son muy sensibles. Son menos receptivos el asno, el perro, el gato, la gallina, la paloma. Es refractario el buey a

la enfermedad experimental, aunque la padece espontáneamente; también lo es la rata.

Por la vía digestiva no puede producirse la infección, ni tampoco por inoculación endérmica. La inoculación intravascular, a dosis medianas, no produce la septicemia, sino que vacuna al animal.

El mejor procedimiento es la inyección subcutánea, o intramuscular. En el punto de inoculación se produce un edema con gran rapidez; el animal se vuelve inmóvil, con el pelo erizado; da gritos cuando se le toca, y muere doce o quince horas después de la inyección.

Autopsia.—Se encuentra una inflamación de los músculos abdominales, y de los músculos de los miembros; hay formaciones gaseosas en el tejido conjuntivo; serosidad en el peritoneo; el hígado está pálido; el bazo difluente. El microbio se encuentra en la serosidad del edema, en la del peritoneo y en el jugo muscular. La sangre lo contiene después de la muerte.

Morfología.—Son largos bacillus de 3 μ a 15 μ de longitud, y de 0,6 μ a 1 μ de anchura, aislados o unidos en cadenas, para formar filamentos más o menos ondulados. Es movible en ausencia del aire, con movimientos lentos de reptación, debidos a las flagellas que se implantan a los lados del cuerpo bacilar. Presenta espórulos que se desarrollan después de muerto el animal o en los cultivos. Nunca se encuentra esporulado durante la vida del animal enfermo.

Coloración.—Toma bien los colorantes básicos. Toma el Gram generalmente, con la condición de que se emplee como colorante el violeta de genciana fenicado.

Cultivos.—Es anaerobio riguroso. Su temperatura óptima es de 37°.

Caldo.—El caldo se enturbia al principio, y después se aclara y presenta un depósito; contiene indol y gases.

Gelatina.—Por punción, a los dos o tres días aparecen pequeñas colonias turbias, que pronto se vuelven

confluentes; luego aparecen los gases, que producen fisuras en la gelatina, la cual más tarde se licúa.

En placas se presentan las colonias como puntos opacos en el centro y con prolongaciones ramificadas.

Gelosa.—Se forma una línea blanquecina a lo largo de la punción y después apareeen burbujas de gas.

Papas.—Se produce un surco a lo largo de la estría sin ninguna otra señal que indique la germinación del microbio.

Biología.—Se desarrolla a partir de los 15°; a los 41° todavía germina abundantemente; a 60° muere. Su virulencia se conserva indefinidamente en los cultivos, porque es fijada por los espórulos. Se exalta la virulencia pasándolo por el conejillo de Indias. Se atenúa por el calor.

Toxina.—Se cultiva en caldo, o mejor en pulpa de carne; seis días después de haber germinado, se filtra por la bujía de porcelana; el líquido filtrado es la toxina, la cual inyectada en el peritoneo, a la dosis de cinco a diez centímetros cúbicos, mata rápidamente al conejillo de Indias.

El calor disminuye la actividad de esta toxina. Posee, en estado natural, propiedades de quimiotaxia negativa; calentada a 85° durante dos o tres horas, las propiedades quimiotácticas negativas, se cambian en positivas.

Vacuna.—Roux y Chamberland se sirven de cultivos en caldo, esterilizados a 110°, con los cuales inoculan el conejillo de Indias, y lo vuelven inmune. También lo inmunizan con la serosidad peritoneal filtrada.

Seroterapia.—El suero del asno inmunizado, obtenido por Leclainche, es fuertemente antitóxico; no es inmunizante ni curativo. Aglutina los microbios en los cultivos recientes.

CAPITULO VIII

Difteria

Definición.—La difteria es una enfermedad específica, contagiosa, inoculable, producida por el Bacillus diphteriæ. Fué descubierto por Klebs en 1883. Fué bien descrito por Löffler. En algunas personas sanas se encuentra en la saliva un microbio semejante al de Klebs-Löffler, pero que es más corto que éste y no es patógeno para los animales del laboratorio. Se llama el Bacillus pseudo-diphtericus.

Asociaciones.—La que más aumenta la virulencia del Bacillus diphteriæ es la del Streptococcus erysipelatis; se asocia también con el Coccus Brisou, con los Staphilococcus, con el Bacterium coli commune, con el Diplococcus pneumoniæ y con otros varios.

Difteria espontánea.—Se presenta muy comunmente en el hombre; se la ha observado algunas veces en los bovídeos.

Síntomas.—La enfermedad está caracterizada por una falsa membrana, que puede aparecer en la faringe: difteria faringea; en la laringe: difteria laringea o croup; en las mucosas nasal, traqueal, brónquica, etc.: difteria nasal, traqueal, brónquica, etc.; en la piel privada de la epidermis: difteria cutánea. Acompaña a veces a la falsa membrana, una intoxicación del organismo; y se presentan además parálisis localizadas a veces en el velo del paladar y otras veces generalizadas a los miembros inferiores y superiores, a los músculos respiratorios, al corazón.

Difteria experimental.— Los animales receptivos son el conejillo de Indias, el perro, el conejo, el gato, la vaca, que también la padece espontáneamente, la gallina, la paloma, los pájaros. Son refractarios la rata y el ratón.

Escoriando las mucosas en el conejillo de Indias, y untando la parte escoriada con un cultivo puro del Bacillus diphteriæ, se produce la falsa membrana. También se puede producirla en la piel de la oreja del conejo aplicando primero un pequeño vejigatorio, y en seguida el cultivo puro; después se introduce la oreja en un saco de caoutchouc, para impedir la desecación de la herida, la cual no permite la formación de la falsa membrana.

La inoculación subcutánea produce, en el conejillo de Indias, edema en el lugar de la inyección; elevación de la temperatura; aceleración respiratoria y la muerte a los dos o tres días por intoxicación general. La inoculación intraperitoneal es menos activa que la subcutánea.

La inoculación intraqueal con escarificación previa de la mucosa, produce un verdadero croup. Cuando la inyección se hace en el conejo, y la muerte no sobreviene muy rápidamente, se observa la aparición de las parálisis. Igualmente se las ha visto presentarse en el perro y en la paloma.

Autopsia.—En el punto de la inoculación hay el edema con puntos hemorrágicos; los ganglios vecinos están tumefactos; hay congestión intensa de las vísceras, principalmente de las cápsulas suprarenales y del riñón. El hígado está amarillo, reblandecido y presenta la degeneración grasosa.

Los microbios se encuentran solamente en el punto de la inoculación, de donde desaparecen pronto. Se hallan siempre en la falsa membrana. Tienen por carácter peculiar, el de no invadir nunca el organismo.

Morfología.—El Bacillus de Löffler presenta tres variedades, según su tamaño: Bacillus cortos de dos μ de largo, y 0,8 μ de ancho; Bacillus medianos de 3 μ a 4 μ de largo; Bacillus largos, los cuales tienen de 4 μ a 5 μ de longitud.

Es inmóvil, y recto o algo encorvado, con extremidades redondeadas y abultadas. A veces se presentan ramificados. Nunca se le han visto espórulos.

Coloración.—Se colora bien por los colorantes básicos de la anilina. Toma el Gram. Los cultivos antiguos presentan microbios granulosos y de difícil coloración.

Cultivos.—Es aerobio. Su temperatura óptima es de 37°. Se desarrolla mejor en una corriente de aire.

Caldo.—Se desarrolla muy bien en caldo de ternera peptonado, y se forman puntos blancos, que se fijan en la pared de la probeta; más tarde aparece un velo en la superficie del caldo, y después un precipitado que lo deja claro; la reacción del caldo, primero se vuelve ácida y después alcalina.

Gelatina.—Se desarrolla lentamente, y forma colonias blancas, separadas las unas de las otras. En placas las colonias se presentan opacas en el centro. No licúa la gelatina.

Gelosa.—La misma forma de las colonias que la que presentan en gelatina.

Suero gelatinado.—Este es el mejor medio de cultivo; en él aparecen a las diez y ocho horas, las colonias en la forma de puntos redondeados, blancos, que llegan a tener el tamaño de una cabeza de alfiler, y alcanzan más tarde el diámetro de cinco milímetros.

Leche.—Se desarrolla bien en la leche, sin efectuar la coagulación de ella.

Diagnóstico bacteriológico de la difteria.—Se hace por el examen microscópico, por los cultivos y por las inoculaciones.

Examen microscópico.—Se toma con unas pinzas de presión un pedazo pequeño de algodón apelotonado, con el cual se frota la falsa membrana, y en seguida se fricciona con él mismo, una lámina; se fija, y se colora con el azul de Löffler, o con otro colorante cualquiera; o puede tratarse por el método de Gram.

Si se encuentran bacillus largos, o si hay asociación con el Streptococcus, la difteria es de forma grave. Si sólo se encuentran bacillus medianos o pequeños y si están asociados únicamente con el Micrococcus Brisou, la difteria es benigna.

Cultivos.—En el caso de que el examen microscópico no sea decisivo, es necesario practicar cultivos en suero coagulado, o en albúmina de huevo endurecida; para lo cual se toma, con el alambre de platino, una partícula de la falsa membrana, y se siembra una probeta; en seguida se siembran dos probetas más, sin tocar de nuevo la falsa membrana, se llevan a la estufa, en la cual, a las veinte o veinte y cuatro horas, aparecen las colonias.

Inoculaciones.—Para asegurar más el diagnótico, se practicarán inoculaciones, en el conejillo de Indias o en un pájaro, con las distintas colonias de estos cultivos.

Biología.—Se desarrolla desde los 20°, hasta los 40° en que disminuye la multiplicación, y cesa a los 42°. Se conserva vivo en los cultivos, por cinco o seis meses. La temperatura de 58°, durante algunos minutos, esteriliza los cultivos en caldo. En las falsas membranas desecadas, dura mucho más, y resiste mejor a los agentes de destrucción. La luz solar directa, o la luz difusa, produce la muerte rápida de los bacillus, aún de aquéllos que están en la falsa membrana.

La virulencia es variable; de manera que cultivado en caldo, e inyectado a la dosis de un centímetro cúbico, al conejillo de Indias, si el bacillus es muy virulento, lo mata en 24 horas; si es medianamente virulento, lo mata entre dos y seis días; si es poco virulento, en ocho o diez días; si es muy poco virulento, el animal no muere; pero se produce el edema y escara en el punto inoculado. Puede suceder que la virulencia sea nula, en cuyo caso, el animal nada presenta, después de la inoculación.

Se atenúa cultivandolo a 39° en una corriente de aire. Expuesto al aire en la falsa membrana, no perece, pero se atenúa. No se puede restituirle la virulencia, cuando la ha perdido. Se la puede exaltar, uniéndolo a un cultivo virulento de Streptococcus, e inyectándolos al conejillo de Indias. También la unión con el Bacillus coli communis exalta la virulencia.

Toxina.—Fueron Roux y Yersin los que demostraron que la enfermedad era producida por la toxina diftérica. Para obtenerla, se prueba el microbio inoculándolo al conejillo de Indias, al cual debe producir la muerte para que sea buen toxígeno, en 24 o 36 horas, a la dosis de un centímetro cúbico de cultivo en caldo.

Se cultiva en una corriente de aire en frascos de Fernbach, en caldo de ternera peptonizado, según el método de Roux y Martín; o en el mismo caldo de ternera peptonizado, puesto en anchos balones, según el método de Martín. Tres semanas después en el primer método; y una semana después, en el segundo, el caldo que se había puesto ácido, se alcaliniza nuevamente; este es el momento en que hay la mayor cantidad de toxina; se filtra entonces por la bujía de porcelana.

El líquido filtrado mata el conejillo de Indias, a la dosis de un décimo de centímetro cúbico, con el primer método; y a la dosis de un doscientos avo de centímetro cúbico, si se ha obtenido con el método de Martín.

La naturaleza de la toxina es idéntica a la de las diastasas. Inoculada a los animales receptivos, les produce los mismos fenómenos ya descritos de la inoculación de los cultivos.

Vacuna.—Hoffman obtiene la vacunación del conejillo de Indias, sirviéndose de los cultivos atenuados por el envejecimiento. Frankel los inmuniza con cultivos atenuados por el calor. Behring se sirve, para el mismo efecto, de cultivos adicionados de tricloruro de yodo.

