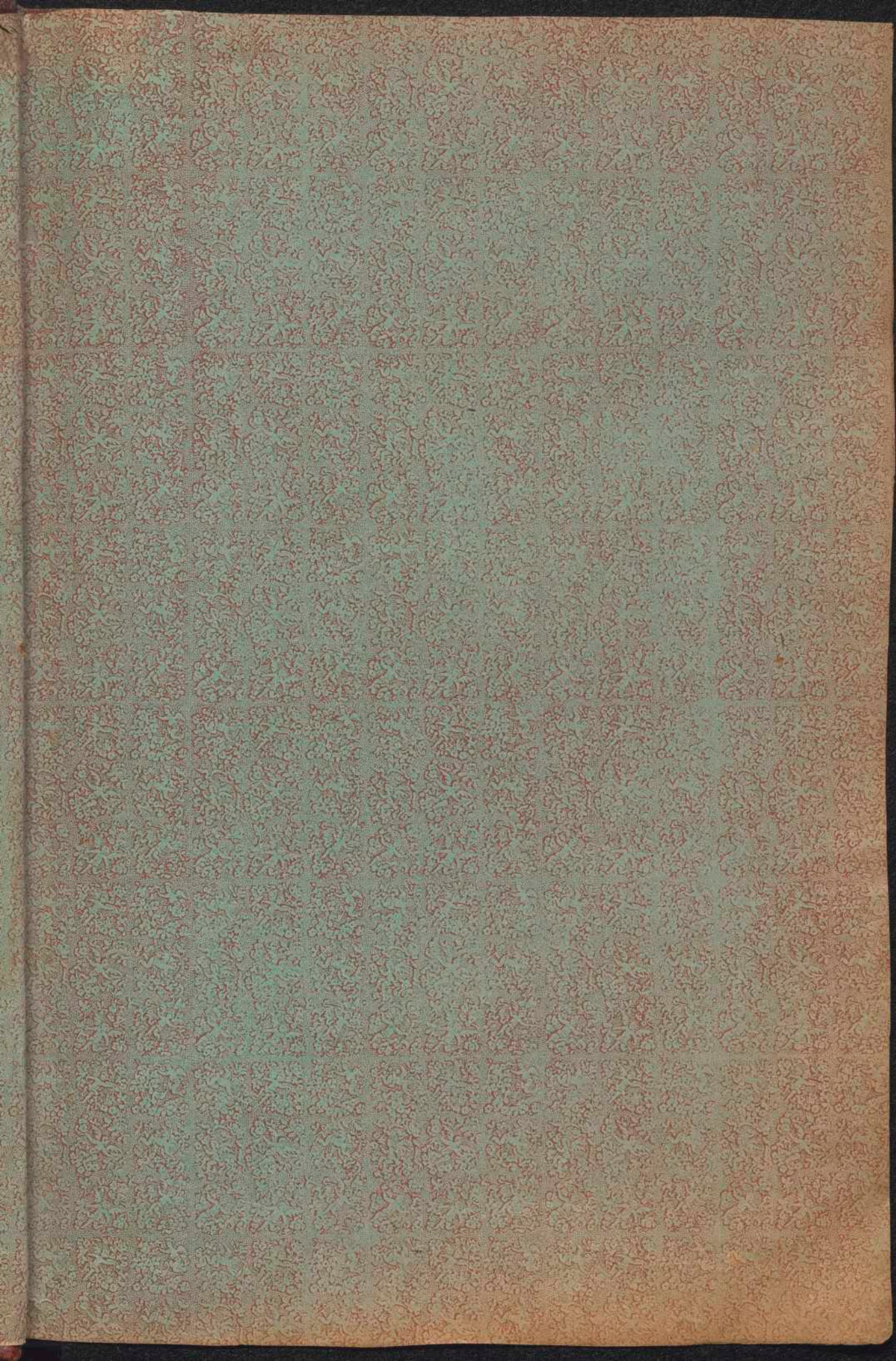
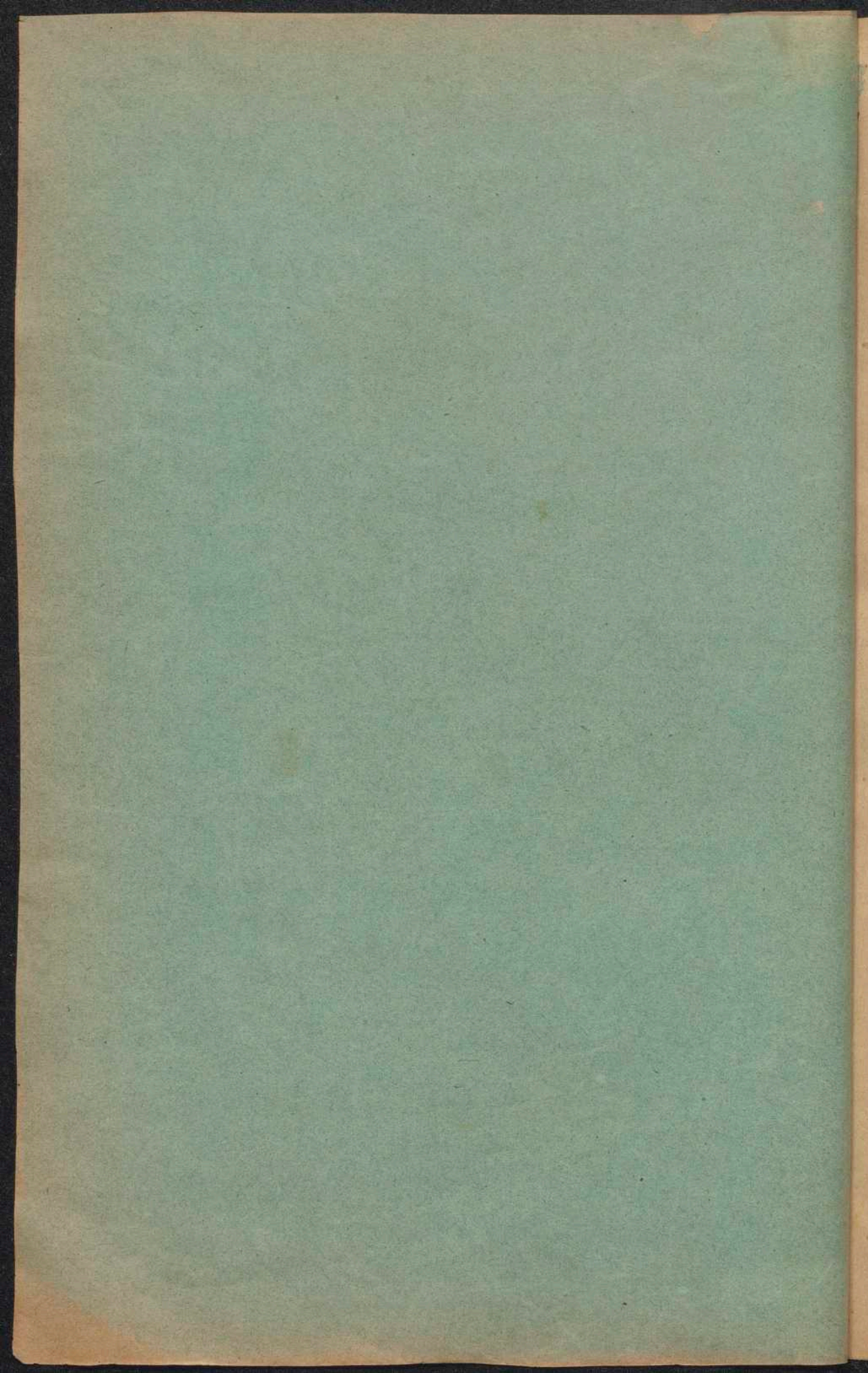


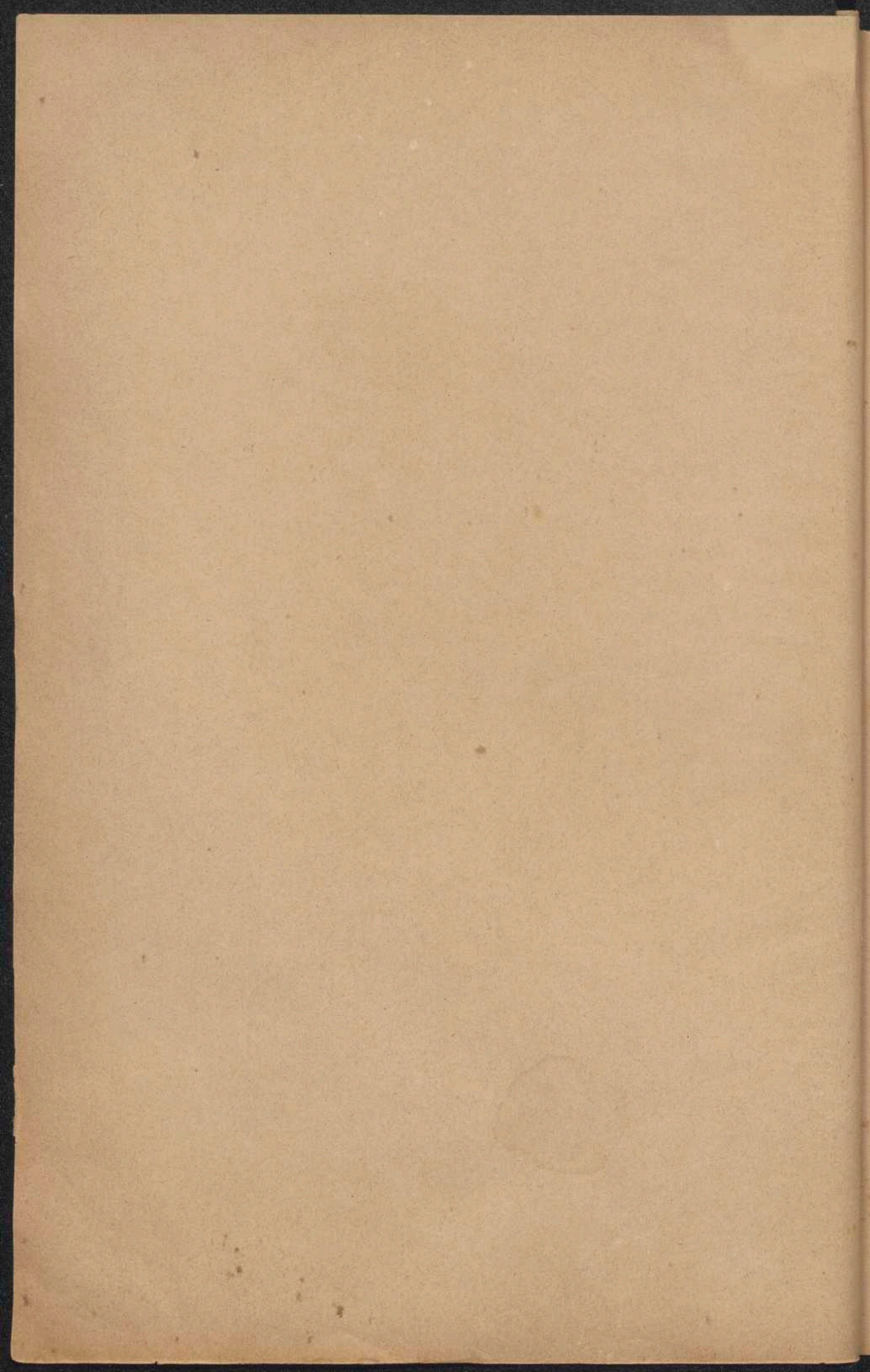


F.M. 11.8.2.0





S-377



AM/2015

APUNTES
DE
BACTERIOLOGÍA

PARA USO DE LOS
ALUMNOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

POR
SILVERIO DOMINGUEZ

Médico ayudante del
Laboratorio Bacteriológico de la Asistencia Pública y ayudante de
la clase de Anatomía Patológica en la facultad de
Ciencias Médicas de Buenos Aires.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES



ARCHIVO DE LA BIBLIOTECA

BUENOS AIRES

Editor: ALBERTO NUÑEZ

1887

Reg. 12873

R. 343

Est. Tip. de Alberto Nuñez—Piedad 173

OFICINA DE ESTADÍSTICA



SECRETARÍA DE ECONOMÍA

DOS PALABRAS

Los apuntes de bacteriología que hoy publico, son el resumen de los conocimientos que se tienen hasta este momento acerca de tan interesante materia. Son la condensación de los pacientes estudios de los sabios, y el sumario de los trabajos efectuados en el laboratorio de la Asistencia Pública.

Faltaría a un deber de estricta justicia, sino declarara que los oportunos consejos de mi querido y sabio amigo el Dr. Telémaco Susini, discípulo entusiasta de Koch, me han resuelto muchas dudas y evitado tal vez falsas apreciaciones: ayuda importante que me complazco en hacer pública como testimonio de gratitud.

Estos ligeros apuntes van destinados principalmente para los estudiantes de anatomía patológica, a quienes creo sinceramente, ahorro la lectura de gruesos volúmenes más o menos completos, satisfaciendo así sus reiteradas

instancias, á las que gustoso accedo toda vez que lleno un vacio en nuestra literatura médica.

Ciencia nueva la bacteriología, que desde la llegada del Dr. Susini se enseña en el laboratorio de la asistencia, ha despertado la atencion del público médico que busca con avidéz los tratados especiales donde estudiar la *buena nueva*; tratados incompletos la mayor parte y plagados de inexactitudes y conceptos erróneos que inducen con fusion, en quien desea claridad y concision.

Creo llenar el vacio con la publicacion de estos apuntes, desprevistos de galas y ornato literario, innecesarios al tratarse de cuestiones científicas, tanto mas áridas cuanto mas concreto es el asunto, ateniéndome esclusivamente á la ciencia y huyendo de escoger frases elegantes, y giros retóricos, propios solamente de obras literarias.

Quedarán colmadas mis aspiraciones si este trabajo viene á reportarles algun bien á los estudiantes.

APUNTES DE BACTERIOLOGÍA

PARA USO DE LOS

ALUMNOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

INTRODUCCION

La ciencia moderna, con la teoría parasitaria ha entrado en su verdadera faz, encaminando los estudios médicos por la senda cierta de la experimentacion, rica en hechos positivos, y en deducciones irrefutables, al tratarse de la terapéutica y de la profilaxia. Nada de mas cierto que atribuir al bacterio la causa de la enfermedad; que sea, su sola presencia por lesiones en el tegido en que se le instala, ó sea una intoxicacion por absorberse las reacciones que su presencia origina, ó sean las mismas secreciones de él, lo que causen la enfermedad, cuestiones son estas de vital interés para la medicina, á las que no podemos ménos de prestarle toda nuestra atencion, pues de estos trascendentales estudios depende el porvenir de las ciencias médicas.

Dejémonos de manías sistemadas, de todo punto inaceptables cuando la ciencia camina á pasos agigantados, no puede haber propiamente clínica sin el conocimiento de lo infinitamente pequeño, de la bacteriología. Los *clínicos prácticos* no tendrán de tales más que el nombre, sino aceptan las conquistas de la bacteriología, pues en esta ciencia nueva, están condensados las múltiples y variadas causas que antes tan ridículamente eran comentadas para querer explicarse la causa de las enfermedades.

El conocimiento del cólera y su profilaxia solamente se debe á los estudios bacteriológicos, lo mismo que la preservacion de los animales para el carbunco y su estudio tan completo, así como de otras varias enfermedades; y estas conquistas demuestran con evidencia la necesidad de la bacteriología, por á su sola aparicion en el dominio de la ciencia, ya empieza atesorando preciosos hechos y trascendentales conquistas con los que necesariamente tenemos que familiarizarnos.

Prescindamos de los *escrúpulos prácticos* que aseguran ser la presencia de las bacterias una simple complicacion, que no son ni los vectores ni el elemento contagioso, y cuando más conceden que la teoria microbiana es hasta ahora una simple hipótesis.

Si establecemos una ligera comparacion entre las variadas hipótesis que tratan de explicar la causa de las enfermedades, nos convenceremos una vez más, que la teoria microbiana es cierta, clara y sobre todo científica

apoyada como está en hechos demostrativos tan evidentes como irrefutables.

El célebre blastema de Robin, escedente de la sustancia nutritiva, será la causa de las enfermedades debido á alteraciones químicas ó fisiológicas, alteraciones que sobrevienen en la cantidad y naturaleza de los principios inmediatos, de la sustancia de los tejidos y de los humores.

La multiplicacion de los vegetales microscopicos es nada más que un epifenómeno, pero no la causa determinante.

La teoría de los médicos ingleses, con Bastian, es casi idéntica á la de Robin pues consideran como epifenómenos la presencia de microfitos en la sangre, pues las alteraciones de los líquidos se efectúan antes de constatarse la presencia de los micro organismos.