Roux y Nocard inmunizan el caballo, inoculándole bajo la piel, detrás de la paleta, mezclas de una parte de toxina y diez partes de solución de Gram, y después la toxina pura, de la manera siguiente:

1er.	día	¼ c. c. de la mezcla.
2º	»	½ c. c. » »
4º, 6º, 8º	»	½ c. c. » »
13º, 14º	»	1 c. c. » »

17º	día....	¼ c. c.	de toxina	pura.
22º	»	1 c. c.	»	»
23º	» ...	2 c. c.	»	»
25º	»	3 c. c.	»	»
28º	»	5 c. c.	»	»
30º, 32º, 36º	»	5 c. c.	»	»
39º, 41º	»	10 c. c.	»	»
43º, 46º, 48º, 50º	»	30 c. c.	»	»
53º	»	60 c. c.	»	»
57º, 63ª, 65º, 67º	»	60 c. c.	»	»
72º	»	90 c. c.	»	»
80º	» 250	c. c.	»	»

Las inoculaciones se deben repetir de tiempo en tiempo para mantener la inmunidad.

Seroterapia.—Behring y Kitasato demostraron las propiedades del suero de los animales inmunizados.

Roux y Martín han hecho entrar en la práctica corriente la seroterapia de la difteria. El suero que ellos emplean, es el del caballo inmunizado, como acabamos de decir.

Propiedades del suero.—El suero antidiftérico es antitóxico, y posee propiedades preventivas y curativas. No es bactericida. Posee propiedades aglutinantes débiles.

El empleo del suero antidiftérico en el hombre, ha dado resultados verdaderamente sorprendentes, de tal suerte, que desde su descubrimiento la difteria ha llegado a ser una enfermedad casi insignificante. Empleado oportunamente, cura con seguridad la difteria.

Hay que tener presente que no es bactericida, y que por lo tanto, los microbios quedan vivos en el individuo ya curado, y que éste puede trasmitir la enfermedad, por esta causa.

Ensayo del suero.—La notación de Behring y de Ehrlich, admite como unidad de medida, unidad inmunizante o unidad antitóxica, un décimo de centímetro cúbico de un suero que mezclado a nueve décimos de centímetro cúbico de toxina normal, la neu-

traliza completamente. Un centímetro cúbico de dicho suero contendrá, pues, diez unidades antitóxicas.

La notación de Roux emplea como unidad, la relación entre la cantidad de suero necesario para preservar un conejillo de Indias, que doce horas después recibe una inyección de medio centímetro cúbico de cultivo bien virulento, y el peso del conejillo de Indias, expresado en gramos. De esta manera, un suero activo al $\frac{1}{5000}$, significa, que con un centímetro cúbico de él, se preservan cinco mil gramos de conejillo de Indias, contra la inyección de medio centímetro cúbico de cultivo virulento.

CAPITULO IX

Fiebre tifoidea

Definición.—La fiebre tifoidea es una enfermedad específica, infectiva, contagiosa, producida por el Bacillus typhosus. Descubierto por Eberth en 1880. Aislado, cultivado y estudiado por Gaffky.

Enfermedad espontánea.—Se presenta solamente en el hombre, con un aspecto clínico variable. En ella hay dos fenómenos característicos, que son: la fiebre, y la postración o el estupor; puede terminar por la muerte después de una duración variable entre dos y seis semanas.

Autopsia.—Se encuentran afectados el intestino, el bazo y los ganglios mesentéricos. Las lesiones intestinales son características, y consisten en la inflamación y ulceración de las placas de Peyer, y de los folículos linfáticos simples del intestino. Las del bazo son una hipertrofia y congestión del órgano. La misma hipertrofia y congestión se observan en los ganglios mesentéricos.

Además de estas lesiones fundamentales, se encuentran otras, también de naturaleza inflamatoria, ya en unos órganos, ya en otros. Congestión pulmonar y pulmonía, meningitis, miocarditis, arteritis, flebitis, nefritis, degeneraciones vítreas de los músculos.

El microbio se encuentra constantemente en el bazo, el hígado, los ganglios mesentéricos, las placas de Peyer, en la médula ósea, en las materias fecales; más rara vez en el músculo cardiaco, el pulmón, el testículo, la orina; antes se creía que no penetraba en la sangre; pero hoy se sabe que se encuentra en ella también.

Modo de contraerse la infección.—La fiebre tifoidea es contagiosa, y son las materias fecales las que la propagan, contaminando el agua potable, de suerte que la infección se hace por el tubo digestivo. Las moscas ejercen gran acción en la propagación de esta enfermedad, según Celli, Sternberg y Howard. Hamilton sembrando moscas recogidas en los cuartos de los tíficos, o en las letrinas, ha obtenido cultivos del Bacillus de Eberth.

La fiebre tifoidea es infectiva. El microbio puede, pues, venirle al hombre sano del medio exterior; o sea del suelo, en donde se le encuentra a veces, y del agua, en la cual, como se sabe, él puede vivir perfectamente por bastante tiempo, y reproducirse.

Enfermedad experimental.— Para producir accidentes septicémicos algo semejantes a la fiebre tifoidea, por la inoculación a los animales, de los cultivos del Bacillus de Eberth, se necesita que estos cultivos sean de una virulencia exaltada, pues los cultivos ordinarios nada producen.

Sanarelli exalta la virulencia del microbio, inoculando en el tejido conjuntivo del conejillo de Indias, cinco centímetros cúbicos de un cultivo en caldo de 24 horas, y en el peritoneo del mismo animal inyecta al propio tiempo diez centímetros cúbicos de cultivo antiguo en caldo de Bacillus coli communis; a las doce o veinticuatro horas muere el animal, y se encuentra el

Bacillus de Eberth abundantemente en el peritoneo, y a veces en la sangre y en el bazo. Se cultiva este microbio y el cultivo se inocula junto con una cantidad menor del Coli communis; y así se van repitiendo las inoculaciones hasta que se obtenga un Bacillus tífico capaz de matar por sí sólo al conejillo de Indias.

Chantemesse y Widal le exaltan la virulencia, inyectándolo junto con un cultivo de Streptococcus esterilizado a 100°.

Chantemesse y Balthazar la exaltan cultivando el microbio en sacos de colodión en el peritoneo del conejillo de Indias. Inoculado el virus exaltado en el peritoneo del conejillo de Indias a la dosis de algunas gotas, se produce una elevación de la temperatura a 40° y a 41°; después hay descenso de ella, a 35° y 32°, el vientre se hace doloroso, y el animal sucumbe en hipotermia.

Autopsia.—La cavidad peritoneal presenta un derrame seroso; el hígado, el bazo, los riñones, están congestionados; el intestino lo está igualmente; las placas de Peyer y los ganglios mesentéricos están tumefactos.

Los microbios se encuentran en el exudado peritoneal, en los órganos, en la sangre, en las placas de Peyer. En el líquido intestinal, se encuentra también el microbio, según Chantemesse y Widal.

Se ha podido infectar al mono, por la inyección de cultivos tíficos, y ha presentado los síntomas y las lesiones propias a la fiebre tifoidea; también se ha logrado infectar al conejo. Para el buen éxito de la experiencia se necesita debilitar el organismo del animal, antes de la penetración del Bacillus de Eberth, unas veces sometiéndolos al régimen lácteo, otras veces sometiéndolos al ayuno, y también inyectándoles en el peritoneo caldo esterilizado, mezclado con láudano.

Morfología.—Es un pequeño bacillus, de 2 μ a 3 μ de largo, por 0,6 μ a 0,7 μ de ancho; en los cultivos en caldo es muy delgado y corto; en los cultivos viejos

en gelatina, se alarga y toma el aspecto filamentoso; otras veces, al colorarlo, la parte central queda transparente, y el microbio toma el aspecto de un bacillus de espacios claros, y como la parte central incolora es más gruesa, presenta la forma de naveta.

Muy movible por tener ocho o doce pestañas; y algunos llegan a presentar diez y ocho o veinte y cuatro, repartidas regularmente en toda la superficie, las cuales tienen 6 μ y 8 μ de longitud y pueden ser flexuosas. Tanto el número como el tamaño de las pestañas, tienen una fijeza notable en este microbio; siendo estos caracteres de gran importancia para reconocerlo y diferenciarlo.

Coloración.—Se colora bien por los básicos de la anilina. No toma el Gram.

Cultivos.— Es aero-anaerobio. Su temperatura eugenésica es de 37°.

Caldo.—A las primeras horas de sembrado, presenta el caldo un enturbiamiento que más tarde se acentúa. Agitando el cultivo, se forman en el caldo unas ondas tornasoladas características. Después se forma un depósito, el caldo se aclara, y al fin toma un color bruno.

Gelatina.—Se presentan a lo largo de la punción, colonias blancas, redondeadas, confluentes; y en la superficie aparece un disco trasparente, con bordes tornasolados. Algunas veces se observan cristales de fosfatos que forman arborizaciones.

En placas se presentan las colonias con un aspecto característico; son circulares, delgadas, nacaradas, transparentes; los bordes, más tarde se vuelven sinuosos, y aparecen crestas y surcos que cruzan la superficie de la colonia, que toma entonces el aspecto característico de una montaña de hielo.

Gelosa.—Aparece a las veinte horas una estría blanca que se espesa poco a poco.

Papas.—Aparentemente no se forma ningún cultivo; pero al examinar la superficie de la papa, se ve,

a lo largo del surco dejado por el alambre de platino, un barniz húmedo, acaramelado, característico. Si la papa se alcaliniza, entonces se observa el desarrollo de una estría amarillenta y gruesa.

Biología.—Germina desde los + 4°, hasta los + 46°. La temperatura de + 60° los hace perecer; pero soportan por muchos meses un frío de—1° y de —11°. No desarrolla ningún olor en los cultivos. No tiene acción fermentativa sobre la lactosa, por lo cual sembrado en caldo lactosado, adicionado de carbonato de calcio, no produce desprendimiento de gases.

No fermenta la manita, de manera que sembrado en gelatina manitada, adicionada de tornasol, no hay formación de ácido, y por lo tanto no hay cambio de color. Sembrado en leche no se produce la coagulación.

No produce indol. Se cultiva bien en los medios puramente minerales. Si se raspa la superficie de un cultivo de Bacillus tifico, en gelosa, o en gelatina, para desembarazar el cultivo de los microbios que lo cubrían, las siembras practicadas sobre el mismo medio ya limpio, con nuevos Bacillus tíficos, no dan germinación; la gelosa o la gelatina quedan estériles y como vacunadas o inmunizadas por el cultivo anterior.

Cultivado en caldo, que contenga dos centígramos de ácido arsenioso por litro, no se desarrolla. Cultivado en medios colorados por fuchsina, se colora la película que forman los microbios al desarrollarse, a expensas del medio de cultivo, el cual se descolora.

Toxinas.—Toxina de Sanarelli.—Se cultiva el microbio, de virulencia exaltada, en caldo glicerinado; se esteriliza al calor; se deja en reposo, por ocho meses, a la temperatura ambiente; se calienta de nuevo a 60°, en envases cerrados a la lámpara, y se decanta la parte líquida, la cual es la toxina.

Inyectada al conejillo de Indias bajo la piel, a la dosis mínima de 1,5 c. c. por cien gramos del peso del

animal, le produce la muerte, con previo descenso de la temperatura y convulsiones.

A la autopsia no hay ni congestión de la mucosa intestinal ni tumefacción de las placas de Peyer.

Toxina de Chantemesse.—Se cultiva el microbio en sacos de colodión, en el conejillo de Indias, para aumentarle la virulencia; se siembra después en una solución de peptona de bazo; el sexto día se filtra por la bujía de porcelana. Inoculada en el peritoneo del conejillo de Indias, a la dosis de seis centímetros cúbicos le produce la muerte a las 24 horas.

Tifolisina.—Los cultivos del Bacillus tífico, sobre todo los cultivos antiguos, contienen esta sustancia hemolítica.

Vacuna.—Vicent vacuna el conejo y el perro, inoculándoles primero cultivos calentados a 60°; después cultivos vivos de 16 horas; y por último, cultivos virulentos de 20 días. Brieger, Wassermann y Kitasato inmunizan el conejillo de Indias inoculándole cultivos hechos en caldo de timo, los cuales resultan atenuados. Chantemesse y Widal inmunizan el conejo y el conejillo de Indias, inoculándoles cultivos en caldo esterilizados a 100°. Chantemesse inmuniza el caballo, inoculándole dosis crecientes de la toxina.

Seroterapia.—Brieger, Wassermann y Kitasato han logrado inmunizar al ratón, inoculándole suero de un animal vacunado. Chantemesse y Widal han demostrado que el suero del hombre afectado de fiebre tifoidea, o el de aquél que la ha padecido, posee propiedades preventivas y curativas.

Suero de Chantemesse.—Es el suero que se extrae del caballo inmunizado por el método de Chantemesse. Es un suero de un poder antitóxico considerable. Posee un gran poder aglutinante. Favorece la fagocitosis. Su acción terapéutica es poco apreciable. No tiene poder bactericida.

Suero-diagnóstico de la fiebre tifoidea.—El poder aglutinante, aparece en la sangre de los enfermos de

fiebre tifoidea, en los primeros días de la enfermedad. Se puede poner en evidencia por procedimientos lentos o rápidos.

Procedimiento lento.—Se extrae la sangre de una vena del pliegue del codo, por punción; se deja en reposo para que se coagule; se aspira el suero que resulta, con una pipeta de Pasteur; luego en una probeta con seis o diez centímetros cúbicos de caldo, se ponen diez gotas del suero, se siembra y se lleva a la estufa; al mismo tiempo se siembra otra probeta a la cual no se le pone suero.

El cultivo de la probeta que tiene suero se desarrolla más tarde que el otro; a las diez horas aparecen grumos en él, los cuales más tarde se depositan en el fondo, y el resto del caldo queda transparente. Al mismo tiempo, el cultivo testigo se pone turbio desde el principio, y presenta las ondas tornasoladas características.

Procedimiento rápido.—Se ponen en un vaso cónico, diez a cien gotas de cultivo tífico en caldo, de veinte y cuatro horas, y en el cual se ha comprobado, por el examen microscópico, que no hay conglomerados de Bacillus; se le añade una gota del suero; se pone una gota de la mezcla en una lámina, se la cubre con una laminilla, y se lleva al microscopio. Se ven los bacillus aglutinados, y entre ellos algunos sueltos.

Se puede hacer la reacción con sangre desecada, la cual se disuelve en una o dos gotas de agua, y esta mezcla se agrega a las diez o cincuenta gotas de cultivo, que se pusieron en el vaso cónico; una gota estudiada al microscopio, muestra los bacillus aglutinados.

No siempre que los bacillus se aglutinan, puede diagnosticarse la fiebre tifoidea; pues si el enfermo la ha tenido antes conserva su suero la propiedad aglutinante. Tampoco en el caso de no haber aglutinación, se puede concluir definitivamente que la enfermedad de que se trata no es fiebre tifoidea, pues hay bacillus de Eberth que no se aglutinan con el suero tifoideo.

CAPITULO X

Colibacilosis

Definición.—Se da el nombre genérico de Colibacilosis a las afecciones producidas por el Bacillus coli communis. Descubierto por Escherich en 1884.

Colibacilosis espontáneas.—El Bacterium coli commune puede vivir en el organismo humano como saprofito, sin producir trastornos funcionales. Pero al volverse virulento, llega a ser el agente morboso de septicemias semejantes a la tífica, de enteritis, de cólera infantil, de peritonitis, de angiocolitis, de anginas, de broncopneumonías, de endocarditis, de pericarditis, de meningitis, de salpingitis, de metritis.

En los animales produce la colibacilosis de la gallina, la diarrea blanca de las terneras, la septicemia de las terneras, la colibacilosis de los pavos y de las palomas.

Colibacilosis experimental.—El conejillo de Indias, el conejo, el ratón, son los principales animales receptivos del Colibacillus.

Haciendo una inyección intraperitoneal al conejillo de Indias, de Bacillus coli communis cultivado en caldo, se le produce a las veinte y cuatro horas una peritonitis sobre aguda, con hipotermia, y la muerte. Si la inoculación es intrapleural, sobreviene la pleuresía hemorrágica. La inyección subcutánea es menos activa.

Autopsia.—El bazo está hipertrofiado; hay congestión y equimosis del intestino; las placas de Peyer están tumefactas; hay peritonitis con exudado, en el caso de inoculación peritoneal; pleuresía hemorrágica con depósitos fibrinosos, si la inyección fué intrapleural; y si fué subcutánea, hay flegmón. El microbio se encuentra en la sangre y en los órganos.

Morfología.—Es un pequeño bacillus de 2 μ a 3 μ de largo y 0,7 μ de ancho; tiene las extremidades redondeadas; al colorarlo presenta a veces espacios claros, y la forma de naveta. Es movible, porque tiene flagellas en número de cuatro o de seis, y excepcionalmente de doce; las cuales tienen de 3 μ a 5 μ de longitud.

Coloración.—Se colora con todos los colores básicos de la anilina. No toma el Gram.

Cultivos.—Es aerobio; su temperatura eugenésica es de 37°. Los cultivos presentan un olor soso y fecaloideo característico.

Caldo.—Se desarrolla bien en él; lo enturbia y produce ondas tornasoladas; frecuentemente se forma en la superficie del caldo, una película grisácea.

Gelatina.—No la licúa. En punción, se desarrollan pequeñas colonias opacas, confluentes. En la superficie aparece una película gruesa, cremosa, blanquecina. En placas aparecen pequeñas colonias transparentes al principio; blancas y opacas después; frecuentemente tienen el aspecto de montañas de hielo.

Gelosa.—Produce en ella, un barniz blanco, que a veces va acompañado de burbujas de gas.

Papas.—Forma en ellas un cultivo amarillento y espeso, que después se vuelve bruno y húmedo; algunas veces el cultivo es una estría delgada, húmeda y apenas perceptible; como acaramelada.

Biología.—Se desarrolla bien a 45°. Coagula la leche. Descompone los azúcares: la levulosa, la lactosa, la sacarosa, la maltosa, la dextrosa, la eritrita, la manita, dando hidrógeno, anhídrido carbónico, alcohol etílico, los ácidos fórmico, acético, butírico, láctico.

Cambia el color azul del tornasol, en los cultivos, en rojo. Produce indol. Cultivado en medios del cultivo vacunados por un cultivo anterior, se desarrolla perfectamente. Se cultiva en caldo adicionado de uno

y dos gramos de ácido arsenioso por litro. Su virulencia es variable.

Toxina.—Filtrando los cultivos en caldo, por la bujía de porcelana, se obtiene la toxina, que inoculada en la vena auricular del conejo, le produce debilidad muscular, hipotermia, somnolencia, coma, convulsiones y la muerte. Una dosis menor, le produce una intoxicación crónica, con diarrea, somnolencia, enflaquecimiento y caquexia. En los cultivos hay también una hemolisina, la Colilisina, que disuelve rápidamente los glóbulos rojos del perro.

Vacuna.—Los conejos, los conejillos de Indias y los perros se vacunan fácilmente con cultivos vivos, y con cultivos filtrados, a pequeñas dosis.

Seroterapia.—El suero de los conejos y perros inmunes, es inmunizante, y posee propiedades terapéuticas contra el mismo Colibacillus que sirvió para la inoculación vacunante; pero pueden estas propiedades no existir con respecto a otros Colibacillus.

Aglutinación.—El suero del hombre y de los animales infectados por el Colibacillus, es aglutinante para el mismo microbio que produjo la infección, pero puede no serlo para otros. El suero del hombre, que haya tenido o nó la fiebre tifoidea, aglutina ligeramente el Colibacillus, en disoluciones comprendidas entre un quinto y un décimo. El suero de los animales vacunados contra el Bacillus de Eberth, no aglutina el Colibacillus.

Diferencia entre el Bacillus typhosus y el Bacillus coli comunis.—Los cultivos del Colibacillus germinan más rápidamente que los del tífico, y producen un olor especial fecaloideo, que no tienen los del tífico. La movilidad del Bacillus de Eberth es mayor que la del Colibacillus, porque aquél tiene las pestañas más largas, y en mayor número que éste. El Bacillus tífico no coagula la leche como el Colibacillus. El Colibacillus descompone los azúcares, que el Bacillus tífico deja intactos.

El Bacillus tífico, no cambia el color de los cultivos tornasolados, que es cambiado por el Colibacillus. Este último produce indol, mientras que el primero no lo produce. Los cultivos arsenicados no permiten el desarrollo del Bacillus tífico, y en ellos germina muy bien el Colibacillus.

CAPITULO XI

Cólera asiático

Definición.—El cólera asiático es una enfermedad endemo-epidémica e infectiva producida por el Vibrio choleræ asiaticæ. Descubierto por Koch en 1884.

Cólera espontáneo.—Enfermedad endémica del Indostán, se ha presentado varias veces en las distintas partes del mundo, en forma epidémica. Es propia del hombre.

Síntomas.—Unas veces se presenta con síntomas fulminantes que producen la muerte en pocas horas; otras veces sucumben los enfermos en el período álgido después de algún tiempo de enfermedad; o puede suceder que la duración de ésta sea mayor, y el enfermo muere en el período de reacción; en este período también puede el enfermo curarse.

Los síntomas comunes son: diarrea riziforme, hipotermia, vómitos, calambres; éstos constituyen el período álgido. Después sobreviene el período de reacción, con fiebre, congestión de las vísceras abdominales, estado tifoideo.

Cólera experimental.— Los animales apropiados para la experimentación son: el conejillo de Indias, el conejo, el espermófilo.

Las inoculaciones en estos animales producen: una peritonitis colérica; una septicemia colérica; o el cólera intestinal.

Para producir la peritonitis vibrionana o colérica, se hace una inyección intraperitoneal, en el conejillo de Indias, con un cultivo del microbio del cólera en gelosa, disuelto en un centímetro cúbico de caldo; se produce al cabo de pocas horas, somnolencia, hipotermia, convulsiones y la muerte.

La septicemia colérica se presenta a consecuencia de una inyección subcutánea o intramuscular, con vibriones muy virulentos; se puede hacer en el conejillo de Indias, en el conejo, en el espermófilo, en la paloma. El animal presenta una hipotermia progresiva, convulsiones, colapso y la muerte.

Para producir el cólera intestinal, Koch prepara el conejillo de Indias, inyectándole en el estómago una solución de bicarbonato de soda; en el peritoneo veinte a treinta gotas de tintura de opio; un cuarto de hora después, una inyección en el estómago de un cultivo de Vibrión colérico. A las doce horas, se presenta el cólera intestinal, caracterizado por diarrea, hipotermia y la muerte.

Zabolotny comunicó el cólera al espermófilo, haciéndole tomar alimentos contaminados con algunas gotas del cultivo colérico. Metchnikoff, para evitar la acción impediente de los microbios del canal digestivo, introdujo en la boca de un conejo recién nacido, en el cual no hay sino muy pocos microbios, cultivos en gelosa, y obtuvo el cólera intestinal. También lo obtuvo, mezclando el Vibrión del cólera, con ciertos microbios favorecientes, como una sarcina blanca, bacillus coliformes, o torulas, descubiertos por él; los síntomas fueron : diarrea grumosa, hipotermia y por fin la muerte.

Metchnikoff experimentó también en sí mismo, y previa alcalinización del contenido estomacal, por ingestión de un gramo de bicarbonato de soda, ingería una emulsión, hecha en caldo esterilizado, de cultivos en gelosa; los resultados fueron: diarreas riziformes, vómitos, anuria, calambres; en suma, un cólera verdadero, aunque benigno.

Autopsia.—Los conejillos de Indias muertos de peritonitis colérica, presentan un exudado abundante en el peritoneo; el intestino distendido con un líquido grumoso, y la mucosa roja hortensia; la vejiga retraída y vacía. Los conejos muertos de septicemia colérica, presentan la coloración hortensia del intestino, con descamación de la mucosa, y un líquido grumoso contenido en la cavidad intestinal. Las mismas lesiones se encuentran en los animales muertos por la ingestión del microbio.