La teoría de los bioplastas ó elementos figurados que se derivan de la materia viva constituyen la causa contagiosa de toda enfermedad infecciosa: así que cada especie de bioplasma manifiesta su accion específica determinando tal ó cual enfermedad.

Los microsimas patrocinados por Béchamp no son blastemas líquidos que se modifican con las enfermedades, sino blastema organizado y sólido, constituido por granulaciones elementales que pueden observarse con el microscópio en las células y en todos los líquidos del organismo: estas granulaciones ó microsimas, segregan un líquido *zymase*, que se trasforma luego en micrococcus

ó bacterios, así que una perversión en el funcionamiento de los microsimas produce las enfermedades infecciosas.

Después de la muerte los microsimas convertidos en bacterios dan lugar á los fenómenos de la putrefacción, y así explican el mecanismo productivo en que para nada actúan los agentes exteriores; así que la cura Listeriana y la de oclusión es inútil para ellos; bastará con recordar que los cadáveres puestos al abrigo de los gérmenes del aire se momifican sin sufrir los fenómenos de la putrefacción como se ha visto en la cripta de Burdeos, y en otros varios subterráneos donde la temperatura es uniforme, la sequedad absoluta y la falta de corriente aérea por consiguiente.

La teoría de los *Ptomainas* emitida por Gautier y Selmi, manifiesta la acción de los virus no organizados. Las ptomainas ó sean alcalóides tóxicos puramente químicos, producen las alteraciones en los tejidos y en los líquidos de la economía, sin intervención de los microbios, Nenchi fué el primero que llamó la atención sobre las ptomainas y Panum quien consiguió aislar el primer veneno putrefacto.

La teoría parasitaria ó microbiana ha venido á echar por tierra los virus; los efluvios y las acciones catalíticas, demostrando los gérmenes y sus esporos, y viniendo á esclarecer los puntos misteriosos de la patología: esta teoría nos ha producido la cura de las heridas por oclusión, la cura Listeriana, y las vacunaciones de Pasteur, tres

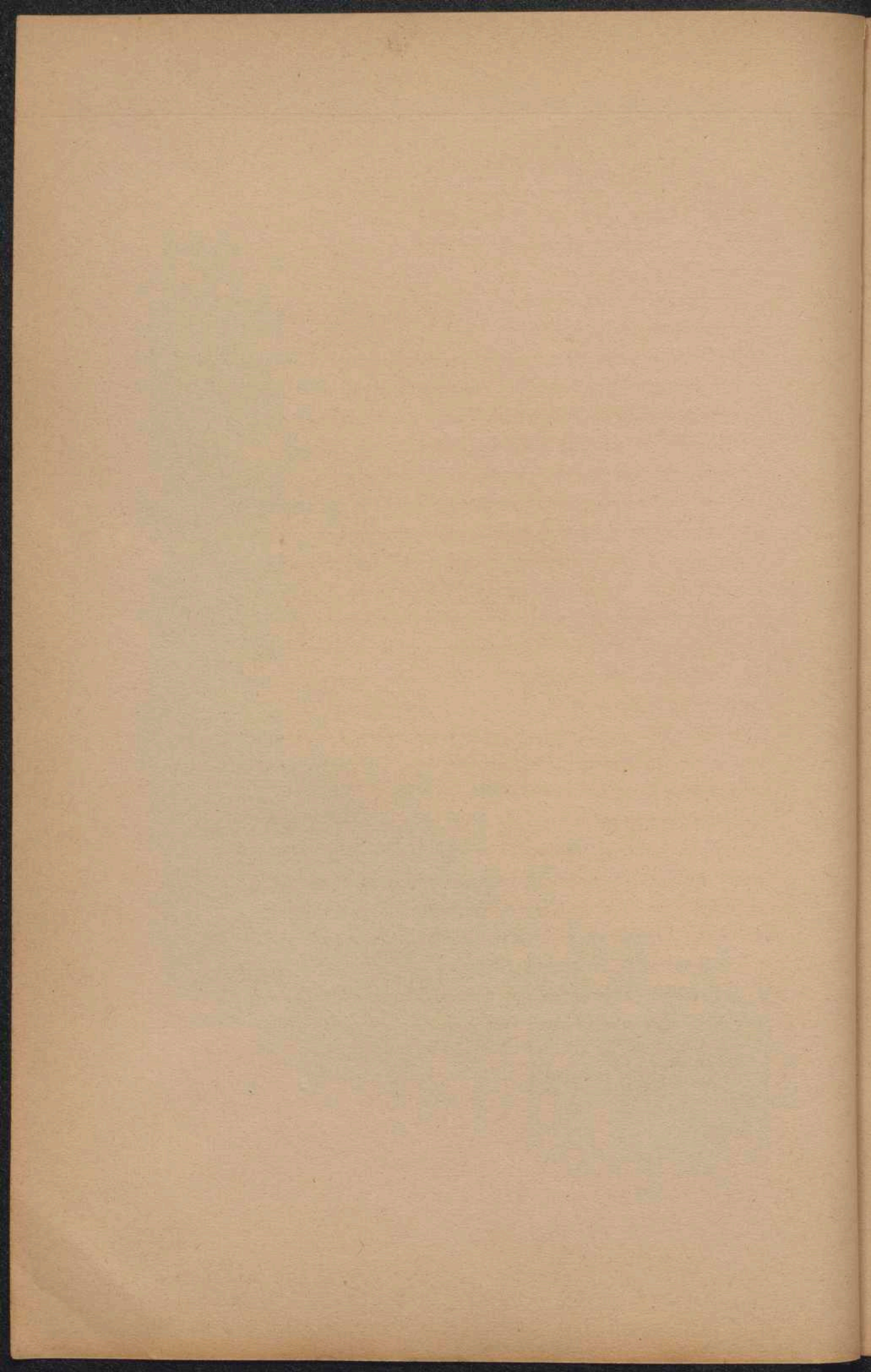
conquistas principales que bastan para probar la importancia positiva de la doctrina.

Los importantes puntos de la teoria microbiana descansan en estas condiciones.

Para que una enfermedad sea parasitaria es necesario encontrar constantemente el microbio en el individuo enfermo, ó muerto por la enfermedad de que se trate; este microbio cultivado artificialmente y transportado de cultura en cultura con todas las precauciones indispensables, al introducirse en el cuerpo de un animal sano, debe producir la enfermedad de que procede con sus síntomas y sus lesiones carateristicas. Y, por último, debe encontrarse en este animal el microbio primitivo en gran cantidad. En el estado actual de la ciencia, tenemos muchas enfermedades que han llenado cumplidamente estas condiciones, y en el laboratorio de la Asistencia Publica, hemos comprobado con el sábio Dr. Susini, mi siempre querido amigo, algunas enfermedades como carbúncó, pulmonia, edema maligno y otras varias, que no han dejado duda alguna á este respecto.

Los nombres de Koch y Pasteur pasarán á la posteridad rodeados de gloria, por haber disipado las demás brumas que oscurecian las verdades de la ciencia médica, cimentando su porvenir con el estudio de gérmenes, causa de todas las enfermedades infecciosas; y quién sabe si de algunas no reputadas como tales.

Esperemos, y mientras tanto tratemos de investigar la causa de las enfermedades estudiando las bacterias.



CAPITULO I.

SUMARIO

Qué son las bacterias: Lugar que ocupan entre los vegetales—¿Existen especies definidas?—Hay constancia en su forma?—Las bacterias pueden pasar por diversas formas pero siempre tienen una evolución determinada—La forma no constituye su carácter distintivo—Division en cocos bacilos y espirilos—Subdivision de estos—Modos de multiplicación por escisión, por endosporos, y artrosporos.—Propiedades de las bacterias—Su modo de nutrición—Respiración intermolecular—Cambios con el medio nutritivo—Fermentaciones—Clasificación.

Las bacterias son pequeños organismos formados de una sola célula estremadamente pequeña, siendo sus diámetros comprendidos entre un diez milímetro de milímetro y algunos milímetros de milímetro, que se multiplican por división y que están compuestos de una especie de protoplasma, y revestidos de una membrana de celulosa y de microproteína.

Las bacterias ocupan la última escala del reino vegetal donde se encuentran los hongos y las algas en el grupo

de los tallofitos: las algas y las bacterias no se diferencian sino en la presencia de la clorofila en las primeras y su ausencia en los segundos, por consiguiente son vecinas de la familia de los oscilarios.

Las bacterias debieron aparecer entre los primeros vegetales, por habérselos encontrado en la corteza de los coníferos carbonizados, en la época geológica del carbón.

Las bacterias se introducen en el organismo por la respiración y por el tubo digestivo: penetran en las vías aéreas con el aire donde están en suspensión, y en el canal intestinal por medio de los alimentos y bebidas: sin embargo, algunas especies vienen en diferentes partes del tubo digestivo y hay quien piensa que las funciones de nutrición serían imposibles sin su concurso.

Las bacterias presentan especies perfectamente definidas tanto en su forma, como en el modo de desarrollo, lo mismo que en los medios donde actúan, así puede establecerse una especie diferente entre un hongo y un bacterio patógeno por los efectos que produce, por su evolución y por la forma que adopta.

No hay constancia en su forma porque existen infinitas variaciones tanto más notables cuanto varían las condiciones de su nutrición, pudiendo presentarse en forma de cocos, de bastones ó filamentos, sucesivamente como por ejemplo en el *bacterium aceti*, que presentándose en forma de coco, que se alarga, se convierte en bastoncillo, hasta terminar en filamento. Si observamos un lep-

tothris por ejemplo en buen estado de nutrición, solamente vemos al microscopio el filamento que lo constituye, pero si le tratamos por los ácidos, aparecen los cocos, y tanto más, si lo cultivamos en agua ó en un medio nutritivo muy pobre: así que las bacterias presentan dimensiones muy diferentes que no tienen gran valor, existiendo en ellos un cierto poliformismo; así vemos ciertas bacterias transformarse en granulaciones que semejan microbios redondeados, pero estas granulaciones ni son inoculables ni están vivas, son lo que se dice formas de involución originadas por el medio nutritivo.

La evolución de las bacterias es característica, fija, cada bacteria se diferencia por esta condición, no por su forma, pues así como vemos por ejemplo los virgulas en la saliva normal, perfectamente iguales á los descritos por Koch como característicos del cólera asiático, transportados en colonias de gelatina ó en su cultivo en ella, difieren totalmente, lo que constituye el carácter distintivo y siempre fijo.

Las bacterias pueden dividirse en cocos, bacilos y espirilos. Los cócos son organismos esféricos ó ligeramente ovalados, pequeñas células globulares que se dividen transversalmente para formar cadenas, aglomeraciones ó zogleas.

Los más pequeños cocos, se denominan micrococos, los más gruesos megacócos, y macrococos, cocos lanceolados.

Los bacilos son células alargadas de dimensiones va-

riadas entre la múltiple célula alargada, y el bastón: llamándose los más cortos bacilos: los cuales adoptan formas en extremo diversas y dimensiones variadas; así mientras unos son rectos, otros aparecen encorvados; y unos en extremo delgados contrastan con otros gruesos: los bordes unos los presentan lisos, y otros cortados á pico, otros redondeados, y así sucesivamente encontramos las más extrañas modalidades, que no tienen gran importancia de por sí, pues solamente su modo de evolucionar es característico y permite distinguirlos diferencialmente.

Los espirilos son los organismos arrollados en forma de tirabuzón ó espiral más ó ménos acentuada: cuando las espirales son poco pronunciadas, se denominan vibriones; si son muy finos y apenas indicada la corvadura se les llama espiroguetes.

Si los filamentos ondulados tienen la forma de bandas aplanadas se les denominan espiromonades; si tienen dispuestas las flemosidades de manera que representen la forma de husos se les conoce con el nombre de espirulinas.

El medio de reproducción se efectúa en la mayor parte de las variedades por esporos, que cuando éstos se forman en la célula se llaman endosporos, y artrosporos cuando una parte entera se destaca trasformándose en espora.

Los esporos tienen, una membrana lisa y resistente constituyendo organismos durables sumamente resistentes.

tes y susceptibles de germinar después de trascurrido largo tiempo de su formación, si se encuentran en condiciones convenientes. Los esporos se forman en la célula ocupando un espacio muy limitado por lo general, y en otras circunstancias son más voluminosos que las células mismas. Si la célula que ha dado nacimiento a un espora muere, su protoplasma se convierte gelatinoso y envuelve por completo al espora: estos son por lo general muy pequeños. Durante su germinación pierden su refringencia, su membrana se rompe en un punto por el cual deja pasar la estremidad de un bastón, que no tarda en quedar en libertad.

Los esporos resisten altas temperaturas.

La nutrición de las bacterias está ligada con el medio en que actúan, con la temperatura, y con la presencia ó ausencia de oxígeno. Los medios mas convenientes para la nutrición y desarrollo de los pequeños organismos, son las infusiones vegetales y los caldos, aunque también puedan desarrollarse y operar fermentaciones.

El agua es necesaria en los líquidos de cultura, y los ácidos en general son dañosos aún cuando los ácidos orgánicos como el láctico el acético y el tártrico, no sean tanto como los ácidos minerales. Las bases no impiden su desarrollo, y en los hongos cuya estructura es más compleja, no solamente los ácidos no son perjudiciales sino que por el contrario su presencia fovorece el desarrollo, como observamos en las fermentaciones.

Los movimientos bruscos que se impriman á los

bacterios son desfavorables como lo ha demostrado Horvath.

La temperatura tiene una grande influencia sobre las bacterias, que la mayor parte se desorrollan entre los 48 y 40 grados, que varia segun las especies. El desarrollo se detiene á la temperatura de 6 á 2 bajo cero sin que mueran, para lo que necesitarían descender de esta cifra. Hay bacterias que precisan como la de la tuberculosis para desarrollarse una temperatura aproximada á la que tiene el cuerpo de los mamíferos; otros como el neumococos le basta la temperatura de la habitacion solamente, y á otros les basta una bien inferior, como el de la fiebre recurrente.

La sequedad mata á las bacterias, pero nó á los esporos, así como una temperatura de 400 grados, ó la exposicion por algunas horas entre 50 ó 60 las mata precisando los esporos más altas temperaturas.

Las bacterias se nutren de una manera especial, pues produciendo su presencia una mayor ó menor fermentacion, esta fermentacion no es más que una especie de respiracion intramolecular: la reaccion química consiguiendo desarrolla calor, lo que favorece su evolucion, y como ha dicho Robin las fermentaciones bacterianas son actos quimicos nutritivos.

Los cambios que se operan en las bacterias con el medio nutritivo son notables tanto en su forma, como en sus propiedades activas: adquieren aspectos de formas, y trasformaciones que constituyen las formas de involucion

haciendo creer en especies nuevas, que no son exactas; se colorean mal y su mayor ó menor virulencia depende del medio nutritivo.

Entendemos por fermentacion, la trasformacion quimica que se opera bajo las influencia de pequeños seres organizados privados de clorofila, que se desarrollan y viven en el interior del liquido que fermenta.

En la fermentacion alcohólica, la produccion del alcohol cuando llega á un 17 por 100 del liquido, modera la fermentacion oponiendose al desarrollo de las bacterias, porque estas han fabricado su veneno. Si se quita el alcohol á medida que se produce, la fermentacion será por consiguiente más rápida.

Si el vino asi fabricado se tiene en depósitos bien cerrados, no habrá mas fermentacion; pero, si se le espone al aire, se cubre la superficie de una capa de *mycoderna vini*, bacteria que trasforma el alcohol en agua y ácido carbónico; el *mycoderna aceti* se desarrolla en las mismas condiciones.

Los modos de fermentacion están ligados á los fenómenos de nutricion y desarrollo de las bacterias, como en la fermentacion butírica debida al *bacillus amylabacter*; la fermentacion amoniacal causada por el *micrococcus uree*, la fermentacion láctica por el *micrococcus lacticus* y otros varios.

Como resultados de diversas fermentaciones, tenemos la putrefaccion; siendo lo importante el conocer la fermentacion de las materias azoadas, donde se encuentran numerosos cocos y el *bacterium termo*.