El microbio se encuentra durante la vida solamente en las evacuaciones alvinas. En el cadáver está en el líquido riziforme que ha constituido la diarrea, en los grumos de ese líquido principalmente; en el exudado que tapiza la pared intestinal, y en el espesor de ella. Se lo ha encontrado también a veces en el estómago, en el hígado, en las vías biliares. En la peritonitis colérica, está en la serosidad peritoneal y en la sangre. En el cólera espontáneo queda siempre localizado en el intestino.

Morfología.—El vibrión colérico tiene el aspecto de un bastoncillo grueso, de 1.5 μ a 3 μ de largo, y 0.5 μ a 0.6 μ de ancho. Es ligeramente sinuoso, o en forma de coma o de paréntesis. Está provisto de pestañas vibrátiles; unas especies presentan sólo una pestaña; otras tienen dos, tres o cuatro, a las cuales debe el microbio su movilidad.

Coloración.—Se colora con alguna dificultad, en lo cual sigue la ley, de que los vibriones son más difíciles de colorarse, que los bacillus. Para obtener una buena coloración hay que emplear los colorantes mordentados, como la tionina fenicada de Nicolle. No toma el Gram.

Cultivos.—Es aero-anaerobio. Su temperatura óptima es de 37°. Le son indispensables los medios de cultivo alcalinos.

Caldo.—Enturbia el caldo rápidamente; forma en la superficie de él, un delgado velo, el cual se rompe más tarde y se va al fondo.

Gelatina.—Forma pequeñas colonias a lo largo de la punción; aparece en seguida una depresión en la superficie de la gelatina, por la liquefacción que se empieza a producir; en la depresión hay una burbuja de gas; después toda la gelatina se licúa. En placas se ve la colonia redondeada, con un centro granuloso, rodeado de una zona brillante.

Gelosa.—Se desarrolla, a lo largo de la estría un barniz abundante, grueso, blanquecino.

Papas.—Forma una estría espesa, amarillenta o bruno-clara.

Biología.—Se desarrolla desde los 12° hasta los 40°. Una temperatura de—10° no les produce la muerte. Puestos a 60° por diez minutos, mueren. La oscuridad les es muy favorable. La desecación los mata rápidamente. Rara vez o casi nunca coagula la leche.

No presenta espórulos. Vive largo tiempo en el agua y en las sustancias que sirven para la alimentación. Koch lo encontró en el depósito de agua que servía para la alimentación de los habitantes de Calcutta. Nicatti y Rietsch, en el agua de Marsella, durante la epidemia.

Kolera-Roth.—La reacción del Kolera-Roth o indol-nitrosa es propia de este microbio. Se la obtiene tomando un cultivo en caldo, o en agua peptonada, en el cual se vierten algunas gotas de ácido sulfúrico, o de ácido clorhídrico químicamente puros; se produce una coloración roja.

Toxinas.—Toxalbumina de Brieger y Fränquel. Se obtiene por la filtración de los cultivos, aún de aquellos que se hacen en medios exclusivamente minerales.

Toxo-peptona de Petri. Se prepara cultivando los microbios en una solución de peptona al cinco o al diez por ciento; se esteriliza después a 120°. Inoculada al conejo, a la dosis de un centímetro cúbico, le produce, después de una incubación de dos o tres horas, somnolencia, hipotermia, peritonitis y la muerte a las veinte y cuatro horas.

Toxina de Roux, Metchnikoff y Taurelli-Salimbeni. Se prepara sirviéndose de microbios hipervirulentos por el cultivo en sacos de colodión, los cuales se cultivan en caldo de peptona gelatinado; al cuarto día se filtran por la bujía de porcelana. Es una toxina alcalina que mata al conejillo de Indias a la dosis de un centímetro cúbico; su principio activo es perceptible por el alcohol absoluto o por el sulfato de amoniaco. Produce en el conejillo de Indias la hipotermia, el coma y la muerte; al examen necrópsico se hallan el derrame peritoneal, la congestión del intestino delgado, del estómago y de las demás vísceras abdominales.

Vacuna.—Haffkine atenúa los microbios cultivándolos a 39° en una corriente de aire, y los inocula en el conejillo de Indias, el cual queda vacunado, después de haber tenido una viva reacción local y general. Vacuna al hombre, con una emulsión de un cultivo en gelosa, diluido en cinco centímetros cúbicos de agua destilada, a la dosis de 0,5 de centímetro cúbico.

Metchnikoff, Roux y Taurelli-Salimbeni usan de pequeñas dosis, progresivamente crecientes, de la toxina que ellos preparan. Besredka vacuna al conejo, sirviéndose de una mezcla de cultivos del cólera y suero anticolérico.

Seroterapia.—El que primero demostró las propiedades preventivas del suero de los animales vacunados, contra el vibrión colérico, fué Klemperer.

Suero de Pfeiffer.—Se obtiene de los animales vacunados con cultivos vivos; preserva al conejillo de Indias, a la dosis de un quinceavo de milígramo, de la peritonitis colérica, bien se inocule antes, al mismo tiempo o quince minutos después que el vibrión colérico. Es bactericida y aglutinante, pero no es antitóxico, según Metchnikoff.

Suero de Roux, Metchinikoff y Taurelli-Salimbeni. Se obtiene de los caballos vacunados con la toxina preparada por estos bacteriologistas. Es antitóxico, preventivo, bactericida y aglutinante.

Suero-diagnóstico.—El suero de la sangre de un colérico, aglutina las emulsiones de vibrión colérico al uno por diez y uno por quince, lo cual permite hacer el diagnóstico.

Reacción de inmunidad de Pfeiffer.—Si se inocula al conejillo de Indias, suero de un animal vacunado contra el cólera, esta inoculación lo preserva contra una inyección de Vibrión colérico, pero no contra un vibrión de otra especie, lo cual permite diferenciar el Vibrión colérico de los otros vibriones.

Metchinikoff ha demostrado que la reacción de inmunidad puede faltar con el verdadero vibrión del cólera, y producirse con vibriones saprofitos.

Método para reconocer el microbio.—Se reconoce el Vibrio chollerae asiaticæ, por sus caracteres específicos: aspecto de los cultivos en gelatina; la reacción del Kolera-Roth o indol-nitrosa; la virulencia para el conejillo de Indias; la reacción de inmunidad; la aglutinación por el suero anticolérico.

CAPITULO XII

Lepra

Definición.—Se llame lepra, elefanciasis o spedalsked, una enfermedad específica, hereditaria, contagiosa, producida por el Bacilus lepræ. Descubierto por Hansen en 1877.

Enfermedad espontánea.—Propia del hombre. Presenta dos formas: la lepra tuberculosa, caracterizada por neoplasias bacilares o lepromas, en la piel, las mucosas, los nervios, los ganglios linfáticos y las vísceras; la lepra anestésica, caracterizada por placas cutáneas de descoloración, semejantes al vitílogo, que son anestésicas, y la atrofia de los músculos de la mano.

Enfermedad experimental.—Ninguno de los animales presenta receptividad para la lepra. En cambio, algunos casos de inoculación en el hombre, han dado resultado; y se han observado casos de lepra por inoculación vacúnica.

El microbio se encuentra en grandísima abundancia en las lesiones leprosas, y en los humores naturales contaminados con los lepromas ulcerados. En la sangre no existe generalmente. La saliva, las lágrimas, el moco nasal, lo contienen, siempre que haya lepromas ulcerados en las mucosas por las cuales pasan estos humores. La linfa contiene generalmente muchos microbios.

Asociaciones.—Con los Stapylococcus, con el Bacillus pyocyaneus, con el Bacillus tuberculosis, con el Pneumococcus.

Morfología.—Es un bacillus de 5 μ a 6 μ de largo por 0,5 μ de ancho. Generalmente recto o ligeramente incurvado, con las extremidades abultadas en muchos casos. Es granuloso después de coloreado.

Coloración.—Es difícilmente colorable y difícilmente descolorable. Se colora más fácilmente que el de la tuberculosis, puesto que se colora por las soluciones acuosas de los básicos de anilina; y se descolora con más dificultad que el de Koch, porque resiste a la descoloración por una mezcla de ácido nítrico y alcohol, al uno por diez, según el método de Baumgarten. Toma el Gram.

Cultivos. Roux,—Cornil y Chantemesse no han logrado cultivarlo, y los cultivos obtenidos por otros experimentadores parecen no ser del Bacillus lepræ. Spronk lo ha cultivado en papa glicerinada y en gelosa glicerinada, y ha obtenido pequeñas colonias amarillentas, difícilmente perceptibles; los microbios de estos cultivos, son aglutinables por el suero de leprosos, a la dilución de uno por setenta y hasta de uno por mil; mientras que el suero del hombre sano no los aglutina sino en diluciones de uno por treinta o por cuarenta a lo más.

Biología.—No se conoce nada de la biología de este microbio.

El microbio de los cultivos de Spronk, empieza a germinar a los 25°, y su temperatura eugenésica es de 36°.

Seroterapia.—Carrasquilla trató de producir el suero anti-leproso; pero aunque su suero parece ejercer una acción favorable sobre la curación de la lepra, Metchnikoff demostró que no contenía ni antitoxina, ni ningún otro producto específico de la lepra. Inyectado, produce en el organismo una elaboración de cito-toxinas, como sucede siempre que se inyecta a un animal suero de un animal de otra especie; y serían las citotoxinas las que producirían la mejoría en el hombre inoculado.

CAPITULO XIII

Pneumonía

Definición.—La peneumonía o pulmonía es una enfermedad específica, contagiosa e infectiva, producida por el Diplococcus pneumoniæ. Descubierto por Pasteur en 1881 como saprofito de la saliva. Talomón lo señaló el primero en el exudado de la pulmonía en 1883. Fränkel demostró la acción de este microbio en la pulmonía en 1885.

Además de la pulmonía, y de sus complicaciones, este microbio produce otras inflamaciones con tendencia a la supuración: pericarditis, endocarditis, meningitis, nefritis, parotiditis supurada, artritis supurada, peritonitis, metritis, conjuntivitis, queratitis, otitis supuradas. El pus del Diplococus es espeso, viscoso, de color verdoso y muy rico en glóbulos purulentos.

Asociaciones.—En la pulmonía se asocia con el Streptococcus, con los Staphylococcus, con el Bacillus de Friedländer.

Enfermedad espontánea.—Propia del hombre, se presenta como una inflamación del pulmón, con los tres períodos clásicos de congestión, hepatización roja y hepatización gris.

El microbio se encuentra en el esputo, en el jugo pneumónico, en los exudados, en el pus, y algunas veces en la sangre.

Enfermedad experimental. — Los animales muy receptivos son: el ratón, el conejo, la rata; los menos receptivos son: el carnero, el conejillo de Indias, el perro.

La inoculación experimental produce dos modos diferentes de la infección : la septicemia diplocóccica y la pulmonía; la septicemia se presenta en los muy receptivos; la pulmonía en los que lo son menos.

Inoculando al ratón bajo la piel de la base de la cola, pequeñas cantidades de esputo o de cultivos, le sobreviene la muerte a las doce o veinticuatro horas por septicemia; la cual se produce igualmente en el conejo, a las veinte y cuatro o setenta y dos horas, de una inyección intraperitoneal o intravenosa.

La inoculación intrapulmonar en el conejo le produce, junto con la septicemia, una pulmonía lobar acompañada de pleuresía.

La inoculación de un cultivo atenuado en el conejo, le produce una pulmonía, y la muerte sobreviene más tarde. Los cultivos virulentos inoculados a la rata, al carnero o al perro, por inyección intrapulmonar les hace contraer la pulmonía. La inoculación intraqueal parece inofensiva.

Autopsia.—Los animales muertos de septicemia diplocóccica presentan lesiones insignificantes; apenas hay una ligera hipertrofia del bazo. El microbio se encuentra en la sangre, en el bazo, en las demás vísceras, en el peritoneo y en la médula ósea.

En los que han muerto de pulmonía, se encuentran las lesiones anatomo-patológicas de ella. En la rata, el

carnero, el perro, hay además, una infiltración edematosa en el punto de la inyección.

Morfología.—Pequeños coccus, unas veces redondeados y más generalmente ovalados y agudos en una de sus extremidades: lanceolados; van reunidos por pares y se acercan más por sus extremidades agudas. El tamaño de los coccus más pequeños es de 0,7 μ de largo por 0,5 μ de ancho; y los más grandes tienen 1,25 μ de largo, por 1 μ de ancho. Unas veces están sueltos; otras formando cadenas de tres o cuatro coccus. Los microbios que provienen del organismo tienen una cápsula alrededor de cada coccus, ya estén aislados o formando diplococcus o cadenas; pero los que provienen de los cultivos no son encapsulados.

Coloración.—Se coloran por todos los colorantes básicos. Toman el Gram.

Cultivos.—Es aerobio facultativo. Su temperatura eugenésica es de 37°. Necesita que el medio de cultivo sea alcalino y debe resembrarse frecuentemente.

Caldo.—Enturbia el caldo a las veinte y cuatro horas próximamente; después se forma un depósito pequeño y pulverulento.

Caldo con sangre de conejo.—Forma en este medio, un cultivo abundante, con gran enturbamiento y después un depósito mucinoso.

Gelosa.—A las veinte y cuatro horas aparecen pequeñísimas y numerosas colonias transparentes, discretas, semejantes a finas gotas de rocío.

Gelatina.—Papas.—No se desarrolla en estos medios de cultivo.

Biología.—No germina a una temperatura menor de 25°. Cesa de desarrollarse a 42°. En los medios de cultivo pierde pronto su virulencia, la cual desaparece en los medios líquidos, que son los más favorables, a los siete días; y también pierde pronto su vitalidad, de tal suerte, que muchas veces muere, a los cuatro días, en los medios sólidos.

En los esputos, en los exudados, en sangre desfibrinada mezclada con serosidad ascítica, vive más tiempo, hasta un año. En la tierra, también puede vivir bastante tiempo.

La atenuación que este microbio experimenta en los cultivos, es debida al oxígeno, como lo demostró Pasteur; así es que la virulencia se conserva mejor cultivándolo en el vacío. También se debe la atenuación, a la acidificación del medio de cultivo, por el desarrollo de ácido fórmico; si al cultivo se le agrega carbonato de cal, el ácido va neutralizándose a medida que se forma, y el microbio se conserva vivo durante un mes.

Se le restituye la virulencia inoculándolo al ratón; o también inoculando al conejo la mezcla de un centímetro cúbico del cultivo en caldo de este microbio, y un centímetro cúbico de cultivo filtrado de Proteus vulgaris; se encuentra virulento en la sangre, y se le aumenta la virulencia, por varias inoculaciones intraperitoneales sucesivas en el mismo animal.

Toxinas.—Toxina de Klemperer.—Los hermanos Klemperer, filtrando el cultivo virulento, y precipitando el líquido filtrado, por el alcohol o el sulfato de amoniaco, obtienen su toxina.

Toxina de Emmerich.—Se obtiene moliendo y exprimiendo los órganos del conejo, muerto de septicemia diplocóccica, y filtrando el jugo producido, por la bujía de Chamberland.

Toxina de Issaëf.—Se prepara tomando la sangre de tres o cuatro conejos muertos de septicemia diplocóccica y adicionándola con igual cantidad del líquido siguiente, esterilizado: agua, 100 c. c.; glicerina, 1 c. c., solución saturada de bicarbonato de soda, 6 gotas; después se filtra la mezcla por la bujía de Chamberland.

Vacuna.—Inyectando al conejo cultivos filtrados, o cualquiera de las toxinas del Diplococcus, se le vacuna temporalmente; y si en este estado, se le inyectan cultivos vivos, la vacunación es más durable.

Se pueden vacunar los animales con cultivos atenuados por el envejecimiento, y gradualmente, con cultivos virulentos.

Sergent vacuna sirviéndose de un cultivo muy virulento en gelosa, emulsionado en solución fisiológica, y adicionado de unas gotas de solución acuosa de Kristall–violet; si después de una hora de preparada la mezcla y estando ya los microbios colorados, se le inoculan bajo la piel al conejo, se le produce la muerte; pero si se le inoculan en las venas o en el peritoneo, no muere, y queda vacunado.

Seroterapia.—El suero de la sangre de los animales vacunados no es ni antitóxico, ni bactericida, in vitro, ni en el organismo; es un suero preventivo de la infección diplocóccica y aun curativo; lo cual es debido a la acción estimulante que ejerce sobre la fagocitosis.

El suero del hombre afectado de pneumonía, que es tóxico durante el período febril, es inmunizante y curativo en el momento de la defervescencia.

En los enfermos de pneumonía, se ha ensayado el suero de conejo vacunado, con algunos resultados satisfactorios.

El suero del hombre y de los animales con pneumonía es aglutinante para el mismo Diplococcus que ha causado la infección.

El Pneumo - bacillus de Friedlander.—Se creyó en la época de su descubrimiento, que era el agente patógeno de la pulmonía. Hoy se sabe que se encuentra en los productos pneumónicos asociado al Diplococcus. También se le encuentra en los productos de las bronquitis, de las bronco–neumonías, de las anginas; y a veces en los bronquios y en la saliva del hombre sano. Presenta gran semejanza con el Bacillus del rinoescleroma, descubierto por V. Frisch, y con el Bacillus del ozena descubierto por Löwenberg y Abel.

Es patógeno para el conejo y el conejillo de Indias. Su forma es la de un diplococcus encapsulado, cuyos elementos son mayores que los del de la pneumonía,

cuando se le estudia en los esputos. En los cultivos no tiene cápsula, y su forma es bacilar. Se colora bien y no toma el Gram.

Se cultiva en gelatina, en donde da un cultivo en forma de clavo, característico, sin licuarla. En gelosa da un cultivo viscoso que cae al fondo de la probeta. Coagula la leche. Se desarrolla bien en caldo, enturbiándolo. En papas forma un cultivo abundante, con finas burbujas de gas.

Hace fermentar los azúcares y la glicerina. No produce indol.

CAPITULO XIV

Gonorrea

Definición.—La gonorrea es una uretritis específica y contagiosa producida por el Micrococcus gonorrheæ o Gonococcus. Descubierto por Neisser en 1879.

Gonorrea espontánea.—Se presenta en el hombre, como una enfermedad venérea, generalmente la uretritis, y en la mujer la vaginitis blenorrágica; pero este microbio es el agente de las gonococcias; del reumatismo blenorrágico; de la oftalmía blenorrágica; de la cistitis y nefritis blenorrágicas; de las metritis, peritonitis, salpingitis y bartolinitis blenorrágicas; y en algunos casos raros, de endocarditis blenorrágica.

El microbio se encuentra en el pus de las diversas supuraciones blenorrágicas.

Enfermedad experimental.—Inyectando pus blenorrágico uretral al hombre, Welander obtuvo una blenorragia. Bumm, Boekart, Bokai y algunos otros, han producido blenorragias típicas inyectando cultivos puros en la uretra del hombre y de la mujer.

Las inyecciones de cultivos puros en la uretra del perro, del conejo, del caballo y del mono, no han dado

resultado alguno. La inoculación subcutánea, ha dado inflamaciones pasajeras, seguidas algunas veces, de pequeños abscesos. Inyectando los cultivos en las articulaciones, se obtienen artritis efímeras. En el peritoneo, la inyección produce, en el conejillo de Indias recién nacido, la muerte por septicemia.

El Gonococcus produce en los conejos recién nacidos una conjuntivitis gonorréica típica. En una coneja en gestación, Malovski ha obtenido, por una inoculación en la cavidad uterina, una supuración de las trompas con peritonitis mortal.

Morfología.—El Gonococcus tiene el aspecto de granos reniformes o de forma de judía. Tiene 0,4 μ a 0,6 μ de diámetro; casi siempre van unidos de dos en dos, juxtapuestos por la cara cóncava, y con una cápsula alrededor de cada par. Movible algunas veces en los cultivos. Tiene como carácter específico el estar incluido en el protoplasma de los glóbulos de pus, generalmente; rara vez está libre entre estos elementos.

Coloración.—Fácilmente colorable por los colorantes básicos. Su reacción colorante típica, es la de no tomar el Gram.

Cultivos.—Es aerobio. De muy difícil cultivo, por lo cual necesita, como lo demostró Wertheim, de la presencia del suero de la sangre no coagulado, en los medios de cultivo. Su temperatura eugenésica es de 37°.

Gelatina ácida.—Turro logró cultivarlo en gelatina ácida, que es la que no se alcaliniza durante la preparación; se observa una línea blanca en el trayecto de la punción. En placas forma pequeñas colonias aisladas, viscosas, puntiformes, blancas. No licúa la gelatina.

Gelosa ordinaria.—Forma un cultivo muy escaso que tiene el aspecto de una línea blanca.

Gelosa de Wertheim.—Se licúa la gelosa esterilizada y se deja enfriar a 45°; se toman de ella 6 centímetros cúbicos y se mezclan con 4 c. c. de suero humano o de líquido de ascitis. Aparece, después de la

siembra, a lo largo de la estría, una delgada banda, de color grisáceo, húmeda y brillante.

Gelosa de Kral.—Se obtiene tomando seis centímetros cúbicos de gelosa esterilizada, licuada a 45°, y mezclándolos con cuatro centímetros cúbicos de suero de ternera. Forma el mismo cultivo.

Gelosa de Pfeiffer.—Se preparan placas de Petri con gelosa, de manera a formar una delgada capa, y encima de la gelosa, se extienden cinco o seis gotas de sangre humana. Da el mismo cultivo.

Gelosa de Wildboltz.—Gelosa mezclada con líquido de los quistes ováricos.

Gelosa de Steinschneider.—Una parte de orina humana aséptica, y dos de gelosa ordinaria.

Gelosa de Nasstikoff.—Se toman dos centímetros cúbicos de una emulsión del amarillo del huevo en agua, al uno por tres; y seis centímetros cúbicos de gelosa licuada a 45° y se mezclan.

Gelosa de Heimann.—Dos partes de gelosa, mezcladas a una parte de suero de pleuresía tindalizado.

Suero de Bumm.—Suero de sangre humana, recogido de la sangre que sale de la placenta al seccionar el cordón, la cual, después de coagulada, da un suero que se solidifica por el método ordinario.

En todos estos medios se produce el cultivo ya descrito.

Biología.—Germina desde los 23°, hasta los 39°; perece a los 50°. La permanencia en hielo a 0°, por pocas horas, lo mata. Los cultivos en los medios apropiados, siempre que sean recientes, presentan una virulencia poco durable, más bien debida a la toxina que se forma en ellos.

Toxina.—Cultivado en una parte de agua de carne, mezclada con tres partes de líquido de ascitis, y después de la germinación, filtrado el cultivo por la bujía de porcelana, se obtiene la toxina, la cual es del todo semejante a las diastasas. Inoculada a la dosis de dos hasta diez centímetros cúbicos, en el peritoneo del co-

nejillo de Indias, le produce la muerte. Inoculada bajo la piel, le produce un absceso que después es infectado por otros microbios. Inoculada al conejo, en la pleura, le produce una pleuresía purulenta con pus estéril.

Inyectada la gonotoxina en la parte anterior de la uretra del hombre, a la dosis de dos centímetros cúbicos, durante cinco minutos, le produce una uretritis.

Vacuna.—Se puede inmunizar al conejillo de Indias, por una inoculación intracerebral de un miligramo de toxina.

Seroterapia.—Si se le inoculan fuertes dosis de toxina a la cabra, bajo la piel, se logra obtener un suero que es antitóxico y preventivo. El suero del conejillo de Indias vacunado, aglutina los microbios en los cultivos nuevos y antiguos. El suero de un enfermo de prostatitis gonorrréica, aglutina los microbios de los cultivos viejos, pero no los de los cultivos nuevos. El suero del hombre sano no tiene esta acción aglutinante.

CAPITULO XV

La Grippe

Definición.—La grippe o influenza, es una enfermedad epidémica, infectiva, contagiosa, producida por el Bacillus influenzæ. Descubierto por Pfeiffer en 1892.

Grippe espontánea.—Propia del hombre, se manifiesta por una intoxicación general del organismo, acompañada de afecciones del aparato respiratorio, y de complicaciones más o menos frecuentes, que son la meningitis, osteoperiostitis, las miocarditis grippales.

Grippe experimental.--Los animales, con excepción del mono, son refractarios. Si se inocula el mono

con un cultivo puro de grippe, en la traquea, en el pulmón o en las fosas nasales, se le produce una enfermedad semejante a la del hombre, de la cual generalmente se cura.