Clasificación de las bacterias

18

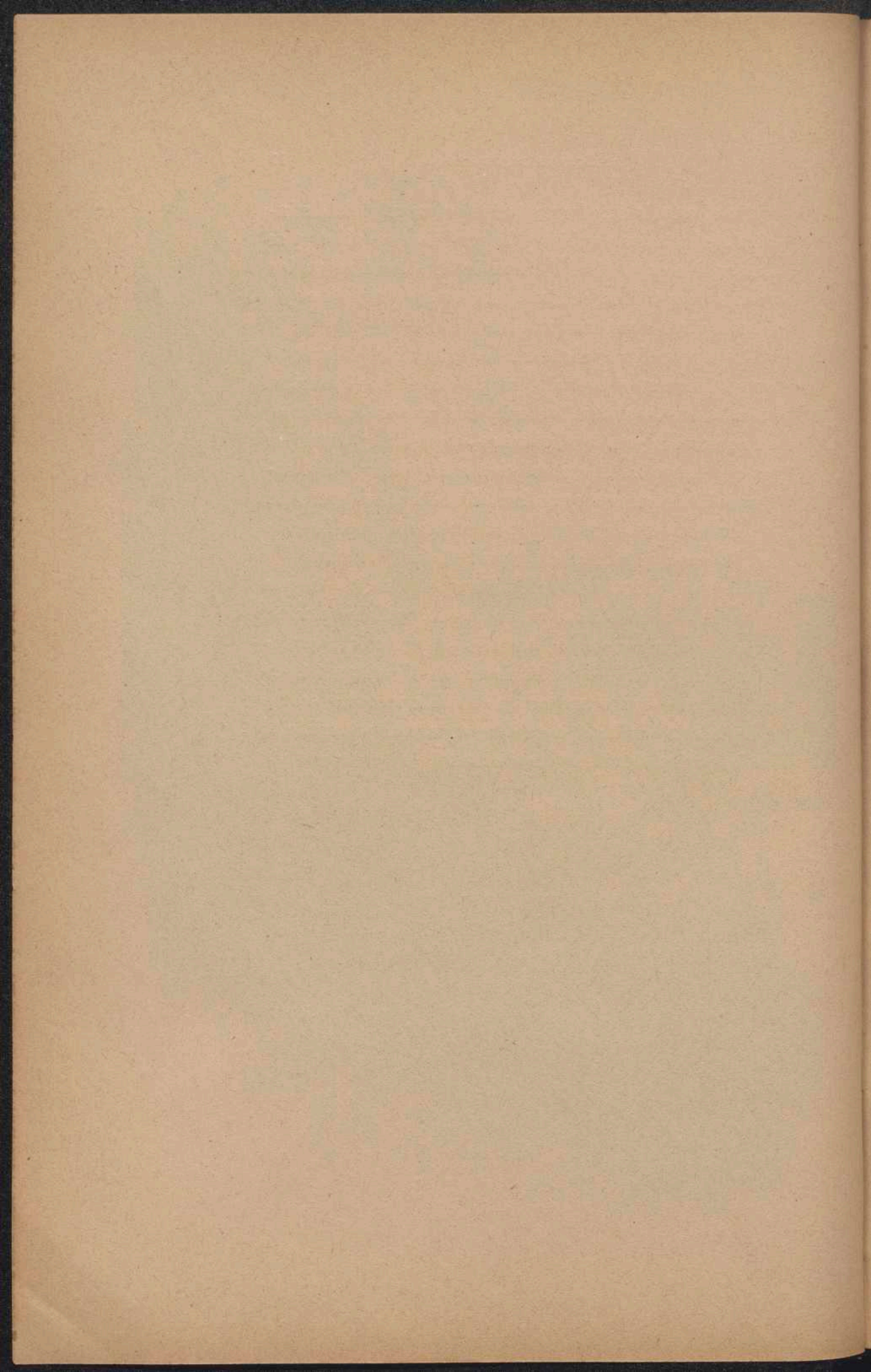
APUNTES DE BACTERIOLOGÍA

Forma de cocos	{	Dispuestos en cadenas...	{ Zooglea mediana.....	Esposos endógenos	ESTREPTOCOCCUS?
			{ Estreptococcus.....	Artrosporos ó esporos descono-	
				cidos	ARTRO-ESTREPTOCOCCUS
			{ Zooglea muy fuerte.....		LEUCONOSCOCO
Forma de cocos	{	Dispuestos en cuatro....	{ Con pequeña cadenas		MERISTA
			{ Sin cadenas.....		SARCINA
		Dispuestos en ocho.....			
		Montones irregulares ...	{ Zooglea indeterminada		MICROCOCUS
			{ Zooglea articulada en esferas.....		ASCOCOCCUS
Bastones	{	Hilos pequeños ó largos, sin oposicion de base á vertice, hilos flexibles ó rígidos.....	{ Hilos rectos ú ondulados sin esporos endógenos	ARTROBACTERIUM	
			{ Hilos rectos ú ondulados, en forma espiral sin esporos endógenos	ESPIRULINA	
			{ Hilos rectos ú ondulados, esporos endógenos.....	{ Sin cambio de la célula	BACILUS
				{ Con cambio de la célula, bastones fusiformes.....	CLOSTRIDIUM
Bastones	{	Hilos con oposicion de base á vértice.....	{ Hilos sin vaina.....	{ Sin depósito de azufre	LEPTOTHRIX
				{ Con dep. granulacion de azufre.....	BEGGIATOX
			{ Hilos con vaina.....	{ Sin bifurcacion.....	CRENOTHRIX
				{ Bifurcado.....	CLADOTHRIX
Bastones espirales	{	Hilos en espiral flexibles ó rígidos].....	{ Formacion de artrosporos ó fructificacion desconocida.....		SPIROCHETA
			{ Esporos endógenos	{ Con cambio de forma.....	VIBRIO
				{ Sin cambio de forma	SPIRILLUM

En el estudio de la fermentacion se encontró la distincion de bacterias aerobias y anaerobias que viven y se desarrollan en el aire, ó fuera de él; además, segun los modos de nutricion, se distinguen los que precisen organismos vivos ó materias muertas.

Para proceder á practicar una clasificacion natural, lo más importante debe ser la fructificacion de las bacterias, y dados nuestros actuales conocimientos sobre este punto, haríamos dos grandes divisiones ó grupos, y entrarian en el primero las de esporulacion endógena, y en el segundo las de artro esporulacion ó fructificacion descocida, teniendo sin embargo muy en cuenta que la fructificacion es desconocida para la mayor parte de las bacterias.

La clasificacion más sencilla nos ha parecido la que las agrupa en tres divisiones, cócos, bastones y espirales, en cuyas agrupaciones caben todas sin producir la confusion consiguiente á las minuciosas clasificaciones, tanto más difusas cuanto mayor sea su subdivision: por eso he adoptado la clasificacion que he espuesto, preferible á todas por su sencillez y concision.



CAPITULO II

SUMARIO

Generacion espontánea—Varias teorías—Esterilizacion—Aparato á vapor de Koch—Estufa seca—Sustancias químicas—Esporos y bacterias bajo el punto de vista de la esterilizacion—Relacion de las bacterias con las enfermedades—Son la causa y no su efecto—Condiciones para que una bacteria sea considerada como causa de una enfermedad.

Desde la más remota antigüedad, se encuentran en leyendas la idea de la generacion espontánea, que tanto declamaron los poetas latinos y griegos. Se creía que, por ejemplo, los insectos y los vermes eran producto de la fermentacion del cenago y de la arena, es decir una generacion sin parientes semejantes ó individuos productores: generacion del acaso que surgia misteriosamente de la union de productos desemejantes.

Hoy día se sabe que los animales no pueden ser producidos sino por animales semejantes; y, restaba dilucidar la cuestion acerca de algunos elementos anatómicos, y de los organismos de las fermentaciones.

Los estudios de Pasteur y los adelantos de la Bacteriología han dilucidado satisfactoriamente la cuestión, probando irrefutablemente que toda célula es proveniente de otra célula, que todo organismo debe su origen á otro igual; que las generaciones espontáneas surgidas en ciertas condiciones antes inexplicables, no tienen ahora razón de ser, despues de haber estudiado la esporulacion y con ella la escala de los pequeños seres que solo el microscopio descubre á nuestra vista.

Los gérmenes de los microorganismos suspendidos en el aire, han dado la clave para hacer una série de experimentos tan decisivos que han terminado para siempre con la generacion espontánea. El sabio químico Pasteur ha demostrado que si se destruyen ó se evita la entrada de los gérmenes en un caldo nutritivo, éste queda completamente puro, es decir, esteril; en el caldo no podrá haber generacion alguna.

Si se toma un balón que contenga agua, azucar y sustancias albuminoides provenientes de la levadura de cerveza, poniendo el cuello del balón en comunicacion con un tubo de platino calentado al rojo, y por él se hace penetrar el aire durante algunos minutos, y haciendo luego hervir el liquido cerrando enseguida el cuello con la lámpara, si se mantiene luego el liquido así preparado en una estufa á la temperatura de 40 grados, se observará que no habrá desarrollo de microorganismos; y lo mismo sucede cuando esterilizado el liquido convenientemente se hace penetrar el aire á través de un largo tapón de algodón.

Así que el estudio de los microorganismos, y sobre todo los del aire, ha resuelto la cuestión de la generación espontánea.

Antigua era la idea que ha llegado hasta nosotros de que el organismo encerraba los gérmenes de las enfermedades infecciosas, que dadas condiciones especiales se desarrollaban produciendo tal ó cual enfermedad: así se consideraban al tifus y fiebre tifoidea como venenos humanos, á la tuberculosis, como resultado de la miseria fisiológica engendrada por malas condiciones higiénicas, por fatigas ó privaciones: ideas que han sido sostenidas por muchos hombres de ciencia y entre ellos por Chauffard, y Bouchardat, que creían en la espontaneidad de la tuberculosis.

Indudablemente que confundían de un modo lastimoso la causa de la enfermedad con las predisposiciones á que se hallan espuestos los individuos para recibir y fecundar los gérmenes, y ahora podemos con verdad científica sustituir las enfermedades infecciosas por el de parasitarias ó microbianas, que les cuadra mejor por su etiología.

Esterilizacion

Entendemos por esterilizacion, el acto por el cual destruyendo los microorganismos y sus gérmenes dejamos al objeto puro de todo agente extraño. La esterilizacion es indispensable en bacteriología, pues de este modo pode-

mos obtener culturas puras al abrigo de organismos extraños que interrumpan su evolucion, bien robándoles los medios nutritivos, ó matándolos en él: todos los medios que nos rodean están impregnados de pequeños seres ó gérmenes, desde el aire, agua, utensilios, manos, etc., que es necesario destruir para cultivar un organismo dado y apreciar su evolucion y particularidades. De aquí han surgido varias cuestiones importantes que han hecho estudiar debidamente las propiedades de resistencia de los gérmenes; las bacterias pueden destruirse á una temperatura por ejemplo de 80 grados, y sometemos un liquido de cultura á esta misma temperatura con el objeto de matar los organismos que contenga, y sin embargo si nos damos por satisfechos á los dos ó tres dias el liquido de cultura está sembrado de colonias, y esto no depende que las bacterias hayan quedado con vida, sino que los gérmenes ó esporos que resisten aquella temperatura han evolucionado convirtiéndose en bacterias á los que nuevamente es preciso destruir antes que formen colonias y de aquí que sea necesario ó semeter el liquido varios dias á la temperatura de 80, para que vaya matando los organismos recien germinados, ó elevar mucho la temperatura para destruir de una vez los esporos.

El Doctor Koch ha ideado dos aparatos de esterilizacion: uno, por medio del vapor de agua, que es el aparato esterelizador á vapor; y, el otro, la estufa seca por medio del aire caliente: el esterelizador á vapor consiste senci-

llamente en un gran recipiente de zinc ú hoja de lata en forma de grueso tubo revestido con franela ú otro género análogo que impide la irradiación del calórico; en su parte inferior presenta un espacio conveniente para colocar los picos ó mecheros de gas que actúen para elevar la temperatura, encima vá el depósito de agua como una tercera parte del aparato, despues el espacio vacío donde se adapta el canasto de alambre que debe contener los objetos ó líquidos á quienes tiene que influenciar el vapor; y, la parte superior ó tapadera, provista de un termómetro que marque la temperatura, y un ganchito para colgar el canasto. Por esta esterilizadora se hacen pasar todos los cultivos á una temperatura de 100 grados, por espacio de tres cuartos á una hora.

La estufa seca tiene por objeto proporcionar un aire caliente de 150 grados ó más, dentro de la cual se esterilizan todos los instrumentos metálicos y de vidrio por tres horas. La estufa seca está compuesta de una caja de hierro provista de su puerta por donde se introducen los objetos á esterilizarse, de estantes agujereados también de hierro donde descansan, y de un termómetro adaptado á la pared superior para medir la temperatura.

La caja suspendida en una pared, recibe por su fondo ó pared inferior la llama de cuatro ó seis bugías de gas ó alcohol hasta el grado deseado.

Para la esterilización, podemos disponer de sustancias químicas que, como la temperatura elevada, destruyen las

bacterias, y que son las llamadas desinfectantes que representan tan decisivo papel en la higiene.

Así como una pequeña alcalinidad favorece el desarrollo de las bacterias, los medios ácidos ó detienen su desarrollo ó los matan, siendo excepciones, las bacterias que escapan á esta regla; en particular, los ácidos minerales son destructores de las bacterias.

El ácido fénico en solución al 50 mata en 24 horas los esporos del carbón, lo que no sucede con la solución al 5 por ciento. Los vapores del ácido fénico á la temperatura ordinaria no tienen acción, y si solo á la de 55 grados, que mata el espora en dos ó tres horas. El sublimado corrosivo es el agente que tiene más poder para matar los microorganismos. Una solución al uno por tres mil impide el desarrollo de los esporos. Otra, al uno por veinte mil, los mata en 10 minutos. El medio más seguro de esterilización con esta sustancia es la solución al uno por mil que usamos en el laboratorio.

El ácido sulfuroso mata los micrococos y los bacilos aunque estén adheridos á objetos secos, como muebles etc., si se tiene por media hora en una atmósfera de esta sustancia al uno por ciento, pero no mata los esporos.

El bromo, el cloro y el yodo tienen una acción más enérgica. La solución del yodo al uno por cinco mil impide el desarrollo de los microorganismos, lo mismo que la de bromo al uno por mil quinientos. Los vapores del bromo matan los esporos en veinte y cuatro horas, y los del cloro en 48.

El ácido benzoico, el benzoato de soda, y la quinina tienen poca acción contra los esporos.

Los ácidos concentrados y los aceites esenciales impiden el desarrollo de las bacterias.

Las soluciones acuosas son las verdaderamente parasiticas, pues en el alcohol se mantienen por muchos meses los esporos sin perder su virulencia, y lo mismo en la glicerina.

Existen otras sustancias químicas que obran más ó menos contra las bacterias: tales como el cloruro de cal, la esencia de mostaza, el ácido salicílico, el timol, el borax y la esencia de eucalipto.

Para que la esterilización sea perfecta, se precisa que sean destruidos no solamente las bacterias sino sus gérmenes; las bacterias, la mayor parte, mueren á una temperatura de sesenta á setenta grados en el vapor de agua y á cien con seguridad si se les sostiene por tres cuartos de hora ó una hora; pero, como los esporos son más resistentes y toleran una temperatura de 120 á 150, es necesario ó esperar el desarrollo de los esporos é irlos esterminando á los 100 grados por tres días sucesivos, ó elevar la temperatura á 150, en cuyo caso se habrán destruido todos los gérmenes habiéndose conseguido la esterilización.

En el aire caliente, con una temperatura de 100 grados durante una hora, mueran todas las bacterias, y los esporos á una de 140 durante tres horas.

En el agua hirviendo tardan los esporos dos horas

para morir, mientras en el vapor de agua solamente diez minutos. Por eso el vapor de agua para penetrar en los objetos es más preferible que el aire caliente, y por lo tanto, más segura la esterilización que obtengamos con aquél.

Procedemos en el laboratorio de esta manera para la esterilización: con una solución de bicloruro al uno por mil, nos lavamos las manos, en otra solución al diez por ciento de ácido fénico esterilizamos las placas de vidrio, las minillas, etc., las placas de vidrio para culturas en gelatina; los tubos y frascos, los sometemos en la estufa seca por tres horas a una temperatura de 150 grados más ó menos, y los demás objetos y cultivos en la estufa de Koch por medio del vapor de agua a 100 grados.

Los productos organizados, animales, sometidos a examen los hacemos hervir, para su perfecta esterilización.

Bacterias y enfermedades

Existe necesariamente una relación de las bacterias con las enfermedades, tanto más cierta cuanto que las bacterias son las productoras de la enfermedad y de ninguna manera el efecto, sino la causa originaria, la causa específica y determinante.

Si observamos las propiedades patogénicas de las bacterias, encontramos la verdad de esta afirmación.

Existen bacterias que sin poseer la facultad de penetrar y esparcirse en los tejidos vivientes, pueden hacerlo en las partes muertas, principalmente en la superficie de las heridas, ó en el contenido del intestino enfermo, y producir sustancias venenosas que si se absorben en cantidad suficiente infectan el organismo. Estas bacterias solamente son nocivas de una manera secundaria; pero tenemos un grupo más numeroso de bacterias propiamente patógenas que se introducen en los tejidos vivos y allí se reproducen ocasionando las enfermedades infecciosas, bien penetrando por la superficie de los soluciosos de continuidad ó tegumento externo, ó por otras vías.

Ciertamente que es necesario que las bacterias encuentren un terreno preparado para su desarrollo dónde multiplicarse, pues muchas veces son impotentes para ello en un terreno inapropiado ó sea en un organismo normal sin alteracion de sus propiedades fisico-químicas.