Inoculando fuertes dosis de cultivos puros al conejo, se le puede producir la muerte, por la acción tóxica de los productos solubles desarrollados en los cultivos, porque el microbio no germina en el organismo de este animal. Cantani ha producido la muerte del conejo, inyectándole pequeñas dosis de cultivos en la sustancia cerebral. El conejillo de Indias y el ratón, perecen intoxicados por grandes dosis de cultivos.

El microbio existe en los esputos, en el moco nasal, y algunas veces en la sangre.

Morfología.—Es un bacillus muy pequeño, y algunas veces es un cocco-bacillus, aislado o formando cadenas o Strepto-bacillus, de dos o cuatro elementos. Es inmóvil.

Coloración.—De difícil coloración, por lo cual es conveniente emplear las soluciones mordentadas. No toma el Gram.

Cultivos.—Es aerobio. Su temperatura eugenésica es de 37°. Necesita para cultivarse que los medios de cultivo vayan mezclados con sangre, con suero o con hemoglobina.

Caldo con sangre de paloma.—Se desarrolla en él produciendo grumos pequeños y blanquecinos.

Gelosa con sangre.—Se prepara licuando un tubo de gelosa, y vertiéndolo en una caja de Petri; luego que está solidificada la gelosa, se pone encima de ella una gota grande de sangre, la cual se extiende en la superficie. Sembrado allí, se desarrolla en forma de colonias finísimas y trasparentes, que necesitan para verse del empleo de la lente. Se puede reemplazar la sangre por una solución acuosa de hemoglobina, al uno por ciento, que se esteriliza filtrándola por la bujía de Chamberland.

Biología.—Se desarrolla desde los 26° hasta los 42°. En los esputos desecados, muere a las 36 horas. En los esputos naturales vive hasta catorce días. En los medios de cultivo adecuados, vive a lo más doce días. En sacos de colodión, en el peritoneo del conejo, se mantiene vivo por dos meses.

Su virulencia se puede aumentar, asociándolo al Streptococcus, o pasándolo por el ratón.

Vácuna.—Slatineano y Catani han logrado vacunar al conejillo de Indias, inoculándole bajo la piel, cultivos muy virulentos esterilizados a 56°.

Seroterapia.—Latapie vacuna una cabra con cultivos muertos, primero, y luego con cultivos vivos, y obtiene un suero preventivo para el conejillo de Indias, el cual tiene la propiedad de aglutinar los Bacillus de Pfeiffer en emulsión al uno por doscientos o por quinientos. El suero de los enfermos de la grippe no los aglutina.

CAPITULO XVI

Peste bubónica

Definición.—La peste bubónica es una enfermedad infectiva, contagiosa, inoculable y epidémica, producida por el Bacillus pestis. Fué descubierto por Yersin en 1894.

Peste bubónica espontánea.—Es una enfermedad común al hombre y a los animales. Se presenta en el hombre, con dos formas: la forma bubónica, caracterizada por una intoxicación general acompañada de inflamación de los ganglios linfáticos de la axila y de la ingle principalmente; la forma pneumónica, que está caracterizada por una bronco-pneumonía, acompañada de infección general, sin bubones.

Los animales que la padecen espontáneamente son muy numerosos; durante las epidemias de peste, se la observa, al mismo tiempo que en el hombre, en la rata, el ratón, el gato, el mono, el buey, el carnero, el perro, el cerdo, la gallina, el pavo, el pato, el ganso, la paloma, las moscas.

Pero el animal primeramente atacado es la rata. Su infección es trasmitida al hombre por los insectos comunes, como las pulgas, que van del hombre a la rata, y vice–versa; y también las chinches pueden trasmitirla de un hombre a otro.

Peste experimental.—Son muy receptivos los mismos animales que la sufren espontáneamente. Los cultivos son muy virulentos, y deben ser manejados con mucha atención, pues algunos han contraído la enfermedad, manejándolos.

La inoculación subcutánea en el mono, en el ratón, en la rata, en el conejillo de Indias, en el conejo, les produce la muerte en pocos días. Se puede producir la enfermedad, en el conejillo de Indias, con sólo frotar la piel afeitada, con un producto pestoso.

La inoculación intravenosa, intraperitoneal, las inoculaciones por las mucosas, producen con seguridad la infección. La ingestión de cultivos activos o de productos pestosos, produce la enfermedad, en los animales de laboratorio y en los domésticos.

La enfermedad se trasmite por contagio, lo cual se demuestra colocando en un mismo local ratas inoculadas y ratas sanas; todas mueren de peste.

Autopsia.—Se encuentran los ganglios de los bubones aumentados de volumen; el tejido conjuntivo ambiente es el sitio de una inflamación hemorrágica; la piel que cubre los bubones está enrojecida y con manchas negras; el resto de la piel presenta petequias, equímosis y pústulas. En el tubo digestivo están los folículos linfáticos congestionados y la mucosa presenta petequias; el hígado está grasoso, y en parte necrosado; el bazo aumentado de volumen; los riñones inflamados.

El pulmón presenta las lesiones de la bronco-pneumonía, en la forma bronco-pneumónica. La sangre está líquida, color de grosella, y los glóbulos en disolución.

Morfología.—Es un bacillus corto, grueso, con sus extremidades redondeadas; presenta los caracteres de un cocco-bacillus. Tiene 2 μ de largo, y 1 μ de ancho. En los cultivos en caldo forma cadenas. En la gelosa se alargan los bacillus. No tiene espórulos, y es inmóvil.

Coloración.—Se deja colorar fácilmente. No toma el Gram. Las soluciones colorantes diluidas, dejan el centro menos colorado que los extremos, y el bacillus presenta la forma de naveta.

Cultivos.—Es aerobio, y de fácil cultivo. La temperatura eugenésica es de 38°.

Caldo.—Forma grumos que caen sobre las paredes de la probeta, y más tarde en el fondo de ella, mientras que el caldo queda trasparente. A veces se enturbia, y otras veces se le forma un velo en la superficie.

Gelatina.—Produce en la superficie de la gelatina una mancha casi trasparente, y a lo largo de la estría una línea blanca. En placas se forman colonias redondeadas, blancas o amarillentas y granulosas, con una zona trasparente alrededor. No licúa la gelatina.

Gelosa.—Se desarrollan a lo largo de la estría las colonias blancas o trasparentes y con bordes tornasolados. Sembrado en gelosa que ya ha servido y a la cual se le ha quitado el cultivo anterior, se produce un barniz glutinoso y lechoso.

Papas.—Se desarrolla en forma de una línea delgada y amarillenta.

Biología.—Comienza a germinar a los 5°; a los 20° la germinación es bastante activa, y dura hasta los 42°; a los 58° muere en una hora, y muere al cabo de un minuto expuesto a 100°.

En la tierra vive por muchos meses, y entonces se

atenúa su virulencia, que también disminuye en los cultivos. Coagula la leche.

Toxina.—Roux obtiene la toxina aumentando primero la virulencia del microbio, por medio del cultivo en sacos de colodión, en el peritoneo del conejillo de Indias; luego lo cultiva en caldo gelatinado y lo filtra por la bujía de porcelana.

Si se hace macerar el cultivo, agregándole toluol, durante varias semanas, y se filtra por un filtro de papel, y el líquido filtrado se trata por el sulfato de amoniaco, se precipita la toxina, que se obtiene entonces en forma de un polvo, que a la dosis de un cuarto de milígramo, puede matar al ratón.

Vacuna.—Con la toxina no pueden inmunizarse los animales de una manera durable. Con las inyecciones de cultivos esterilizados por el calor, se puede vacunar el conejo. Roux vacuna el caballo, inyectándole primero cultivos esterilizados por el calor, y después cultivos vivos en dosis crecientes. Haffkine prepara la vacuna calentando a 70° durante una hora los cultivos virulentos, para matar los microbios; esta vacuna inyectada al conejillo de Indias, a la dosis de 2 centímetros cúbicos, le confiere al cabo de ocho días una inmunidad durable.

Inyectándole al hombre en el brazo dos o tres centímetros cúbicos, se le produce una fiebre ligera y algo de linfangitis en la región inyectada. La inmunidad la adquiere al cabo de algunos días, y le dura por varios meses. Durante los días que median entre la inyección y la aparición de la inmunidad, la receptividad para la peste está aumentada, lo cual es un gran inconveniente en tiempo de epidemia.

Seroterapia.—El suero del hombre que ha curado de la peste es preventivo y curativo en grado leve; pero el suero de conejo vacunado, a la dosis de tres centímetros cúbicos, preserva el conejo, contra una inyección de cultivo virulento; y lo cura de la infección, si la inyección de suero, a la misma dosis, se hace doce horas después de la del microbio.

Suero de Yersin.—Es el suero del caballo inmunizado por el método de Roux. Es bactericida, preservativo y curativo. Como todos los sueros, debe ser usado lo más cerca del principio de la enfermedad, y por el tiempo que sea necesario. La cantidad necesaria oscila entre 40 centímetros cúbicos y 100 cc. inyectados en varias veces.

El suero antipestoso es aglutinante. El suero del enfermo de la peste unas veces aglutina los microbios y otras nó. La aglutinación es más constante con el suero de los convalecientes.

CAPITULO XVII

Chancro blando

Definición.—El chancro blando es una enfermedad contagiosa e inoculable, producida por el Bacillus ulceris mollis. Descubierto por Ducrey en 1889.

Chancro experimental.—Inoculando el pus chancroso o los cultivos puros del bacillus en el hombre, se produce el chancro blando típico, el cual es reinoculable indefinidamente. El mono es en el único animal en el cual se ha podido producir el chancro experimental; y se ha logrado, sembrando los productos del chancro experimental del mono, obtener un cultivo capaz de determinar un chancro en el hombre.

El microbio se encuentra entre las fibras conjuntivas del dermis, entre los leucocitos, y en el pus. En el pus del bubón chancroso, no se encuentra el microbio al examen microscópico; pero si se siembra, se obtienen cultivos puros.

Morfología.—Son bacillus gruesos de 2 μ de largo por 0.5 μ de ancho; con las extremidades redondeadas; algunas veces presenta una cintura en su parte media,

que la da el aspecto de un 8. En los cultivos forma muchas veces cadenas, que en el suero líquido son muy largas y enredadas.

Coloración.—Se colora bién por los colorantes básicos, y con frecuencia el centro queda incoloro, tomando la forma de naveta. No toma el Gram.

Cultivos.—Es aerobio, y no se cultiva en los medios ordinarios. La temperatura óptima es de 37°.

Gelosa con sangre.—Se desarrollan las colonias con una forma redondeada, brillantes, sobresalientes; después se ponen opacas, amarillentas y del tamaño de una pequeña cabeza de alfiler.

Suero del conejo.—En el suero líquido se desarrolla produciendo un ligero enturbiamiento con algunos grumos.

Biología.—Calentado a 42°, durante una hora, se atenúa su virulencia; la cual se conserva en los microbios que están en el pus chancroso, con tal que esté al abrigo del aire; se conserva también en los microbios que están en la orina, en el agua, en el moco viginal.

CAPITULO XVIII

Disentería epidémica

Definición.—La disentería epidémica es una enfermedad contagiosa y epidémica, producida por el Bacillus dysenteriæ. Descubierto por Chantemesse y Widal en 1888. Estudiado por Shiga, que fué quien demostró su especificidad.

Disentería espontánea.—Se presenta en el hombre, en forma epidémica. Está caracterizada por diarreas moco–sanguinolentas. El microbio se encuentra en las deposiciones sangrientas y en la mucosa intestinal; al-

gunas veces en los ganglios mesentéricos, y Rosenthal lo encontró una vez en la sangre.

Disentería experimental.—Strong y Musgrave han producido en el hombre la disentería, por la ingestión de un cultivo en caldo, virulento, de este microbio, previa la alcalización del contenido estomacal, por el bicarbonato de soda.

Haciendo ingerir los cultivos al mono, al gato recién nacido y al conejillo de Indias, se les ha producido diarreas mucosas, hiperemia del intestino y pululación del microbio.

La inyección subcutánea en el conejo, le produce fiebre, diarrea, parálisis de los miembros posteriores, hipotermia progresiva y la muerte; en el perro y el puerco recién nacidos, la inoculación subcutánea les produce una disentería típica, con deposiciones moco-sanguinolentas frecuentes, tenesmo y las lesiones intestinales de la disentería. La inoculación intravenosa y la intraperitoneal, matan rápidamente a casi todos los animales.