Las bacterias patógenas tienen una accion local y otra general, variando la espresion clinica segun se difunda en los tejidos circunvecinos y vasos linfáticos, ó penetre en el torrente circulatorio para invadir tejidos lejanos ú ocasionar la obturacion de los capilares produciendo la necrosis.

Asi, pues, de cualquiera manera que sea, son precisas dos condiciones para que una bacteria dé origen á la enfermedad: que el microorganismo tenga la propiedad patógena, y que exista una predisposicion, sea local ó general, para darle alojamiento y condiciones de desarrollo,

pero importa saber de qué manera obran las bacterias para producir tal ó cual enfermedad infecciosa.

Debemos creer que las bacterias introducidas en nuestro organismo deben obrar como los parásitos de un orden superior, como por ejemplo los vermes intestinales, que toman sus medios de nutrición en el que se encuentran y por lo tanto se desarrollan á sus espensas; y, esto, debe ser hasta cierto punto exacto, si nos fijamos en un caso de carbon, en que circulando en la sangre y robando el oxígeno que precisan para su nutrición á los glóbulos rojos, producen con tal motivo la asfixia y la muerte, sin que hayan casi tenido tiempo las bacterias de desarrollarse.

En otros casos, puede explicarse por la acción de las ptomainas.

Los trabajos de experimentación, prueban irrecusablemente que las bacterias son la causa de las enfermedades infecciosas, y lo será en cualquiera otra en que se comprueben las cuatro condiciones indispensables que forman el cánón bacteriológico, y establecidas por Koch.

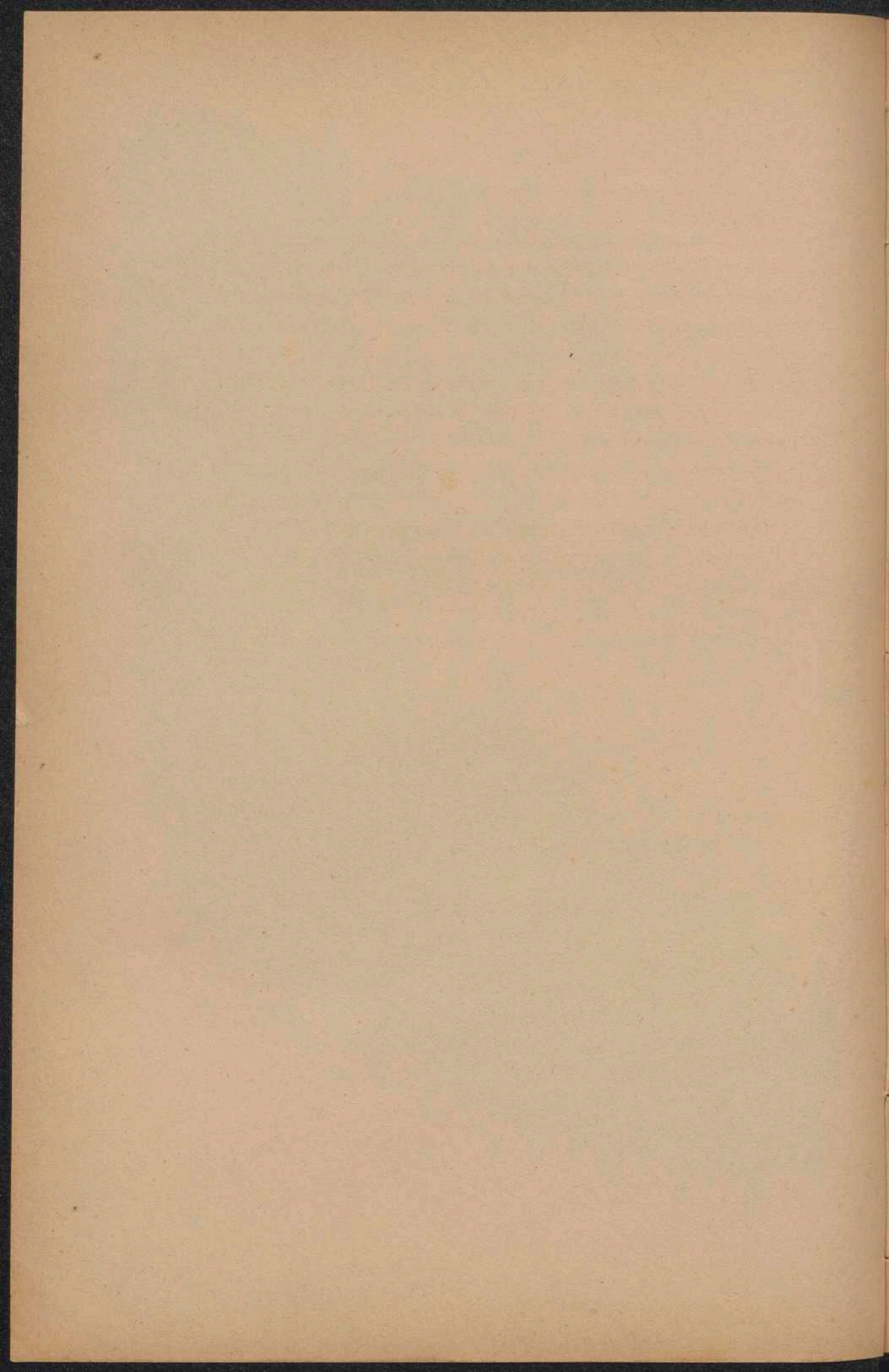
1º El microbio debe encontrarse ya sea en la sangre ó en los tejidos ó secreciones del hombre ó animal enfermo, ó muerto por la enfermedad.

2º Este microbio, tomado en este medio y cultivado artificialmente fuera del cuerpo del hombre o del animal, debe trasportarse de cultura en cultura durante varias generaciones, de manera que se obtenga el microbio específico puro.

3º El microbio así purificado por las culturas sucesivas, si se introduce en el cuerpo de un animal sano y sujeto á la enfermedad, debe reproducir en el animal la enfermedad en cuestion con sus síntomas y lesiones características.

4º Debe constatarse en el animal muerto, así inoculado, la presencia del microbio en cuestion, multiplicado en número superior á los de la inoculación.

Llenándose estas cuatro condiciones con una bacteria cualquiera, podemos afirmar que la causa de la enfermedad es bacteriana, y que aquel microorganismo era productor de la enfermedad, y de ninguna manera el efecto.



CAPÍTULO III

SUMARIO

Medios para determinar la presencia de las bacterias.—Microscopio-bacteriológico.—Modo de examinar las bacterias.—Sin coloracion.—Con coloracion.—Teoria de la coloreacion.—Diversos tintes.—Coloracion en la laminilla.—Coloreacion simple y doble.—Coloreaciones especiales.—Método general de Graham.—Micró-tomo.—Córtes.—Modo de preparar los tejidos.—Líquidos diversos.—Método de inclusion.

Los medios de que nos podemos valer con seguridad para determinar la presencia de las bacterias, son las diversas coloraciones de los líquidos ó tejidos, y la práctica del microscopio.

Las coloreaciones bien se hagan sobre fresco ó en preparados desecados, nos pondrán de manifiesto la presencia de los microorganismos pudiéndolos apreciar en sus más mínimos detalles si nos servimos de microscopios especiales llamados bacteriológicos, y de micrótomos que en delicados cortes, nos permiten hacer la coloracion de los tejidos donde apreciaremos las bacterias

ya aislados ya aglomeradas tal cual hayan invadido el tejido que sometemos á nuestro exámen.

Microscopio

El microscopio bacteriológico, debe estar provisto imprescindiblemente del aparato de iluminacion de Abbé y tener lentes de inmersión homogénea, á más de las lentes ordinarias.

En un preparado microscópico de un tegido que contenga microbios coloreados, la imagen está compuesta no solamente de los organismos y células, sinó de otros elementos del tegido, los cuales no poseen el poder refringente del medio en que se hallan colocados; y, esto, es debido á la difusión de los rayos luminosos al atravesar los medios dotados de desigual poder de refringencia, manifestándose por líneas y sombras que constituyen la imagen microscópica. y esto produce que pasen inadvertidos los microorganismos, ó en caso de verse no puedan apreciarse sus particularidades como fuera de desear, y este inconveniente no se salva con poner un diafragma ancho que permita mayor iluminacion; se precisaría un aparato condensador de la luz de corta distancia focal, obteniéndose un entero cono luminoso que va á iluminar el objeto, y tanto mayor sera el ángulo de abertura cuanto mayor sea la cantidad de luz que

atraviase el preparado, y, por consecuencia, los fenómenos de refraccion y las sombras de los elementos, disminuyen haciéndose, por lo tanto, más visibles.

El condesador de Abbé da un cono de iluminacion con un ángulo de abertura de 60° que equivale á una abertura de 120° .

El microscopio leacteriológico debe tener como aconseja Koch, una lámina metálica á la cual se adaptan varios diafragmas graduados en milímetros para así obtener la graduacion necesaria de luz.

Para hacer más intensa la iluminacion, nos podemos servir del condensador á inversion homogénea, indispensable para el estudio de las bacterias y tiene por objeto iluminar los efectos de la refraccion haciendo más clara la imágen, y aumentando con la lente de inmersión el poder amplificante.

El líquido mejor para la inmersión homogénea, es el aceite etéreo de cedro, aún cuando se pueden emplear el de olivas y el de ricino, como también una mezcla de glicerina y solución de yoduro zin: que se emplean según convenga al medio de refraccion.

En el laboratorio empleamos los microscópios de Reichert con lentes de inmersión 1.15 y 1.20 con condensador de Abbé; y podemos obtener un aumento de de 2500 á 3000 diámetros, aún cuando empleamos generalmente un aumento de 900 á 1000.

Los microscopios de Zeiss con lentes de inmersión, son también excelentes, pues, para los exámenes bacterio-

lógicos, se precisan fuertes aumentos de quinientos diámetros lineales, por lo ménos, sirviendo para esto la D ó la E de Zeiss, ó la 4.42 ó 4.46 de Povval y Lealand á immersion homogénea.

Examen

Para examinar las bacterias, se deben observar escrupulosamente todas las reglas de desinfeccion, esterilizando los objetos que nos vayamos á servir por medio del calor.

Las bacterias se examinan en los líquidos ó en los tejidos. En los líquidos al estado fresco, ó seco; al estado fresco se llevan al microscopio sin coloreacion ó con ella. Cuando las observamos sin coloreacion previa, debemos proceder á poner una gota del líquido á examinarse sobre el porta objeto y cubrirlo con una laminilla si la observacion es de corta duracion; pero, si deseamos hacer un examen largo y detenido, nos serviremos de porta-objetos escabados en el centro donde corresponde la gota de líquido, recubriéndolo con la laminilla que contiene el líquido y cerrándola ó nó con glicerina vaselina ó bálsamo de Canadá; si el líquido es denso en cultivo convendrá tomar una pequeñísima parte y diluirla ó en caldo esterilizado ó agua destilada y mejor la filtrada por filtro Chamberlan desprovista de bacterias.

Con este examen apreciaremos la movilidad de las bacterias, que no confundiremos con el movimiento browniano que no es tan vivo como aquél, y que un ojo ejercitado no puede confundir. Así mismo podemos seguir su evolucion, pero este examen es insuficiente porque las bacterias por la rapidez de sus movimientos, por la falta de coloracion y por su débil poder refringente pueden escapar á la observacion más atenta. Si se trata de tejidos, usaremos ciertos reactivos químicos que disociando ó haciendo transparentes los elementos, no ataquen á los microorganismos; estos son los ácidos y los álcalis, lo mismo que el cloroformo y el éter. Generalmente se usa el ácido acético concentrado en solucion al 50 por ciento, ó una tenue solucion de soda ó potasa, al medio ó uno por ciento. Con el corte del tejido sobre el portaobjeto, se le pone una ó dos gotas observándolo en seguida con el microscopio ;este examen, como se puede comprender, no es suficiente y debemos recurrir al procedimiento de coloreacion.

Coloreacion.

El Dr. Koch, ha dado á conocer su método que es el que seguimos en el laboratorio, y que consiste en estender el líquido sobre laminillas, fijarlas á la lámpara, tratarlas con la sustancia colorante, y ablandarlas con el agua para observarlas en el microscopio y siendo mejor fotografiarlas para obtener con toda fidelidad la imágen.

El estudio de la presencia de las bacterias descansaba, antes de Koch, en la propiedad que éstas tienen de resistir á la accion de los álcalis, de los ácidos, mejor que los elementos de los tejidos; pues, mientras éstos son destruidos en el preparado, las bacterias quedan inalterables con la coloreacion que les hayamos impreso, pero no constituye un procedimiento seguro de la presencia de los microorganismos, por cuanto hay granulaciones que se alteran con los ácidos y los álcalis, lo mismo que algunas bacterias sumamente finas y delicadas. Así que la coloreacion está basada en la afinidad que tienen las bacterias con los colores de anilina. El método de la coloreacion es indispensable para determinar la presencia de las bacterias y estudiarlas debidamente, pero todavía no sabemos el mecanismo microquímico del acto de la coloreacion, sinó solamente que algunas sustancias colorantes tienen la propiedad de teñir los tejidos uniformemente en todas sus partes, y otras que por una *accion electiva* solo se fijan en unos elementos dejando otros sin colorear, por la mayor ó menor afinidad que tengan entre sí.

La coloreacion se opera en unos casos por *accion difusa* cuando la sustancia colorante es compuesta de un ácido y una base incolora; y en otros la sustancia colorante es la base y el ácido incoloro, y este último tiene la propiedad de localizarse en el núcleo celular constituyendo la *coloreacion nuclear*, que es la que generalmente se opera para las bacterias aún cuando unas ten-

gan predileccion por uno ú otro modo de colorearse, conservando siempre el poder de tincion aún en los reactivos decolorantes.

Los colores de anilina son los más usados en bacteriología, porque más ó ménos intensamente colorean todos los elementos de los tejidos con los que tienen afinidad.

Los colores de anilina son ácidos ó básicos, siendo los últimos los generalmente empleados, aún cuando, como sucede con la eosina que es ácida la empleamos para obtener la coloreacion doble; tiñendo el fondo, y dejando á las bacterias con la coloreacion que antes hayan tomado.

Colorean de *Rosa*, — la fuschina, magdala, eosina y magenta.

VIOLETA. — Genciana—Violeta de metylo—La dalia y la orceina, usada para la coloracion doble.

VERDE. — El verde de metylo—Verde de anilina—Crisoidina.

AZUL. —Azul de metileno, de poco poder colorante.

OSCURO. —La vesuvina.—El oscuro de Bismarck y el de anilina, que son los que tienen más poder de coloreacion.

Con los colores de anilina se hacen varias especies de soluciones.

SOLUCION ACUOSA — Se prepara disolviendo la anilina en agua destilada, en cantidad conveniente para que resulte una mezcla casi trasparente, se filtra y se

coloca en un vidrio de reloj para hacer la coloreacion que es la mas rápida y segura de todas; estas soluciones deben hacerse frescas, cada vez que haya necesidad de emplearlas.

SOLUCION ALCOHÓLICA. — Se hace saturando el alcohol con la sustancia colorante, 20 por 100; y, mejor mezclando la anilina y deluyéndola con el alcohol en una probeta hasta que la varilla que empleamos para disolver no se vea por transparencia. De esta solucion se mezclarán dos ó tres gotas para un vidrio de reloj lleno de agua destilada.

Las soluciones concentradas, dan una coloracion más difusa porque no obran tan lentamente.

CARMIN. — Sirve para las coloreaciones dobles por su poca afinidad con las bacterias, así, que un preparado teñido con un color de anilina y enseguida con carmin, los medios celulares serán coloreados de rojo y los microbios con el color que hayan recibido (violeta de genciana, lo mejor.)

PICROCARMIN. — Es la mejor sustancia para la coloracion doble; tiñe á los núcleos de rosa y al protoplasma de amarillo verdoso, conservándose perfectamente hasta en la glicerina.

CARMIN DE ALUMBRE. — Es otra de las sustancias poco empleadas.

LA EMATOSILINA. — Se encuentra bajo la forma de cristales rojo-oscuros con los que se hacen solucion con

el alcohol, y se le agrega una ó dos gotas de ácido acético para que las soluciones no sean muy intensas. Con esta solución sucede una particularidad colorante bastante extraña que al principio tiñe de rojo y negro y poco á poco se torna en violeta, cuya propiedad se acelera agregando una pequeñísima cantidad de amoníaco.

EL YODO—Es también empleado como sustancia colorante, como la solución de Lugol, dando un amarillo oscuro, pero como los preparados no pueden fijarse ni en glicerina ni en el bálsamo de Canadá se ha abandonado casi por completo.

Estas son las sustancias colorantes generalmente empleadas en bacteriología, de que nos servimos en el laboratorio para el estudio de los microorganismos: cuyo modo de proceder en las laminillas se efectúa de esta manera: Se toma con la aguja de platino previamente esterilizada una pequeñísima porción de la sustancia y se extiende uniformemente mezclada á una pequeña gotita de agua destilada hasta formar el compuesto homogéneo, se le deja secar, y luego se fija á la llama pasándola por 3 veces sucesivamente; se la sumerge enseguida en la sustancia colorante por uno ó dos minutos ordinariamente procurando que la laminilla permanezca en la superficie del líquido, estando, como es consiguiente, el preparado en contacto con él, se le saca con una pieza se lava prolijamente con agua destilada para ponerla en un porta objeto, sino se hace coloración doble, en cuyo caso, después de lavada, se le pone en una solución opuesta,

es decir, si empleamos anilina, en otro de carmin por ejemplo, y al minuto ó dos se le lava de nuevo y se coloca en el porta objeto para examinarla al microscopio; para fijarla bastará ponerle una gota de bálsamo Canadá cuando esté bien seca la laminilla.

No todas las bacterias se colorean de esa suerte, para lo cual se han ideado coloreaciones especiales que han dado el resultado que se buscaba, poner de manifiesto las bacterias, y valiéndose de sustancias y procedimientos múltiples que han probado el ingenio de sus autores.

Bacilo de la tuberculosis

El bacilo de la tuberculosis se puede colorear de rojo ó de violeta, valiéndonos de la solución de Ziehl ó de Ehrlich; de ambas maneras lo verificamos en el laboratorio diariamente: la solución de Ziehl esta compuesta de 50 centigramos de fuschina; 2 gramos de ácido fénico, 50 gramos de agua destilada. La solución de Ehrlich se prepara con agua 40 gramos, y seis gotas de aceite de anilina, se agita fuertemente y se filtra, agregándole después la mezcla de 5 gramos de alcohol saturado en violeta de genciana, filtrándose de nuevo.

El procedimiento consiste en tomar una pequeña porción de la parte concreta del esputo con una aguja de platino, y depositarla en una laminilla de vidrio, se pone otra laminilla encima y se les hace resbalar suavemente

con los dedos para estender uniformemente el esputo, se separan las laminillas, una vez conseguido y se las deja secar, se fijan despues á la llama pasándolas tres veces como en la coloreacion sencilla y se pone por último en la solucion escogida de Ziehl ó de Ehrlich que se ha puesto en una pequeña cápsula de porcelana, la cual valiéndonos de un tripode ó cosa equivalente recibe la llama ténue de una bugia hasta que aparezcan las burbujas de la ebullicion, en cuyo caso se separa la cápsula.

Como tenemos que decolorar el preparado disponemos una solucion de ácido sulfúrico al 2 por 10 si operamos con la solucion de Ziehl y 4 de ácido nítrico en caso de emplear la de Ehrlich, cuya solucion ácida colocamos en un vidrio de reloj, al lado de otro lleno con alcohol á 60 grados.

Tomamos con la pinza la laminilla de la cápsula de porcelana, y la decoloramos pasando el preparado rápidamente por la solucion ácida, y en el acto se lava en el alcohol, terminando por el lavado minucioso en el agua destilada, para ponerlo en el porta-objeto.

Si deseamos coloracion doble, se empleará una solucion de azul de metileno para la preparacion con Ziehl, y la eosina para Ehrlich teniendo la laminilla un minuto, la que se lava antes de pasarla al porta-objeto, los bacilos estarán teñidos de rojo con la solucion de Ziehl viéndose el campo de azul; y de violeta con fondo rosado si hemos usado la solucion de Ehrlich.

Este procedimiento que usamos en el laboratorio es el

mas rápido y seguro, y lo preferimos á todos los demás que se han imaginado con este objeto, pero que carecen de precision y rapidéz, circunstancias las dos, á cual mas indispensables en trabajos bacteriológicos.

Bacilo de la Lépra

Como fácilmente podrian confundirse los bacilos de la lepra con los de la tuberculosis y como igualmente puede colorearse con el método anteriormente descrito, se ha hecho una coloracion diferencial y basándose en la facilidad de coloracion de la lepra en menos tiempo que el de la tuberculosis.

Se prepara una solucion con cinco gotas de solucion alcohólica de fuschica, y agua destilada llenando el vidrio de reloj, si son laminillas, se las sumerge por seis minutos, y si son cortes de tejidos por 15, se sacan para decolorar los preparados en una mezcla de uno de ácido nítrico y diez de agua, un cuarto de minuto para la laminilla y medio para el corte, se lavan en agua destilada o filtrada con filtro Chamberlan y se las sumerge por un minuto en la solucion acuosa de azul de metileno, y se lava nuevamente, deshidratando los córtes con alcohol; los bacilos de la lepra estarán coloreados de rojo con fondo azul del preparado, pero los de la tuberculosis no se habrán coloreado de ninguna manera en tan corto tiempo.

Método general de Graham

Este método colorea los microorganismos dejando intactos los tejidos, y se practica de esta manera: se pone el corte en la solución de Ehrlich por espacio de 4 á 5 minutos, y luego se le pasa á otra compuesta de yodo 4 yoduro de potasio 2 y agua 200 donde permanece un minuto.

Hecho esto, se le pone en alcohol y se observa que al cambiar la coloración oscura que tenía el corte, y tomar el color rojo pálido, se le retira y se coloca en un vidrio de reloj con aceite de clavo, que termina la decoloración; las bacterias están solamente coloreadas así, pero si deseamos una doble coloración, se coloca el corte en una solución de Lithium carmin por espacio de un minuto, para pasarlo á otra de alcohol con ácido clorhídrico, en cuyo caso tenemos solamente el fondo, haciéndose en seguida el anterior procedimiento, llevando la decoloración hasta que veamos aparecer el color rosado.

El Dr. Susini colorea los bacilos de la lepra por un procedimiento que le pertenece, y que consiste, en poner el corte en una solución acuosa de genciana violeta por espacio de 5 á 10 minutos, decolora con solución alcohólica de ácido picrico, se lava en alcohol, y se clarifica con aceite de clavo, para incluirlo en bálsamo de

Canadá. De esta manera las bacterias se tiñen de violeta apareciendo el fondo del preparado con una coloracion amarilla.

De igual manera se pueden preparar la mayor parte de las bacterias en cortes como lo ejecutamos ordinariamente en el laboratorio.

Coloracion de los esporos

Los esporos como mas resistentes, debido á la cubierta que los reviste, se colorean de una manera especial; ya pasando treinta ó mas veces la laminilla por la llana, ó ya siguiendo los procedimientos que se indicarán mas adelante.

Como se vé, la doble coloracion tiene una grandísima importancia, ya se trate de preparar en laminillas ó de córtes, fundada en la diversa afinidad que tienen las bacterias y los elementos de los tejidos con las sustancias colorantes, operando con los colores de anilina, y luego con otros de accion especial que sin atacar las partes coloreadas con este tinte, lo sustituye en ciertos elementos que aquellos no pudieran afectar.

Micrótopo

Es el micrótopo un instrumento que sirve para hacer finísimos córtes en los tejidos, en los cuales debemos es-

tudiar la disposicion de las bacterias así como el estado de los tejidos; existen muchos micrótomos a cual mas ingeniosos que considero inoportuno el describir, los mejores modelos son el de Schanze, el de Thoma; el de Long y el de Reichert; este último es el que se emplea en el laboratorio de la asistencia Pública, con el aparato de refrigeracion, que adoptándose al micrótomos endurece el tejido fresco sin preparacion prévia, valiéndonos de la pulverizacion del éter sulfúrico con aparato de Richarson. Este instrumento es indispensable para los estudios de bacteriologia, pues nos permite apreciar las particularidades que ofrecen los tejidos en contacto con las bacterias, asi como la disposicion de estas con todos sus caracteres, estudio de complementacion que tiene grandísima importancia.

Córtes

Los córtes deben hacerse sumamente finos para obtener una buena preparacion, y ésta se practica en el momento de extraer el tejido, ó ya se prepara con el objeto de adquirir la necesaria resistencia que se precisa para que el cuchillo nos dé finos córtes.

Con los tejidos frescos que deseamos observar incontinentí, se obtiene el endurecimiento por medio del aparato de refrigeracion por el éter, se coloca el fragmento del tejido en la plancha ó lámina superior y hacemos

funcionar el aparato Richarson, cuando efecto de la congelacion el tejido se ha endurecido lo suficiente podemos ponerlos córtés en una cápsula de agua destilada, después se sumerge en la solucion de Ehrlich por cinco minutos; un minuto en la solucion de Graham de yoduro de potasio yodurado, se lava con alcohol, y al tomar la coloracion rojo pálido se saca para adicionarle una gota de aceite de clavo para hacerlo trasparente: ó en caso de coloracion doble, como ya se ha dicho anteriormente, con el Lithium carmin

Los tejidos los preparamos ordinariamente de esta manera: se toma el pedazo de tejido y se le sumerge en alcohol por veinte y cuatro horas, luego se pasa á una mezcla de partes iguales de alcohol y éter sulfúrico donde permanece por tres ó cuatro horas, disponemos un pedazo de corcho cortado de manera que se adapte al fijador del micrótomó, y en su superficie plana colocamos una gota de celoidina preparada con partes iguales de alcohol y éter, donde lo sobreponemos endurecido para pegarlo al corcho, y se sumerge nuevamente en alcohol por un rato hasta que la celoidina se haya endurecido: de esta manera se pueden practicar debidamente los córtés con el micrótomó.

Método de inclusion

Consiste en dar una dureza compacta á los tejidos que bien sea por sus cavidades ó por otra condicion, se precise

actuar para obtener finos córtex; valiéndonos de sustancias que llenando los vacíos y penetrando en la trama de los tejidos en estado líquido se endurezcan luego, bien por el enfriamiento ó por la acción de alcohol, hasta dar una homogeneidad perfecta al preparado.

Para el método de inclusion se emplean la celoidina, y la parafina, y una mezcla de glicerina y gelatina.

La celoidina que se encuentra en láminas sólidas y transparentes, parecida al colodion, se disuelve en partes iguales de alcohol y éter sulfúrico, debiéndose preparar dos mezclas, una tenue. Se pone el preparado deshidratado con alcohol, en la solución de celoidina de consistencia siruposa por espacio de 24 ó 48 horas, para después fijarlo al corcho y sumergirlo en alcohol á 70: después de algunas horas, y mejor á las 24, el preparado habrá adquirido la suficiente consistencia para practicar los cortes, procurando bañar de cuando en cuando el cuchillo con alcohol. Para quitar la celoidina, si así se desea, tenemos que poner el corte en una mezcla de partes iguales de éter y alcohol, y luego en alcohol antes de colorearle: bastando proceder solamente para la doble coloreación con ponerla en alcohol y luego en agua para teñirlo.

Para la inclusion en parafina, se opera sometiendo el corte á la acción del alcohol, y luego en cloroformo, ó en los aceites esenciales bien sea de vergamota, de trementina ó petróleo, combinados con el alcohol por espacio de algunas horas, y últimamente se le coloca en una so-

lucion de aceite de trementina saturado en parafina, calentada á baño-maria á los 50 grados; para después ponerlo por cuatro ó seis horas en la parafina pura liquidada á baño-maria, eligiendo una parafina semi-transparente y que su fusion no esceda de 45 grados.

El tejido se coloca, como se ha dicho anteriormente, en un pedazo de corcho, etc.

Existen muchas modificaciones á estos métodos de inclusion, más ó ménos complicadas, y que creemos superfluo en detallar, bastando lo expuesto en atencion á los estrechos límites que nos hemos propuesto dar á estos apuntes, que forzosamente han de ser incompletos.

CAPITULO IV

SUMARIO

Culturas—Diversos medios nutritivos—Medios líquidos—Caldos diversos—Sus inconvenientes—Medios sólidos—Transparentes y no transparentes—Gelatina nutritiva de Koch—Suero de la sangre—Agar-agar—Leche—No transparentes—Papas—Zanahorias—Miga de pan—Método de aislamiento—Placas—Idea de las colonias—Culturas en puncion—En rayas—Termostatos.

Para hacer la cultura de las bacterias, se precisa tener las mayores precauciones de esterilización, toda vez que los microorganismos van á evolucionar en medios nutritivos apropiados, así que todos los objetos de que nos sirvamos deben estar previamente esterilizados. Las culturas no tienen más objeto que procurar á las bacterias el modo de reproducción y de obtenerlas puras para su examen directo.

Numerosos son los medios nutritivos propuestos para este objeto; medios líquidos unos, y sólidos otros, que indistintamente se emplean en los laboratorios.

Medios líquidos

Los medios líquidos empleados con preferencia por el ilustre Pasteur, son los caldos ó infusiones transparentes que le sirvieron de punto de partida para llevar á cabo sus notables estudios sobre la fermentacion. Pasteur usa los líquidos parecidos á los que tienen los microbios, es decir, á donde crecen y se multiplican de por sí, y opera tomando una pequeña cantidad de sustancia que contenga los microorganismos y mezclarla con el medio nutritivo: éste se enturbia tan pronto como las bacterias se han desarrollado, y entonces toma de nuevo otra pequeña cantidad de éste y la mezcla con otro líquido nutritivo hasta que obtenga una cultura pura; estas culturas se tienen en matraces de vidrio de formas variadas.

Los medios de cultura, son: el caldo de pollo ó de vaca, los cocimientos de frutas ó infusiones de hierbas, cuyos líquidos deben, como es consiguiente, alcalinizarse para quitarles la acidéz propia, nociva á las bacterias, esterilizarlos con una temperatura á 440 y filtrarlos.

Como puede observarse estos medios de nutrición y estas sencillas prácticas son de todas veras inapropiadas, como lo revela el microscopio, y por lo que más adelante espondremos.

Se cultivan también por el método de dilución pro-

puesto por Nagele, por el de Klebs ó culturas fraccionadas y que omito su descripción en razón á sus métodos imperfectos y por no emplearlos en el laboratorio de la Asistencia Pública.

Nosotros empleamos como medios líquidos el caldo de vaca y el de gallina; el caldo de vaca se prepara de esta manera:—Se pican quinientos gramos de carne magra y se ponen en maceración por espacio de 24 horas con mil gramos de agua filtrada, colocándolos en la heladera; transcurrido ese tiempo se exprime en un lienzo limpio completando con agua hasta los mil gramos de líquido resultante, y poniéndolo en una retorta á donde se le agrega 3 gramos de cloruro de sodio, y diez gramos de peptona. Se neutraliza su acidez alcalinizando el caldo con una solución saturada de carbonato de soda, echando por gotas, lo que, una vez obtenido, se pasa á la estufa húmeda de Koch y allí permanece por espacio de hora y media á una temperatura de 400 grados.

Se alcaliniza de nuevo si todavía hubiera reacción ácida, no olvidando que, en caso de alcalinizar nuevamente, hay necesidad de ponerlo en la estufa húmeda por media hora, y se filtra después las veces necesarias hasta obtener un medio trasparente, en cuyo caso, se coloca en tubos ó valones cerrados con algodón y se colocan en la heladera por 24 horas, esterilizando después tres días sucesivos por espacio de media hora en la estufa de Koch.

El caldo de gallina se obtiene de igual manera em-

pleando la carne de esta ave en lugar de la carne de vaca.

Con estos caldos hemos obtenido perfectamente bacterias de cólera por el método de Chotelius, así como de carbunco, que describiremos en su lugar.

Los medios líquidos empleados para las culturas tienen sus graves inconvenientes, difíciles de salvar aún por los procedimientos más delicados: mezclados como van diversas bacterias en el medio nutritivo, su union forzosamente es impropia para el desarrollo, por robarse el medio nutritivo, y actuar unas sobre otras, lo que dá por resultado, ó la impureza del cultivo ó la desaparicion de la bacteria que pretendemos cultivar. Otro de los inconvenientes de los medios líquidos consiste en que éstos se enturbian al desarrollarse las bacterias, y por consecuencia, no se puede apreciar su pureza; sin embargo, usamos estos medios para algunas bacterias patógenas, pero en limitados casos.

Medios sólidos

Los medios sólidos para el cultivo de las bacterias son los más apropiados por cuanto ellos permite seguir el ciclo evolutivo de algunas especies, aislando la bacteria y observando su modo de desarrollo: condicion importantísima por medio de la cual se distinguen con toda certeza especies de bacterias similares solo al microscopio como

acontece, por ejemplo, con el bacilo coma de Koch, y la coma que encontramos en la saliva humana: idénticos por su forma encorvada, por sus dimensiones y por su diámetro, y sin embargo, el cultivo en gelatina nos permite distinguirlas sin que jamás pueda haber duda al respecto: así que las culturas en medios sólidos permiten a cada bacteria desarrollarse aisladamente, y de esta manera se pueden obtener culturas puras.

Los medios sólidos empleados son diversos, como la gelatina nutritiva de Koch, el agar-agar, el suero de la sangre, la leche, las papas, migas de pan, zanahoria, etc. Unos son transparentes y otros no.