Autopsia.—Las lesiones se encuentran en todo el tubo digestivo, y principalmente en el colon, cuya mucosa está hinchada, hiperemiada, con sufusiones hemorrágicas, con focos pequeños de necrosis superficiales, y tapizada de gleras sanguinolentas. Los ganglios mesentéricas están aumentados de volumen.

Morfología.—Son pequeños bacilus de 1 μ a 3 μ de largo; en los cultivos hay, además de los bacillus pequeños, otros largos y otros filamentosos. Es inmóvil y no esporula.

Coloración.—Se colora bien por los colorantes ordinarios y al colorarse, toma la forma de naveta. No toma el Gram.

Cultivos.—Es aerobio facultativo. Se cultiva con facilidad. Su temperatura eugenésica es de 37°.

Caldo.—Germina en él enturbiándolo y produciendo ondas tornasoladas; después se forma un depósito y el caldo se aclara.

Gelatina.—En placas se forman colonias pequeñas, transparentes, de contornos sinuosos. En punción se presenta una línea blanca u opalina. No licúa la gelatina.

Gelosa.—Forma una banda blanca y de aspecto cremoso.

Papas.—A lo largo de la estría aparece una banda transparente, acaramelada y brillante.

Biología.—Empieza a desarrollarse a los 10°, y llega hasta 40°. Germina mejor en un medio neutro. No coagula la leche. No produce indol, ni hace fermentar los azucares. Los medios colorados con el Neutral-Roth, no experimentan cambio de color. Los cultivos pierden la vitalidad al cabo de cinco semanas.

Toxina.—Los cultivos filtrados son poco tóxicos, mientras que los cultivos con sus microbios muertos por el calor o por los vapores de cloroformo, inoculados en el peritoneo del conejo, le producen una infección mortal, con diarrea e hiperemia de la mucosa del colon.

Toxina de Conrado.—Se extrae haciendo macerar los microbios a 37°, durante dos días, en solución fisiológica; luego se decanta el líquido claro de la maceración, y se concentra al décimo de su volumen en el vacío. Inoculada al conejo o al perro en dosis de uno a diez centímetros cúbicos, les produce la muerte con los síntomas de la disentería.

Seroterapia.—El suero del hombre enfermo es aglutinante de los microbios de la disentería, con lo cual Shiga demostró la especificidad de estos gérmenes.

Shiga ha inmunizado varios animales con inyecciones de cultivos vivos; los más apropiados para la vacunación, son los animales grandes, como el caballo. El suero de caballo inmunizado es preventivo y aglutinante.

CAPITULO XIX

Disentería tropical o endémica

Definición.—La disentería tropical es una enterocolitis ulcerosa, producido por la Amœba dysenterica o la Entamœba histolítica.

Disentería endémica espontánea.—Se presenta en el hombre en las regiones tropicales, y está caracterizada por diarreas moco-sanguinolentas y fiebre. Posteriormente se presenta el abceso hepático.

Disentería endémica experimental.—Kovacz produjo en el gato una diarrea sanguinolenta, inyectándole en el recto la materia evacuada por un disentérico.

Kartulis, Krause y Pasquale han producido en los gatos las lesiones y los síntomas de la disentería, inyectándoles en el recto el pus de un absceso hepático que contenía la Amœba en cultivo puro.

La Amœba se encuentra en las diarreas disentéricas, y la Entamœba en el pus de los abscesos tropicales o en la pared del absceso.

Morfología.—La Amœba coli-dysenterica, se presenta con la forma de una célula, de 20 μ hasta 60 μ de diámetro. Su forma es redondeada o elíptica. Está constituida por núcleo y protoplasma.

El protoplasma consta de dos zonas. La externa o ectosarca es clara y trasparente. La interna o endosarca es ligeramente granulosa y amarillenta; contiene varias vacuolas contráctiles, microbios, hemátidos y el núcleo.

Presenta movimientos lentos, debidos a un solo pseudopodo. Se divide por scisciparidad, en dos u ocho partes iguales. Y al encontrarse en circunstancias desfavorables para su existencia y desarrollo, se enquista: es decir, que se envuelve en una gruesa membrana protectora. Los quistes de la Amœba dysenterica son generalmente grandes.

La Entamœeba histolítica.—Posee un ectoplasma más refringente que el de la Amœba, y tiene movimientos más rápidos. Tiene quistes menos grandes que los de la Amœba. Se multiplica por gemmación.

Diagnóstico bacteriológico. — Para descubrir las Amœbas es necesario examinar las diarreas, el pus del absceso y el jugo obtenido raspando la pared del absceso. Estos exámenes deben practicarse estando todavía calientes los productos que van a someterse al análisis microscópico.

Para verlas vivas, se toma una gota de la diarrea, o mejor, un pequeño grumo mucoso; se coloca sobre la lámina, se cubre con la laminilla y se observa al microscopio.

Se le puede fijar, añadiendo una gota de solución crómica, al uno por ciento, o de sublimado acético, o de solución de Flemming; después que están fijadas, se las colora, en el primer caso, con el carmín aluminado de Grenacher, y en el segundo caso con hematoxilina de Boehmer, o con el violeta de genciana, si el fijador usado fué la solución de Flemming.

CAPITULO XX

Paludismo

Definición.—El paludismo es una enfermedad infectiva e inoculable, generalmente febril, producida por el Plasmodium malariæ. Descubierto por Laveran en 1881.

Sinonimia.—Plasmodium vivax. Plasmodium præcox. Hæmamœba. Laverania. Halteridium.

Se ha encontrado este microbio en los enfermos de paludismo de todas partes del mundo. El señor Doc-

tor Santos A. Domínici en un trabajo completamente magistral, demostró que este mismo microbio es el agente patógeno del paludismo que hay en Venezuela. (Santos A. Domínici. Contribución al estudio del hematozoario de Laveran en Venezuela. Caracas, 1896).

Paludismo espontáneo.—Se presenta en el hombre comunmente en la forma de fiebre de accesos. Cada acceso está formado de tres períodos que son: el frío, el calor, el sudor. Los accesos pueden presentarse todos los días: fiebre quotidiana; o cada dos días: fiebre terciana; o cada tres días: fiebre cuartana. Si los accesos faltan y son reemplazados por otro fenómeno, como por ejemplo, una neuralgia, se llama fiebre larvada.

Paludismo experimental.—Se puede producir el paludismo en el hombre, inyectándole sangre palúdica en una vena. La enfermedad se presenta ocho o diez días después. El mono, el conejo, el conejillo de Indias y los demás animales de laboratorio y los domésticos son refractarios. El microbio se encuentra en la sangre.

Morfología.—El hematozoario de Laveran tiene cuatro formas, que hoy casi todos creen que son estadios del desarrollo: cuerpos esféricos; cuerpos en forma de roseta o de margarita; lúnulas o semilunas; flagellas.

Cuerpos esféricos.—Se llaman también cuerpos amiboideos. Son células de forma esférica en el estado de quietud, y de 1 μ a 6 μ de diámetro. Su protoplasma es hialino, transparente e incoloro, y aloja gránulos de pigmento negro: uno o dos gránulos en los muy pequeños; en los más grandes una mayor cantidad, y en este caso están dispuestos en forma de corona en el interior del protoplasma, o aglomerados irregularmente.

Tienen un núcleo excéntrico, de muy difícil coloración, y rico en cromatina. Presentan movimientos amiboideos. Se encuentran en el interior de los glóbulos rojos, en número de uno, dos, tres o cuatro; y otras veces están libres en el plasma sanguíneo.

Las rosetas, margaritas o cuerpos segmentados.—Son elementos redondeados, y de aspecto muriforme, por lo cual, vistos al corte óptico del microscopio, se presentan con un borde ondulado, y segmentado todo su espesor. El pigmento se reune en el centro de la margarita. Más tarde los segmentos se separan unos de otros, y toman una forma redondeada.

Lúnulas o semilunas.—Son elementos alargados, con extremidades más delgadas que el cuerpo, y encorvados para tomar la forma de media luna. Tienen 8 μ a 9 μ de largo, y 2 μ a 3 μ de ancho. Algunas veces una línea fina une los dos extremos de la semiluna. Poseen un núcleo cuya cromatina tiene la forma de bastoncillos, de filamentos o de gránulos. Están unas veces adheridos a los glóbulos rojos, y otras veces están sueltos en el plasma sanguíneo.

Las flagellas.—Son filamentos de 15 μ a 20 μ de largo, trasparentes y muy finos. Tienen en una de las extremidades un abultamiento piriforme. Contienen gránulos de cromatina. Unas veces están sueltos en el plasma sanguíneo, y otras veces están unidos a un cuerpo esférico. Presentan movimientos rápidos que agitan los glóbulos rojos.

Evolución.—El hematozoario tiene dos maneras de multiplicarse: una asexual, llamada Schizogonía, que se verifica en la sangre del hombre; otra sexual, llamada Esporogonia, que tiene lugar en el interior del cuerpo de los mosquitos del género Anófeles.

Schizogonia.—La infección producida por la picada del mosquito consiste en la inoculación en la sangre, de unos elementos alargados, que van en la saliva del insecto, llamados Esporozoitos. Los esporozoitos al entrar en la sangre, pierden su forma y toman la forma redondeada; se introducen en los glóbulos rojos, en donde se transforman en Schizontes. Los schizontes son los cuerpos esféricos de Laveran.

En el interior del glóbulo, el schizonte crece y forma comunmente el pigmento. Una vez llegado al máximo grado del desarrollo, entra en multiplicación,

dividiéndose primero el núcleo en varios núcleos, que se sitúan excéntricamente; después se divide el protoplasma, por planos de segmentación, que parten de la periferia. El pigmento entre tanto se acumula en el centro. En este estado el schizonte forma las rosetas o margaritas de Laveran.

Poco después los elementos formados por esta división del schizonte se separan unos de otros y flotan en el plasma sanguíneo. Estos elementos se llaman Merozoítos.

Los merozoítos penetran en el glóbulo rojo, como lo hicieron los esporozoítos, y como ellos, engendran los schizontes, los cuales crecen y se dividen para reengendrar merozoítos.

Este ciclo evolutivo se repite muchas veces, y por fin aparecen las semilunas de Laverán, que son los gámetas. Se cree que los gámetas derivan de los merozoítos provenientes de una larga serie de reproducciones schizogónicas. No existen en el plasma circulante; se forman al salir la sangre de los vasos, o en el tubo digestivo del mosquito. Son estériles para el hombre. Solo pueden evolucionar en el interior del insecto. La forma de estas semilunas puede cambiarse en una forma oval o esférica, en el mismo plasma sanguíneo.

Esporogonia.—El mosquito al picar al enfermo, absorbe junto con la sangre, los gámetas; los cuales al penetrar en el estómago del insecto toman la forma redondeada. Los otros elementos que puede haber en la sangre, como los schizontes y los merozoítos, se destruyen inmediatamente, por la acción de los jugos digestivos del insecto.

Gámetas.—Los gámetas son de dos clases: los macrogámetas y los microgametocitos. Los macrogámetas son elementos redondeados, con un núcleo central, formado por una masa irregular de cromatina; son los elementos hembras.

Los microgametocitos se cree que derivan también de los gámetas; son de forma esférica. De su superficie salen generalmente cuatro flagellas, y entonces cons-

tituyen los cuerpos flagellados de Laveran. Luego las flagellas se separan del cuerpo esférico central, quedan en libertad en el medio ambiente, y vienen a ser los microgámetas, que son los elementos machos.

La parte esférica central del microgametocito, después que se han desprendido los microgámetas, se disgrega y desaparece.

Fecundación.—Una vez que han sido producidos tanto los macrogámetas, como los microgámetas, sobreviene la fecundación. Se produce por la penetración de un solo microgámeta en el interior del macrogámeta, seguida de la fusión de los núcleos y de los protoplasmas, los cuales después de fundidos vienen a ser el núcleo y protoplasma de un nuevo elemento, llamado el cuerpo fecundo o Zígota. La fecundación, y consiguiente formación del zígota, se verifica en el tubo digestivo del mosquito.