Medios sólidos transparentes

Como la gelatina el agar-agar, el suero de la sangre, y la mezcla de leche con gelatina, son los más apropiados para el estudio de las colonias, y apreciar día á día el desarrollo de éstas, y por lo tanto, la manera peculiar de evolucionar las bacterias.

Gelatina

La gelatina se prepara, poniendo en un matraz 500 gramos de carne magra picada en mil gramos de agua, y dejándola por veinte y cuatro horas en la heladera:

trascurrido este tiempo, se exprime el contenido agregando el agua necesaria para obtener mil gramos de componente, y en la retorta se le agrega cien ó cincuenta gramos de cola de pescado, segun se quiera obtener una gelatina al diez ó al cinco por ciento; se disuelven diez gramos de peptona y cinco de cloruro de sodio, y el todo se pone á baño-maria á 40 grados, hasta liquidar la cola de pescado.

Se alcaliniza ligeramente el líquido con carbonato de soda mezclándolo de cinco en cinco gotas, y si se escediera dándole mucha alcalinidad habrá necesidad de adicionarle algunas gotas de ácido lactico, pues la gelatina debe ser *ligeramente alcalina*.

Se pone en la estufa húmeda por espacio de hora y media á 100 grados, y al retirarla se comprobará otra vez su alcalinidad, y en caso de agregarle carbonato de soda, hacerla hervir nuevamente por media hora, filtrándola despues cuantas veces sean necesarias para obtenerla trasparente, y, en caso de resistencia, hacerla hervir nuevamente con clara de huevo.

Despues de nuevamente filtrada, se la coloca en los tubos de cultura, poniendo en cada uno diez centímetros cúbicos y al siguiente dia se empieza la esterilizacion que dura tres, sometiéndola á lo estufa humeda por un cuarto de hora ó veinte minutos con el objeto de matar los gérmenes y así obtener un medio perfectamente puro.

Por regla general, no debe conservarse la gelatina más

de dos meses, teniendo cuidado de ponerla en una temperatura inferior á veinte grados para evitar su liquidacion.

Agar-agar

Como la gelatina se liquida á una temperatura mayor de 20 grados y, por consecuencia, es inadecuada para el desarrollo de bacterias que precisen alta temperatura, el sábio Koch y el Dr. Hesse idearon otro medio nutritivo que resiste la temperatura alta hasta los 40 grados próximamente.

El agar-agar es una especie de alga, llamada tambien celosa, y cola del Japon, dispuesta en bandas estrechas y trasparentes: y que se prepara el cultivo de esta manera:

Se practica el mismo procedimiento que para la gelatina, y en lugar de agregar al líquido la cola de pescado, se sustituye por 20 gramos de este agar-agar y se sigue operando de igual suerte, escepto en la filtracion que, siendo el líquido demasiado denso y solidificándose con más facilidad, en vez de calentar los embudos y filtros, ó emplear el embudo de agua caliente ó sea doble embudo, que presta el calor bastante para dejar pasar al líquido por el filtro, hacemos hervir 3 horas por tres dias sucesivos y así se obtiene la filtracion.

El agar-agar no es tan trasparente como la gelatina,

pero tiene la ventaja de permanecer sólido á los 40 grados: además, no se liquida por el desarrollo de ciertas bacterias como le sucede á la gelatina, y por eso, estas se desarrollan en la superficie en colonias características que complementan las culturas en gelatina.

El agar-agar, se deja solidificar en los tubos de cultura buscando una grande superficie, ó sea inclinando los tubos para de esta manera dejar medio centímetro de fondo aproximadamente.

Suero de la sangre

El Dr. Koch fué quien primero aprovechó el suero sanguineo para la cultura de las bacterias, en particular para la tuberculosis: es un medio sólido y trasparente á una temperatura un poco más inferior á la de su coagulación, y que para obtenerlo es indispensable operar como lo aconseja el bacteriólogo alemán

Se lava previamente la piel del animal, cordero ó ternera con una solución de sublimado, se corta, y mejor afeitada, la parte para evitar el contacto de pelos, y con un trocar ó cuchillo bien esterilizado, se abre la vena del animal, que antes ha debido estar bien examinado á fin de constatar su completo estado de salud, y se recoge la sangre en vasos especiales de 20 centímetros de largura por 8 ó 10 de diámetro provistos de un tapon de vidrio, vasos que se han lavado en solución de bi-cloruro y des-

pués en alcohol y éter; evaporándolo en la estufa; se llenan estos vasos hasta el borde y se les cierra, para colocarlos instantáneamente en el hielo por espacio de 30 horas en que se habrá formado el coágulo, teniendo cuidado de dejar los tubos inmóviles, pues, de lo contrario, el suero pierde su transparencia.

El suero se trasporta de estos tubos á las provetas ó tubos de cultura valiéndonos de pipetas, y procurando que el líquido ocupe una tercera parte; se esteriliza á una temperatura de 50 grados por varios días seguidos, si queremos asegurarnos prolijamente de la pureza del líquido, pues, si se han seguido las prácticas operatorias ántes dichas, el líquido de por sí está desprovisto de gérmenes, y solo en casos raros puede haberse impurificado por el procedimiento empleado; y se procede á solidificarlo hasta la gelatinización solamente, que se consigue disponiendo los tubos inclinados para obtener una mas vasta superficie, y someterlos en la estufa seca á una temperatura de 63 grados por espacio de media hora, y algo más, si nos hemos servido de la sangre de vaca.

El suero así obtenido, es pálido, de color ambarino, transparente y algo duro.

Con este medio de cultivo, podemos apreciar el desarrollo de las bacterias lo mismo en los cuerpos sólidos, como en los líquidos, porque el agua de condensación que se deposita en el tubo, es también excelente medio.

Leche

Empleamos tambien en el laboratorio una leche condensada con gelatina ó agar-agar en las proporciones convenientes, es decir, que se opera de igual manera que para hacer el agar-agar, constituyendo la leche el extracto líquido de carne; pero teniendo la precaucion de alcalinizar el agar-agar, ó cola de pescado peptonizada, que debe haber sido disuelta en dos veces su peso de agua, porque, de lo contrario, la mezcla cortaria la leche, y el medio nutritivo sería inadecuado.

Después se pone en la estufa húmeda tres dias consecutivos, por espacio de tres horas, á una temperatura de 400 grados para esterilizarla convenientemente.

Medios sólidos, no transparentes

Estos medios nutritivos son económicos, pero imperfectos porque algunas bacterias se desarrollan sin casi apreciarse en la superficie, y otras, invaden con prontitud y destruyen tal vez el que deseamos cultivar; sin embargo, para cultivos puros, los medios sólidos pueden servir cuando se han tomado de colonias aisladas; pero estos medios nutritivos sirven más principalmente para los microbios del aire.

Papas

Se emplean las papas ordinarias, previamente limpias de toda sustancia extraña, desprovistas de anfractuosidades y tallos, para lo cual, se las restrega con un cepillo y se las sumerge en una solución de bi-cloruro al 4 por mil durante una hora; después se las coloca en la rejilla de la estufa por un cuarto de hora ó veinte minutos, á 100 grados, tiempo suficiente para su cocción, y se las pone en cámaras húmedas para cultivar las bacterias.

Estas cámaras húmedas son sencillamente dos campanas de vidrio que una de ellas cierra sobre la otra; se les pone en el fondo una cubierta de papel filtro bien impregnada con solución de bi-cloruro al 4 por mil, con la que también se lavan las campanas. Las papas se colocan en estas cámaras, dividiéndolas en dos mitades con un cuchillo esterilizado á la llama, teniendo precaución de operar solamente con los dedos medio é índice, y previamente lavada la mano con bi-cloruro, porque sinó, el contacto sobre la superficie de la papa llevaría gérmenes extraños y haría impuro el cultivo. Sobre la superficie de la papa se mezcla la materia que deseamos cultivar, por medio de un bisturí esterilizado, pasándolo suavemente hasta mezclarlo con la capa en una superficie limitada; y esta operación debe practicarse lo más ligero posible para evitar las bacterias del aire.

A la temperatura ambiente pueden dejarse las cámaras, y en tiempo frío si el termómetro descende de 6 ó 5 grados, ponerlas en la estufa á una temperatura superior de diez.

Zanahoria

Se prepara de igual manera que la papa, constituyendo un excelente medio nutritivo.

Miga de pan

Se ralla bien el pan desecado y se le coloca en la botellita de Erlenmeyer como una cuarta parte de su capacidad, se agrega una cantidad de agua suficiente para que se empape, y se le lleva á la estufa por media hora: en este medio se desarrollan las bacterias del aire, y los hongos.

Igualmente en las botellitas de Erlenmeyer, se ponen las pulpas de papa y zanahoria con igual objeto: haciendo cocer en la estufa húmeda la papa ó zanahoria como se ha dicho; se la despoja de la corteza ó película y se la reduce á papilla ó masa homogénea, que se coloca en el frasco de Erlenmeyer cubriendo el fondo, procediéndose á la esterilización por tres días en la estufa húmeda á 400 grados: en este medio se cultivan bien casi todas las bac-

terias del aire, el del carbon y otros varios, obteniéndose preciosas culturas, y buenas colonias.

Método de aislamiento

La condicion indispensable para obtener bacterias puras, está condensada en el aislamiento, ó disgregacion de los microorganismos al evolucionar por separado en medios apropiados que permita extraerles sin adherencia de otros: cada bacteria aislada forma su colonia, diferentes en forma, tamaño, y demás condiciones que permiten establecer reales diferencias: y de esta manera, podemos aislar las bacterias obteniendo culturas puras por el procedimiento más sencillo que se conoce, y debido tambien al eminente Koch.

Todos los bacteriólogos buscaban el medio adecuado para obtener estas culturas puras, por procedimientos diferentes; quien empleaba el calor para matar las bacterias y obtener el espora de tal microorganismo, quien diluía las culturas hasta obtenerlas casi puras, unos usaban el fraccionamiento, otros combinando aquellos pretendian obtener la pureza, que solo se ha conseguido debido al procedimiento de Koch, á la cultura en placas, que permite aislar las bacterias para que formándose las colonias puedan éstas ser trasportadas á otros cultivos obteniéndose la deseada pureza.

Placas

Se precisa un aparato de refrigeración para hacer este cultivo; aparato sencillo, compuesto de un trípode de madera, provisto en cada uno de sus pies de un tornillo con su rosca para poder disponerlo a nivel de una vasija de vidrio como las que empleamos para las cámaras húmedas, la que se llena de hielo partido en pequeños pedazos y agua hasta que rebose el líquido; encima lleva un disco de vidrio donde se coloca la placa ó pedazo cuadrangular de vidrio; el que se tapa con una campana de cristal que descansa sobre el disco.

El aparato se pone exactamente a nivel: y se tienen dispuestas las placas de vidrio, previamente esterilizadas.

Así procedemos en el laboratorio, se liquida la gelatina de tres tubos, por medio de pases a la llama del pico del gas, procurando no agitar el tubo para evitar las burbujas de aire; con una aguja de platino esterilizada tomamos una pequeñísima porción de la sustancia a cultivarse, la que se mezcla uniformemente con la gelatina del tubo núm. 1; con la aguja de rosca pasamos del tubo núm. 1 al núm. 2 una pequeña porción de la gelatina (la que se adhiere a la rosca) y se mezcla así por tres veces; del núm. 2 pasamos de igual manera al frasco núm. 3 tomando cinco veces con la rosca y procurando

mezclar bien: dispuestos así los tubos de gelatina, se prepara la cámara húmeda provista de sus puentes de vidrio, ó sean pedazos de vidrio que impiden el contacto de las placas entre sí, interponiéndolas en la cámara húmeda.

Se coloca la placa de vidrio en el aparato de refrigeración, y trascurrido un rato suficiente para que esté fría, se vierte sobre ella la gelatina del tubo núm. 1, estendiéndola con rapidéz cerca de los bordes y dejando un espacio libre en el centro; se tapa con la campana y se espera unos cinco ó diez minutos, según la temperatura ambiente, hasta que la gelatina se haya solidificado en la placa, para pasarla á la cámara húmeda, donde descansa sobre un puente ó aislador de vidrio.

Igual operación se hace con los otros tubos: poniendo las placas en la misma cámara y con esto se obtiene el objeto deseado; como la pequenísima porción tomada en la aguja se mezcla con la gelatina, claro se está que las bacterias se encuentran aisladas; al pasarse de un tubo á otro, el aislamiento es mayor por consiguiente, y en el medio nutritivo en que se encuentran tienen que desarrollarse debidamente; y así vemos de las veinte y cuatro á las cuarenta y ocho horas aparecer unos pequeños puntitos que sombrean en la gelatina de las placas, que no son sinó las colonias de las bacterias que tenían en suspensión la gelatina, las que con un aumento de 400 ó ménos diámetros aparecen de formas diversas, ya redondas ú ovaladas, ya lisas ó nó, con bordes regulares, ó

caprichosos, de uno ó varios colores, pequeñas ó grandes, cuyas colonias van aumentando en tamaño, creciendo ó liquidando la gelatina, segun los caractéres de la bacteria, y que, aisladas como se hallan en el medio nutritivo, son susceptibles de dejarse trasportar á otros medios en un estado de pureza, valiéndonos de la pesca, ó sea llevando la punta de la aguja de platino al campo del microscópio, y hundiéndola en la colonia para así hacer culturas en puncion ó rayas, ó ya en los medios sólidos.

Las culturas en puncion, se hacen llevando la aguja esterilizada al centro de la colonia y hacerla penetrar en el tubo de gelatina solidificada, procurando dirijirla hácia abajo la boca del tubo para evitar la penetracion de otras bacterias de la atmósfera; el tubo se cierra con el tapon de algodón y se le pone en la temperatura que requiera el bacilo para su desarrollo, no elevándose de los 20 gr., porque la gelatina se liquida así; de esta manera podemos apreciar á cada momento el desarrollo de la bacteria, desarrollo característico para cada una, tanto en la forma que adapta, como en la liquidacion más ó ménos rápida del punto de puncion, hasta estenderse en todo el tubo, presentando caracteres que les distinguen de una manera absoluta.

Las culturas se hacen tambien en rayas: esto es, trazando dos ó tres rayas en los tubos de agar-agar, ó de la sangre, cuyas rayas no tardan en convertirse en colonias características de las bacterias, sosteniéndose

largo tiempo en ese medio nutritivo en estado de pureza.

Las culturas sobre botellitas de Erlenmeyer, se hacen por medio de varias punciones, en cuyos sitios aparecen las colonias, que crecen de una manera especial; y sobre papas ó sanahorias, como anteriormente se espuso.

Los medios de cultivo deben elejirse según que la bacteria precise alta ó baja la temperatura para desarrollarse, y así, emplearemos el agar-agar, la gelatina, ó las papas, ateniéndonos á su liquidacion, por medio del calor á tal ó cual grado, como ya expusimos en su lugar, y que omito repetir.

Para esto se emplean los termostatos, que son instrumentos para mantener un calor constante, que facilite la evolucion de las bacterias; instrumentos que facilmente se idean haciendo pasar el calor por medio de tubos, ó sosteniendo una bugía con llave á tal ó cual grado que marcará el termómetro del aparato. Se conocen varios termostatos: el de Koch, el de Arsonval, el de Babes, el de Pasteur, y otros varios, que todos procuran más ó ménos la temperatura constante que se desea.

CAPITULO V.

SUMARIO

Bacterias no patógenas—*Micrococcus prodigiosus*—Levadura rosa—*Sarcina*—*Micrococo* amarillo del aire—*Micrococo* amarillo verde del aire—Leche azul—*Bacillus subtilis*—*Micrococo* rojo.

Las bacterias no patógenas las encontramos particularmente en el aire y en el agua, las que introducidas en nuestro organismo, no pueden producir alteraciones borbosas. Grande es el número de estas bacterias, limitándonos, por ahora, á describir las que tenemos en el laboratorio, cultivadas aquí, que aunque iguales á las descritas por otros autores, no dejan algunas de ofrecer particularidad digna de tenerse en cuenta, como sucede, por ejemplo, con el *prodigiosus*, que lo tenemos de color intensísimo; y el *micrococo* amarillo verde del aire, que siendo igual al del agua, lo hemos encontrado en una cultura de aire, lo que no deja de carecer de interés positivo.

Micrococcus prodigiosus

Seguiremos llamando así á esta bacteria; aún cuando no sea coco, como se había creído, sino un bacilo perfectamente definido, al que conservaremos el nombre general con que se le conoce.

Este bacilo se encuentra en suspension en el aire, y aparece en las placas bajo la forma de pequeños puntitos rojo-claros, deprimidos en el centro, que crecen rápidamente liquidando la gelatina; cultivado en tubos de gelatina, contrasta particularmente la coloracion de ésta, que roja como aparece en su parte liquidada, forma una completa separacion con la parte que no lo está todavía, conservando su color ambarino claro, hasta que por entero se liquida tomando entonces la coloracion roja característica.