El zígota, que es originalmente un elemento esférico con un núcleo central, más tarde toma una forma alargada, y penetra entre las células epiteliales de la mucosa estomacal del mosquito, hasta llegar a la capa muscular. En esta capa se enquista; es decir, que se envuelve en una membrana muy gruesa y transparente. El zígota enquistado se llama el Ooquiste.

El ooquiste empieza luego a dividirse, comenzando por el núcleo, el cual se segmenta en un gran número de pequeños núcleos; estos se sitúan hacia la periferia; en seguida se divide el protoplasma, de suerte que al terminarse la división se encuentran en el interior de la cápsula numerosos elementos de forma esférica y compuestos de núcleo y protoplasma. Estos elementos se llaman Esporozoítos.

Los esporozoítos, primitivamente esféricos, toman después una forma alargada; más tarde sobreviene la ruptura de la cápsula del ooquiste, y los esporozoítos caen libres en la cavidad general del insecto. La circulación los lleva del abdomen al tórax y a la cabeza de éste, en donde invaden las glándulas salivares y la saliva del Anófeles, el cual al picar al hombre sano, le

inocula en la sangre, junto con la saliva, los esporozoítos, que evolucionan allí por schizogonia.

Esta evolución se produce en el Anopheles claviger, en el Anopheles bifurcatus, en el Anopheles superpictus y en el Anopheles pseudo-pictus; en ellos fué estudiada por Grassi, Bastianelli y Bignami, aunque el primero que trató de estudiar el desarrollo del hematozoario en el cuerpo de los mosquitos, fué Ross.

Distintas especies del parásito.—Los autores italianos admiten tres clases de hematozoarios: el hematozoario de la fiebre estivo-autumnal: Plasmodium precox; el de la terciana benigna: Plasmodium vivax; el de la cuartana: Plasmodium malariæ.

La fiebre estivo-autumnal comprende la quotidiana, las perniciosas y la terciana maligna. Su hematozoario está caracterizado por su tamaño, que en el mismo instante del desarrollo es menor que el de la terciana benigna; con más frecuencia presenta en el interior del glóbulo, en lugar de la forma esférica, una forma anular o discoidea, cuyos contornos son más pronunciados que los del parásito de la terciana benigna. Presenta movimientos amiboideos muy vivos. Los gránulos de pigmento que contiene son finísimos, están hacia la periferia y rara vez son móviles. Tanto los elementos que están en vía de multiplicación, como los merozoitos son muy pequeños. La segmentación es irregular, dando de 7 a 20 merozoítos. Su ciclo evolutivo dura 24 horas o más.

La terciana benigna es producida por el Plasmodium vivax, el cual evoluciona en dos días. Tiene durante el estadio endoglobular movimientos amiboideos bien manifiestos. Sus schizontes son más grandes que los glóbulos rojos. Se divide en 15 ó 20 merozoítos. No tiene gámetas en forma de semiluna.

El Plasmodium malariæ de la cuartana, evoluciona en tres días. Sus elementos endoglobulares presentan poca movilidad. Sus gránulos de pigmento son gruesos. Sus schizontes son más pequeños que un glóbulo rojo. Al dividirse da de seis a doce merozoítos.

Examen de la sangre.—Puede hacerse sin coloración, con la sangre fresca; o con la sangre desecada, y colorada la preparación. Los microbios se encuentran en la sangre periférica poco tiempo antes de los accesos o en el principio de ellos. También en algunos caquécticos se encuentran aún en el intervalo de los accesos. En los demás casos, los microbios, en los intervalos de los accesos, desaparecen de la sangre periférica, y se refugian en los órganos centrales, principalmente en el bazo, sobre todo si el malárico ha estado sometido a la quinina.

Sangre fresca.—Se la obtiene punzando la pulpa del dedo aseptisado; se limpia la primera gota de sangre que sale; se recogen las que siguen en láminas porta-objetos, que se cubren en seguida con la laminilla, ejerciendo sobre ella una ligera presión, para extender la sangre, y se llevan luego al microscopio.

Sangre desecada.—Se punza el dedo o el lóbulo de la oreja, previa la asepsia acostumbrada; se limpia la primera gota de sangre; la segunda se coloca en la extremidad de una lámina, que se sostiene con la mano izquierda, mientras que con otra lámina, que se tiene en la mano derecha, se extiende la sangre sobre la primera paseándola de un extremo al otro, según el método de Borrel. Se deja desecar, y se fija sumergiéndola durante media hora en el alcohol-éter.

Coloración.—Hay muchos métodos de coloración. Los métodos siguientes son los más recomendables, porque permiten reconocer fácilmente el hematozoario.

Método del azul de Löffler.—Se depositan unas gotas de este colorante sobre la cara de la lámina untada con la sangre ya fijada, y se deja colorar durante media hora; si la coloración es demasiado intensa, se descolora ligeramente con alcohol absoluto. Los glóbulos rojos quedan teñidos de verde claro; los núcleos de los leucocitos lo están de azul, y los hematozoarios están con todo el protoplasma teñido de azul.

Método de Laverán.—Se colora con esta mezcla: azul de Borrel, 1 c. c.; solución acuosa de eosina al

uno por ciento, 5 c. c.; agua destilada, 4 c. c. Debe obrar cinco o diez minutos. Los hemátidos se coloran de rosa; los núcleos de los leucocitos de violeta; los hematozoarios tienen el núcleo rojo-violeta y el protoplasma azul.

Método de Giemsa.—Se colora durante diez minutos con la mezcla siguiente: solución acuosa de eosina al uno por mil, 2 c. c.; agua destilada, 8 c. c.; solución acuosa de azur II, al uno por ciento, 1 c. c. Los elementos se coloran como en el método anterior.

Método de Romanowsky.—Después de extendida la sangre, y fijada con el alcohol-éter, se colora durante dos horas, a lo menos, con la siguiente mezcla, que se prepara inmediatamente antes de usarse: se agrega a una solución acuosa de azul de metileno, una solución acuosa de eosina al uno por ciento, hasta que empiece a formarse un precipitado insoluble que da al líquido un matiz violeta. Generalmente comienza a formarse el precipitado, cuando la mezcla está a una parte del azul, para dos de la eosina; otras veces no empieza sino a las tres partes de azul, para cinco de eosina.

En el momento de formarse el precipitado, se produce un color neutro, que tiene gran afinidad por la cromatina nuclear del hematozoario. Los glóbulos rojos se tiñen de color de rosa; los núcleos de los glóbulos blancos, de color violeta oscuro; el protoplasma de los leucocitos eosinófilos de rojo; el de los neutrófilos de violeta; el de los basófilos de azul; los hematoblastos de color de rosa violado; el protoplasma de los hematozoarios de azul intenso y la cromatina nuclear de rojo vivo.

Este método de coloración es el más excelente de todos, aunque exige bastante práctica. Se necesitan además colores de primera clase, como el Methylenblau medic. puriss. de Höchst; el Methylenblau rectificat. de Grübler; la eosina A. G. y B. A. de Höchst.

CAPITULO XXI

Enfermedad del sueño

Definición.—La enfermedad del sueño es una enfermedad endémica, específica e inoculable, producida por el Trypanosoma hominis. Descubierto por Castellani en esta enfermedad y por Dutton en la enfermedad de Dutton.

Los tripanosomas son muy numerosos, y producen enfermedades en los animales, generalmente. Entre nosotros, los tripanosomas son la causa de la Peste boba y de la Desrengadera de los equídeos, según lo ha demostrado por primera vez en un trabajo muy interesante el señor Br. R. Rangel.—(Nota preliminar sobre la Peste boba y la Desrengadera de los equídeos de los Llanos de Venezuela).

Enfermedad del sueño espontánea.—Se presenta en el hombre, y parece especial a la raza negra, aunque se han visto casos en mulatos, en moros y tal vez en europeos. Está caracterizada por un estupor y somnolencia, acompañada de crisis convulsivas y de accesos febriles. Este estado se prolonga durante algún tiempo, hasta que al fin sobreviene el coma y la muerte.

Enfermedad del sueño experimental.—Inoculado el mono en el canal raquídeo con el producto de centrifugación de 10 c. c. de líquido céfalo-raquídeo con tripanosomas, al cabo de una incubación que dura de 10 hasta 45 días, contrae la enfermedad del sueño, que termina por la muerte.

Al perro le produce una enfermedad ligera la inoculación. En la rata, la cabra, el conejo y otros animales, el parásito no produce ninguna enfermedad, aunque se desarrolla bien en la sangre de ellos.

Morfología.—Es un elemento fusiforme con un protoplasma que tiene una vacuola y un núcleo; tiene

un flagellum en su parte posterior, y también una membrana ondulante. Está animado de movimientos muy vivos. Se multiplica por división.

El microbio se encuentra siempre en el líquido céfalo–ráquideo, y frecuentemente en la sangre. Para encontrarlo en el líquido céfalo–raquídeo, es necesario centrifugarlo y examinar el depósito.

Trasmisión.—Se cree que esta enfermedad se trasmite por las moscas; por la Glossina palpalis, mosca tsetsé, o por la Glossina morsitans.

Coloración.—Se colora por los mismos métodos empleados para el hematozoario de Laveran, principalmente por el de Romanowsky.

FIN

INDICE

INDICE

PÁGINAS

PRÓLOGO V

PRIMERA PARTE

BACTERIOLOGÍA GENERAL

TRATADO PRIMERO

BACTERIOLOGÍA TEÓRICA GENERAL

Capítulo I.—Definición.—División.—Resumen histórico 7
Capítulo II.—Reino a que pertenecen los microbios.—Familias en que se clasifican 8
Capítulo III.—De los microbios vegetales.—Denominación.—Morfología.—Tamaño... 10
Capítulo IV.—Estructura de los microbios 13
Capítulo V.—Actividades Fisiológicas. 18
Capítulo VI.—Clasificación de los microbios..... 30
Capítulo VII.—Microbios zimógenos..... 31
Capítulo VIII.—Microbios saprógenos 37
Capítulo IX.—Microbios patógenos..... 39

PÁGINAS

Capítulo X.—Microbios cromógenos.. 47
Capítulo XI. —Microbios fotógenos..... 49
Capítulo XII.—Resistencia de los microbios a los agentes físicos..... 50
Capítulo XIII.—Acción de los agentes químicos sobre los microbios..... 53
Capítulo XIV.—Microbios del aire, del agua y del suelo 54
Capítulo XV.— Los microbios del organismo sano.. 57
Capítulo XVI.—Microbios animales.—Los Protozoarios. 58

TRATADO SEGUNDO

TÉCNICA BACTERIOLÓGICA GENERAL

Capítulo I.—Técnica de las preparaciones microscópicas..... 63
Capítulo II.—Técnica del cultivo de los aerobios... 71
Capítulo III. —Método para efectuar la siembra de los microbios 79
Capítulo IV.— Técnica del cultivo de los anaerobios 84
Capítulo V.—Técnica de la experimentación en los animales..... 90
Capítulo VI.—Del microscopio y sus accesorios.... 99

SGUNDA PARTE

BACTERIOLOGÍA ESPECIAL

ENFERMEDADES COMUNES AL HOMBRE Y A LOS ANIMALES.—ENFERMEDADES PROPIAS AL HOMBRE

Capítulo I.—Pústula Maligna..... 101
Capítulo II.—Tuberculosis 106
Capítulo III.—Estafilococcias..... 115

PÁGINAS

Capítulo IV.—Estreptococcias 118
Capítulo V.—Tétanos..... 122
Capítulo VI.—Muermo..... 129
Capítulo VII.—Septicemia gangrenosa de Pasteur.. 131
Capítulo VIII.—Difteria 134
Capítulo IX.—Fiebre tifoidea 140
Capítulo X.—Colibacilosis. 147
Capítulo XI.—Cólera asiático 150
Capítulo XII.—Lepra..... 155
Capítulo XIII.—Pneumonía 157
Pneumo-bacillus de Friedlaender... 161
Capítulo XIV.—Gonorrea 162
Capítulo XV.—La Grippe..... 165
Capítulo XVI.—Peste bubónica... 167
Capítulo XVII.—Chancro blando..... 171
Capítulo XVIII.—Disentería epidémica. 172
Capítulo XIX.—Disentería tropical o endémica.... 175
Capítulo XX.—Paludismo..... 176
Capítulo XXI.—Enfermedad del sueño..... 184