Cultivado en papas, aparece de las 20 á las 48 horas con su coloracion característica, la que adquiere mayor intensidad por el pasaje de una cultura en zanahoria; intensidad de coloracion que hemos podido apreciar claramente.

La coloracion rojo intensa, no es debida propiamente á la constitucion íntima de la bacteria, sino á su secrecion, constituyendo un tinte precioso, que hizo creer un día á personas cándidas una accion ó participacion divina cuando evolucionó sobre hostias, lo cual se atribuyó á mila-

gro que se bautizó con el nombre de substanciacion de la sangre de Jesucristo, error que se ha comprobado satisfactoriamente al encontrar este inofensivo bacilo que se procuraba en la hostia un medio nutritivo apropiado.

Llevado al campo del microscopio con coloreacion sencilla, aparece este microorganismo bajo la forma de células elípticas alargadas de una milésima de milímetro en su diámetro mayor. Antes de su division tiene la forma de bastones parecidos á hilos; y, cuando se ha operado una multiplicacion rápida, se presenta con una forma ovoidea ú oblonga: es decir, en culturas viejas bajo forma algo alargada, y en culturas recientes, con aspecto ovoideo, lo que indudablemente hizo creer que se trataba de un coco.

Levadura rosa

Este bacterio que se encuentra en el aire lo observamos continuamente en las culturas en papas que han estado espuestas al aire, lo mismo que en las placas de gelatina algo antiguas: aparece bajo la forma de pequeños puntos rosados algo pálidos, que no liquidan la gelatina: la colonia es de bordes algo regulares, y de forma clipsoidea, y de coloracion rosada tanto más pronunciada cuanto más vieja es.

Por el microscopio observamos la forma de pequeños

cocos esférico-ovales, y hasta cilíndricos, cortos de 5 a 40 milésimas de milímetro, aislados, ó en dos y con membrana celular; en estado fresco incoloro, y cuando desecado con coloracion rosada.

El cultivo sobre papas forma una cubierta mucosa de tinte rosáceo.

En puncion sobre el tubo de gelatina, la raya aparece blanca opalina de bordes dentellados, y solo en la parte superior que forma la colonia, toma su coloracion característica. Esta coloracion no se altera ni por la accion de los ácidos, ni por los álcalis.

Sarcina

Este microorganismo fué encontrado primeramente en los vómitos de algunos enfermos, atribuyéndoles una accion puramente fermentadora. Existen varias clases de sarcina: la amarilla, la anaranjada, y la sarcina ventriculi.

Sarcina amarilla

La tenemos en el laboratorio encontrada en una cultura de aire, y hemos comprobado plenamente su identidad con la sarcina amarilla Europea. Se encuentra en el aire y es bastante comun.

Se presenta bajo la forma de fardos de embalaje, es decir, formando líneas divisorias con sus intersticios, como sucede a los fardos apretados por las bandas metálicas que los aprisionan, compuesto de cocos dispuestos de seis u ocho, y de dos otras veces, en disposicion cúbica.

Cultivado en gelatina, dá colonias amarillentas y no la liquida; crece lo mismo en agar-agar y en las papas a las que cubre de una capa amarilla.

Sarcina naranjada

Esta variedad es distintiva, porque su cultivo dá una coloracion pálido de naranja, y sobre todo, porque liquida lentamente la gelatina, formando en la superficie del tubo una película amarillo-anaranjada, depositándose en el fondo toda la cultura, y tiñendo el líquido con su coloracion especial.

Sarcina ventriculi

Este coco se encuentra amenudo en el estómago en los casos de estancamiento, ó retencion de materiales alimenticios, que originan fermentaciones; ha sido confundida con la amarilla, y por algunos, considerada como idéntica.

Forma colonias amarillas idénticas á la sarcina amarilla, pero, si la observamos al microscopio, veremos que en las culturas en gelatina y papas no se presenta bajo la forma cúbica; donde presenta la disposicion característica de los otros, es en el cultivo de infusion de héno, en que se desarrolla de una manera, podemos decir, lujuriosa, si se le agrega un dos por ciento de azúcar de caña ó de uva. Sus dimensiones son de 4-5 milésimas de milímetro.

Micrococo amarillo del aire

Este coco se encuentra en el aire y en el agua tambien. Se presenta bajo la forma de células aisladas, ó en aglomeraciones; cultivado en gelatina forma una película espesa de color amarillento, liquida la gelatina, y se deposita en el fondo, conservando su color amarillo pálido: su coloracion es soluble en el agua.

Amarillo verde del agua

Esta bacteria descrita como proveniente del agua, la hemos encontrado en el laboratorio en culturas de aire sobre papas y gelatina.

Este bacilo parecido al del micrococus prodigiosus an-

tes de dividirse, es alargado, y tiene movimientos propios.

Cultivado en gelatina ofrece un carácter el más extraño y distintivo, porque, la puntura hecha con la aguja de platino, queda blanquecina, y la colonia de la superficie tiene una coloracion blanco-sucio, orlada por un círculo verdoso, que poco á poco invade toda la gelatina dándole un color verde amarillento, de aspecto florescente, contrastando esta coloracion uniforme, con la raya y la colonia que permanecen blanco-opacos.

Esta bacteria no líquida la gelatina; cuando la cultura es vieja toma un color de caramelo.

Leche azul

Esta bacteria que se encuentra en la leche, tiene una dimension de 1-2 á 4 milésimas de milímetro de largo; está dotada de movimientos propios, y tiene la singular propiedad de teñir la leche de un color azulado. Forma esporos.

Se cultiva bien en gelatina y agar-agar; pero, su desarrollo sobre papas, es muy característico; forma un depósito ligeramente amarillento, que se torna poco á poco en color azul-oscuro.

No coagula la leche esterilizada, prestándole una reaccion alcalina, y su coloracion azul, por consiguiente, se hace tanto más intensa si le adiciona algun ácido; con leche que no esté esterilizada, dá desde el principio la co-

loracion azul, porque, al mismo tiempo, se hace fuertemente ácida.

Bacillus subtilis

Este bacilo tiene muchos puntos de contacto con el bacilus antracis del carbunco, en cuanto á sus condiciones microscópicas; tiene movimientos propios: forma esporos elipsoides de una ó dos milésimas de milímetro de largura, muy refringentes y encerrados en una pequeña cápsula gelatinosa, la que se rompe para dar paso al baston alargado que contiene esporos.

El bacilus subtilis tiene una dimension de 5 á 6 milésimas de milímetro por una milésima.

Se le encuentra en el heno, ó pasto seco, donde se le puede extraer puro, debido á la resistencia de los esporos; así lo practicamos: hirviendo el heno á una temperatura de 100 grados, que destruye los bacilos, dejando solamente los esporos que no tardan en evolucionar en el fondo del líquido.

Cultivado en gelatina, forma una película que queda en la superficie, mientras la colonia vá liquidando la gelatina hasta caer al fondo en nubecula informe, y dejando turbio todo el medio nutritivo.

Este bacilo no se confunde con el carbunco, porque sus bastones son más delgados, rectos y no forman el ca-

rácter especial de las estremidades, como diremos al al hablar del bacilus antracis.

Micrococo rojo

Flüger encontró en una cultura de aire, un coco bastante grande que dá unas colonias rojas: esta bacteria no liguida la gelatina y se desarrolla de una manera lenta.

Examinado el microscopio se presenta bajo la forma de diplococcus, completamente redondeados cada uno.

CAPITULO VI

SUMARIO

Enfermedades en las cuales está perfectamente demostrada su naturaleza bacteriana—Tuberculosis—Supuracion—Erisipela—Tifus—Cólera—Muermo—Carbunco—Fiebre recurrente—Pulmonía—Blenorragia—Edema maligno.

Se llaman bacterias patógenas, las que en contacto con nuestro organismo producen enfermedades infecciosas ó no, siempre que encuentren el medio apropiado para su desarrollo; estas bacterias penetran ó por la piel y mucosas, ó por el aparato respiratorio ó digestivo ó ya se absorben por la superficie de las soluciones de continuidad; y así tenemos, por ejemplo, el gonococo que por simple contacto en las mucosas desarrolla la blenorragia; el de la tuberculosis en suspension en el aire que se introduce por medio de la respiracion; el del cólera, por el aparato digestivo, ya sean bebidas ó alimentos; y por último, el del carbón, que aun cuando

pueda penetrar en el aparato digestivo en forma de esporos; se introduce lo más frecuentemente por la piel ó heridas.

No en todas las enfermedades reputadas bacterianas está perfectamente demostrada su naturaleza, por faltarles condiciones de transmisibilidad, ú otras que se exigen á este objeto, y que, dados nuestros conocimientos actuales, no podemos clasificarlas como tal: teniendo por el contrario, otras que aún cuando no se haya descubierto el bacterio, las debemos reputar como de naturaleza microbiana, como sucede, por ejemplo, con la fiebre amarilla.

En este capítulo nos limitaremos á describir las bacterias, que, perfectamente demostrada su naturaleza parasitaria, hemos tratado en el laboratorio de la Asistencia Pública.

Bacilo de la tuberculosis

Cábele la gloria al Dr. Koch de haber demostrado la naturaleza bacteriana de la tuberculosis, por medio de sus procedimientos científicos, apoyado en numerosas esperimentaciones á cual más concluyentes.

La causa de todas las modalidades tuberculosas, tanto del hombre, como de los animales, es la presencia del bacilo característico que se encuentra en los más diver-

sos órganos y secreciones, como en la inflamacion de las articulaciones, en las glándulas, en la orina, esputos, en el tejido pulmonar, en el peritoneo, intestinos, y en una palabra, en todas partes donde se encuentre el proceso tuberculoso, en todos los productos patológicos: y en todos los estados de la enfermedad, y lo mismo en las células gigantes.

El bacilo de la tuberculosis tiene la forma de finos bastones aislados, de dos á cuatro milésimas de milímetro; privados de movimiento, y con sus estremidades ligeramente redondeadas.

Los esporos son de forma oval en número de dos á cuatro.

El cultivo de este bacilo es difícil, por su lento desarrollo, por la temperatura que precisa, y porque es difícil obtenerlo puro sin otras bacterias que impidan su desarrollo.

El sábio alemán, lo cultiva en el suero de la sangre esterilizado y preparado, como lo dijimos en su lugar: hecha la cultura del bacilo que se saca ó de una glándula linfática caseificada, ó de otro tejido tuberculoso, se pone el tubo á una temperatura constante de 37 grados, y de los diez á los quince días principian á divisarse unos pequeños puntos blancos en la superficie del suero, que son las colonias: antes de este tiempo cualquiera colonia indicará la impureza del cultivo.

Las colonias del bacilo de la tuberculosis aparecen como puntos blanco-opacos que semejan escamitas ad-

herentes á la superficie del suero, que crecen poco en superficie, y que cuando se reunen, semejan una sutil película blanco-grisácea y opaca; examinadas al microscópio con un aumento de 80 diámetros, se hacen visibles del quinto al sexto dia presentando la forma de líneas, sutilísimas onduladas y, por lo comun, en forma de una S, y las colonias más largas con ondulaciones en todos sentidos.

Este bacilo no liquida el suero, y solo se desarrolla en su superficie, formando después de cierto tiempo sus esporos.

Las temperaturas de 28 ó 29, y las de 42 y 43 hacen cesar el desarrollo del bacilo: siendo la más favorable 37 ó 38.

Se ha propuesto la cultura en la cámara anterior del globo del ojo en animales vivos, en particular conejos, que tienen la ventaja de no precisarse estufa por bastar la temperatura del animal, y además, porque en la cámara anterior no se desarrollan las bacterias de la putrefaccion; este procedimiento de cultivacion, es en extremo sencillo, y omito su descripcion por creerlo innecesario.

Para hacer la inoculacion en los animales, se elige ó el ojo, ó peritoneo, ó el tejido sub-cutáneo; se hace en la piel una pequeña cueva con una aguja lanceolada y bien esterilizada, depositando allí el material tuberculoso en pequeña cantidad como un grano de alpiste: á las 20 ó 30 horas cierra la herida; y como á los 13 ó 18 dias se encuentran las glándulas vecinas al lugar de la inocula-

ción con un engrosamiento, y en la parte de la inoculación un pequeño tumor caseiforme recubierto por una costra seca.

El animal sugeto á la experimentación empieza por adelgazarse de una manera visible, y concluye por morir de la cuarta á la octava semana generalmente.

El bacilo tuberculoso penetra en nuestro organismo por medio del aire, que tiene en suspensión los esputos desecados reducidos á polvo, siendo discutible su penetración por la vía digestiva, como por ejemplo, con la leche procedente de animales tuberculosos.

Se ha dicho en su lugar el procedimiento especial para su coloreación, bastando solamente decir, que los esporos se tiñen como lo observó Koch, tratando el bacilo con la solución de azul de metileno en el agua de anilina, observó que los esporos de un grueso bacilo se teñían de azul, y conservaban este color en presencia de la vesuvina, la que teñía los bacilos de oscuro.

También se colorean según el procedimiento de Arning, usando la fuschina asociada con el agua de anilina, y como segunda, el azul de metileno, los esporos quedan coloreados de rosa.

Supuración

Existe una unidad patogénica en las diversas enfermedades ocasionadas por los microorganismos del pus, uni-

dad establecida, que engloba por ejemplo, la endocarditi-ulcerosa con la septicemia, la fiebre puerperal con la piemia, y que son el resultado de la presencia de cocos especiales contenidos en el pus, y denominados piogénicos: los cuales han sido concienzudamente estudiados por Koch, Passet y otros varios.

Segun los estudios de Ogston, todos los abscesos agudos son debidos á la presencia de micrococos, unos reunidos bajo la forma de cadenas ó sea *estreptococcus*, y otros reunidos en zoogreas que denomina *estafilococos*.

Rosembach ha llegado á cultivar 4; el *estreptococcus piogénicus*, *estafilococcus alleus*, *estafilococcus aureus*; y el *micrococcus piogenes*.

La accion fisio-patogénica es la misma en todos estos, variando solamente en cuanto á la forma que presentan en los variados medios nutritivos; debiendo notarse, que la inmensa mayoría de abscesos agudos son originados por el estafilococo; sin que por esto deje de ser la causa de un padadizo, ó de un flemon difuso.

Describiremos los más importantes de estos cocos productores de la piemia ó sea del pus.

***Estafilococcus piogénicus* (blanco y cetrino)**

Se encuentra en el pus bajo la forma de diplococo, ó aislados en los corpusculos purulentos y en el protoplasma de los tejidos: en los preparados y en las culturas se presenta en zoogrea.

El estafilococo es redondeado desigual y de 87 milésimos de dimension: liquida la gelatina desarrollándose del segundo al tercero dia á la temperatura ambiente; las colonias son blancas para el estafilococo blanco, y amarillentas en el aureo y cetrino.

Los tubos de gelatina experimentan el enturbiamiento al liquidarse esta, pero pronto adquieren su transparencia al formarse en el fondo el sedimento blancusco-oscuro, ó amarillo de limon, segun la variedad del estafilococo, produciendo un olor ácido característico.

Si se quieren obtener culturas separadas, es preciso cultivarlos en el agar-agar que no se liquida, á donde se ven las colonias con distinto color.

Estas variedades son patógenas, lo mismo para el hombre que para los animales: si se inyecta en la cavidad abdominal ó pleurítica de los conejos ó chanchitos de la India, mueren por septicemia á las 24 ó 48 horas: y lo mismo se produce con las inyecciones intravenosas.

Streptococcus piogenicus

Se encuentran reunidos en cadenas de tres á treinta ó más, en diplococcus de un diámetro de 60 á 73 milésimas.

El aspecto de las colonias sobre gelatina es idéntica al de la erisipela de *Fehleisen*; se desarrolla bajo la forma de masas blanco-grisaceas, redondeadas, á la temperatura ordinaria.

No líquida la gelatina: cultivado en el suero de la sangre, se desarrolla bajo la forma de estrias y sobre el agar-agar formando colonias irregulares.

Seudoneumococo

Este microorganismo tiene una grandísima semejanza con el bacilo de la pulmonía, tanto por sus condiciones de cultivo en la gelatina, como por un aspecto microscópico.

Cultivado en gelatina, forma en la superficie una colonia hemisférica, lo mismo que en el trayecto de la puncion, lo que le distingue del neumococus que solo forma el desarrollo superior.

Visto al microscopio tiene la apariencia de bacilos aislados, algo alargados ó redondos, y algunas veces encerrados en una cápsula aunque no tan visible como en el neumococo.

La diferencia característica existe en la cultura sobre papas, donde no forma como el neumococus, las burbujas de gas al segundo día teniéndolo á 37 grados de temperatura.

Inoculado en la pleura á los conejos, produce una inflamacion en esta serosa con propagacion á los pulmones, lo que no produce el neumococus que no tiene accion alguna contra los conejos.

Así tambien existe otro punto de distincion, inhalado este micróbio del pus á los ratoncitos blancos es inerte, mientras la inhalacion del neumococus les produce la pulmonia.

Existen otros varios microorganismos, como el *micrococo de la epiemia de los conejos*, el *micrococo de la gangrena progresiva*, de los que no nos ocuparemos por su escasa importancia práctica, y que, sin embargo, formaron la base de los estudios experimentales de las enfermedades de infeccion.

Erisipela

Esta enfermedad hace tiempo que se la consideraba como resultado de una infeccion ateniéndose á su punto de partida, es decir, á su desarrollo por una solucion de continuidad en la piel, mejor que efecto de una linfagitis ó flebitis como creian algunos, habiéndose demostrado actualmente su verdadera causa bacteriana descubriendo los cocos en los espacios linfáticos de la piel, bajo forma de estreptococus en cadenas, que cultivadas en gelatina ha producido con ellos la verdadera erisipela, lo mismo en el hombre que en los animales.

Es un coco estremadamente pequeño dispuesto en forma de cadenas ó estreptococus, que no liquida la gelatina; cultivado en este medio nutritivo se desar-

rolla bajo la forma de colonias blancas y redondeadas, que toman la apariencia de expansiones radiadas como las hojas de helecho, é invaden toda la raya de puncion.

Esta bacteria puede confundirse con el *estreptococcus piogénicus*; pero se verá que las cadenas de este último no son tan regulares y, sobre todo, porque la inoculación no produce la difusión erisipelatosa propia de aquel.

Se colorea en soluciones acuosas de anilina, y para los cortes de la piel deben hacerse dobles coloreaciones y se encontrarán los cocos en la forma especial de cadenas.

Este microorganismo es sumamente infectante; pues, comunmente se apreciaban pequeñas epidemias de erisipelas, en particular en las salas quirúrgicas de los hospitales, que complicaban las heridas, y limitaban la práctica de operaciones por temor de la erisipela, que en la mayoría de casos producía abscesos de mal carácter, y el cuadro de síntomas conocidos y que no son de este lugar.

El conocimiento que actualmente tenemos acerca de esta enfermedad parasitaria, es debido á Zehleisen que la ha estudiado detenidamente tanto en el hombre como en los animales.

Bacilo del tifus abdominal

Este bacilo es corto y grueso conteniendo esporos, su largura es variable, pero generalmente son tres ó

cuatro veces más largos que anchos, conteniendo dos ó tres gruesos esporos; algunas veces se presentan en forma de filamentos. Este bacilo se encuentra en la mucosa intestinal, en las glándulas mesentéricas, en el bazo, en el hígado, riñones, aunque su punto de partida sea la mucosa intestinal donde se encuentran en los casos recientes solamente, pasando despues al interior de los órganos.

Penetra en el organismo con las bebidas, en particular con el agua de pozo.

Cultivado en gelatina, se observa el desarrollo á las 24 horas, no creciendo sino en la supeficie del tubo, y apenas en la línea de puncion; no liquida la gelatina.

Sobre las papas es más característico que en los tubos de gelatina; la superficie aparece inalterable á simple vista, despues como sucia, hasta que forma una película cubierta de bacilos; igualmente crecen sobre el suero de la sangre solidificado.

Con una temperatura de treinta á cuarenta grados se verifica la esporulacion en tres ó cuatro dias; y á la temperatura de 20, empieza á los ocho dias á verse alguno que otro espora aislado.

La inoculacion de los bacilos ha dado resultado en los animales, lo que comprueba sea el bacterio originario del tifus, por cuanto su constancia en la mayor parte de los casos, y su ausencia absoluta en otras enfermedades; sin embargo el Dr. Hein ha hecho un importante descubrimiento con la puncion del bazo, en estado vivo, donde

se encuentran los bacilos: y procede esterilizando una aguja de Pravaz con la que por aspiracion estrae jugo del bazo, encontrando la bacteria que sirve de medio diagnóstico, por ser tan inofensivas esta clase de punciones.

No hay para que encarecer la trascendencia de este medio de comprobacion, que haciéndose estensivo á otras enfermedades, podrá llegar á constituir el principal elemento clínico, como ejemplo el examen de los esputos en casos de tuberculosis, y valiéndonos de punciones comprobadoras en otros órganos, poder así plantear un diagnostico seguro.

Cólera

La última epidemia de cólera que hemos observado en Buenos Aires, nos ha permitido practicar toda clase de estudios acerca de esta enfermedad, hemos practicado autopsias, y estraido del intestino el material de cultura. Mi querido amigo el Dr. Susini á quien he acompañado en las autopsias en la casa de aislamiento, y en los pacientes estudios del laboratorio, ha enriquecido el material de trabajo. y estamos en posesion de preciosos y fieles datos, que nos permitirian hacer una extensa monografía sobre el cólera, pero, teniendo presente que estos ligeros apuntes van destinados á los estu-

diantes, nos abstenemos, por ahora de este trabajo, limitándonos á someras indicaciones, suficientes para el conocimiento de lo que puede exigirse á un alumno, sobre este punto, y dejando para más tarde el estudio sério que emprenderemos con la importante colaboracion del jóven sabio, que descubrió en Buenos Aires el bacilo coma, en el primer caso presentado.

El cólera es una enfermedad bacteriana debida á la presencia del bacilo coma, que inyectado á los animales, en la forma que luego diremos, produce la enfermedad en ellos, plenamente demostrada por el sabio Koch, que fué quien en Egipto, y en la India, apreció la bacteria característica.

Este bacilo se presenta bajo la forma ligeramente encorbada, y largo como dos terceras partes del bacilo de la tuberculosis, aunque algo más grueso; segun dice Koch, el coma es el punto de union del bacilo y el espirilo; y tiene una dimension de una á cinco milésimas, que varia segun el cultivo, y su mayor ó menor permanencia en él, pues así como en la cultura reciente son finos, los observamos engrosados en culturas viejas, y lo mismo cortos que alargados en espirilos segun sea el medio nutritivo, variando considerablemente en las formas de involucion.

Estraido reciente del intestino son bastante encorbados y gruesos, mezclados con granulaciones y bacterias de diversa índole: algunas veces forman S S por la union de dos bacilos, en otros circulos, lo mismo que ligeras, espirales.

Este bacilo no tiene esporos, y se encuentra en los productos diarreicos, y algunas veces en los vómitos de los coléricos: reside en el intestino delgado, no habiéndose encontrado ni en la sangre ni en los órganos.

Este bacilo está dotado de movimientos rapidísimos como lo observamos poniendo una gota del cultivo en caldo, sobre un porta objeto.

Se desarrolla en todos los medios nutritivos ligeramente alcalinos, caldo, leche, gelatina, agar-agar, papas, suero de la sangre.

Cultivado en gelatina presenta una especialísima evolución que lo distingue perfectamente de otros microorganismos semejantes á el en cuanto á la forma.

En las placas de la gelatina se desarrolla desde las 24 horas en forma de pequeñísimos puntos que van creciendo á la temperatura de 18 grados. Estas colonias examinadas al microscopio se presentan como manchas pálidas circulares de contornos irregulares, que crecen paulatinamente, presentando una superficie rugosa y brillante como si estuviera espolvoreada con finos pedazos de vidrio; á medida que se desarrollan los bacilos va liquidándose la gelatina de los contornos, hundiéndose, como es consiguiente, la colonia hasta quedar en el fondo.

Cultivado en tubos de gelatina á la temperatura de 18 grados, se nota á las 24 horas un aspecto granujiento y brillante en la línea de puncion con la aguja de platino, y una pérdida de sustancia en la superficie que es caracte-

ristica; poco á poco se forma en la parte superior una especie de embudo, que paulatinamente va ensanchándose y descendiendo como el resto de la puncion, hasta liquidar la gelatina del tubo, depositándose en masa informe en el fondo. Esta evolucion es patognomónica y la hemos seguido cuidadosamente en el laboratorio, empleando 28 dias para descender y liquidar por completo la gelatina, como puede comprobarse con los cuadros que tenemos dibujados de cada 24 horas: alli se puede apreciar la forma de la colonia con su color blanco sucio destacándose en el topacio de la gelatina; dia á dia observamos agrandarse el embudo y progresar la línea, cuya evolucion no puedo detallar aquí en atencion á los estrechos límites de este trabajo.

La cultura sobre papas forma en la superficie una película amarillo-oscuro si se le tiene en una temperatura de 20 á 30 grados.

En agar-agar coloniza bien, formando elevaciones blancas irregulares.

Cultivado el coma en caldo nutritivo, como aerobio que es, forma á las 24 horas una película sucia en la superficie, donde se le encuentra en estado puro. Este cultivo lo practicamos mezclando una tercera parte de material diarreico con caldo esterelizado como aconseja Schottelius; permite demostrar á las 24 horas el bacilo puro, como lo hemos verificado en el laboratorio por repetidas veces, procedimiento de gran valor cuando tengamos que informar brevemente en un caso sospechoso.

Se desarrolla bien, á una temperatura de 48 á 50 grados, se detiene descendiendo de 40, resiste aproximadamente 45 gr. bajo cero, y muere á una temperatura de 70 á 80 grados: ó cuando se le deseca.

En el cuerpo, en las deyecciones, no pasa de cinco á ocho dias el maximun de su vida, pero en el agua puede vivir un mes y más, pues en las aguas del puerto de Marsella duraron hasta 84 dias.

Tenemos en el laboratorio dos culturas viejas una de agar-agar que data de 148 dias, y en esta cultura los tenemos mezclados con cuerpos redondos, estando los bacilos engrosados y dispuestos para tomar la coloracion; de esta cultura se han obtenido en placas magnificas colonias que seguimos cultivando convenientemente: no podemos apreciar cuanto tiempo durará la conservacion en el agar-agar.

En gelatina que data de 90 dias, los tenemos tambien presentando formas degeneradas con muchos corpusculos, de cuya cultura tambien hemos hecho numerosos sembrados que evolucionan con toda precision como formas típicas.

El desarrollo del bacilo coma, se verifica con rapidez llega á su máximun, se detiene, principia la degeneracion, y concluye por morir, en cuyo caso no se colorea. Las bacterias de la putrefaccion lo matan prontamente, debido tal vez al medio ácido que le proporcionan incompatible con su desarrollo. Los principales elementos de destruccion son el desecamiento, el bi-cloruro hidrargi-

rico, el ácido fénico, y la multitud de sustancias conocidas sobre las que no puedo estenderme.

Mucho se ha discutido sobre el bacilo coma, y muchas son las objeciones que se le han hecho al sábio Aleman: pero, sus completos estudios han llevado el convencimiento que presta la verdad, admitiéndose hoy por todos la especificidad del cóma para producir el cólera-morbo asiático.

Lewis, al encontrar en la saliva un bacilo encorbado igual al descrito por Koch, negaba la acción patogénica; pero éste, demostró que el bacterio encorbado de la saliva no se desarrolla en la gelatina, y, por lo tanto, no son iguales.

Finkler y Prior atestiguaban con un bacilo encontrado en 20 casos de cólera-nostras, que el descrito por Koch no era el específico, porque el encontrado por ellos era igual. Koch estudió la cultura de Finkler y Prior, y encontró tres bacilos y un micrococo; dos de los bacilos eran rectos, y uno solo encorbado; pero, un poco más grueso que el bacilo coma; cultivado en gelatina presenta un desarrollo completamente distinto, como hemos controlado en el laboratorio donde tenemos cuadros de culturas tomadas cada 24 horas y pintadas exactamente; con toda precisión se vé la forma distinta del embudo, la de formación de toda la colonia, y la rapidéz con que liquida la gelatina del tubo: además, la cultura de Finkler y Prior despide desde el segundo ó tercero día un olor purulento fuertemente desagradable.

Emmerich, decia haber encontrado en los órganos y sangre de los coléricos un pequeño bacilo que se hallaba puro al lado del de Koch, pero es debido á la impureza de la cultura; y así nosotros no hemos encontrado ni en la sangre ni órganos de los coléricos sometidos á exámen.

El bacilo coma se colorea en soluciones acuosas de anilina, usando los procedimientos comunes. Para proceder rápidamente en la investigacion del coma, se debe recurrir á la preparacion de Schottelius, que mezcla una parte de líquido diarreico con dos de caldo nutritivo; lo coloca en un frasco de Erlenmeyer que deja abierto y lo somete por 42 horas á una temperatura de 50 grados: en la película que se forma en la superficie podemos tomar los bacilos y colorearlos sencillamente.

El bacilo penetra en nuestro organismo con las bebidas ó alimentos, pero siempre por la via gástrica, y su desarrollo provoca el cólera-morbo asiático.

En el laboratorio hemos practicado los estudios experimentales de Koch sobre chanchitos de la India, y hemos obtenido igual resultado.

Operamos de esta manera:

Se pesa el conejo, y se le inyecta despues en el estómago valiéndonos de una sonda flexible núm. 2, una solucion alcalina de carbonato de soda al cinco por ciento, en cantidad de 5 gramos: en seguida se le practica en la cavidad abdominal una inyeccion de tintura de opio con una geringuita de Pravaz, en proporcion de un gramo por cada dos cientos de peso del animal: y á los treinta

minutos con la misma sonda se introducen en el estómago diez gramos de agua filtrada por filtro Charberlan, en la que se disuelve una porción de cultura pura de bacilo coma.

De esta manera hemos neutralizado los medios ácidos del aparato digestivo, inapropiados para el desarrollo del bacterio, y con la inyección de tintura de opio paralizado los movimientos antiperistálticos del intestino.

El chanchito se narcotiza pronto, á la media hora, ó tres cuartos, y muere del primero al tercero día.

Hemos notado en las experimentaciones, un notable descenso de la temperatura en los chanchitos de la India inoculados, apreciable con la mano comparándola con otro conejo que no la había sufrido: me estendería sobre este punto detallando las particularidades de la autopsia, pero las omito por razones de brevedad.

Muermo

Esta enfermedad transmitida de los animales al hombre, ha sido estudiada por Löffler que encontró el bacilo característico á que debe su origen, siendo excesivamente variables las manifestaciones que produce.

Este bacilo presenta diversas formas, según el período de su desarrollo, apareciendo al principio bajo la forma de bastoncillos finos como los de la tuberculosis; luego se hacen un poco más gruesos presentando en su interior

unos puntos más claros que son los esporos; adoptando, por último, la forma de granulaciones; cultivados á una temperatura de 39 grados, se observan como filamentos de una largura cuatro ó cinco veces mayor que la forma primitiva.

Cultivados en el suero de la sangre á una temperatura de 37 grados, se desarrollan al tercero dia con el aspecto de gotitas transparentes, que pronto se tornan en blanco-grisáceas, y de aspecto viscoso; que deja en la parte inferior del tubo un precipitado amarillo.

Liquida este bacilo la gelatina, donde se desarrolla formando colonias como masas blancas.

Cultivados en papas presenta una superficie morenuzca trasparente, que se desarrolla en ocho dias con 37 grados de temperatura.

Inoculado, á los chanchitos de la India el bacilo obtenido así por culturas puras, contraen el muermo, constatándose en las glándulas linfáticas y en los focos caseosos, los bacilos especiales.

Se colorea en su primer grado de desarrollo con la violeta de genciana; y mas adelante con azul de metileno que los ataca débilmente.

Para colorear los cortes del micrótopo se emplea la fuschina de Erlich.

La diferencia con el bacilo de la tuberculosis en cuanto á la coloreacion consiste en que el del muermo se decolora con el ácido nítrico.

Carbunco ó bacillus antrácis

Este bacilo descubierto por Davaine segun unos, y por Pollender segun otros, y estudiado por Pasteur y Koch, que consiguieron el primero sus preciosas vacunas preservativas que lo han inmortalizado, y el segundo los esporos que despejaron los puntos oscuros de su transmisibilidad, produce la enfermedad conocida entre nosotros con el nombre de grano malo, igual al de carbunco; identidad ya reconocida de una manera clara y positiva.

Este bacilo se presenta bajo la forma de bastones de una largura de cinco á veinte milésimas de milímetro, y un grosor de uno, ó uno con veinticinco; se multiplican por escision transversal.

La segmentacion aparece por lineas claras que dividen los bacilos en segmentos, y estos segmentos son tanto mas característicos, cuanto que ellos solos presentan la particularidad de ser mas anchos y escabados en sus estremidades que en el centro, de manera que entre los segmentos queda un espacio claro en forma de elipse. No tienen movimientos propios.

Pasteur lo clasificó entre los aerobios, y por eso se desarrollan dentro de los vasos en medio de la sangre que contiene oxígeno, presentándose allí bajo la forma de bastoncillos ó filamentos más cortos, que los

observados en culturas artificiales, no produciéndose los esporos dentro del organismo.

La temperatura más apropiada para que se desarrollen los bacilos es de treinta ó cuarenta grados: Segun el grado de temperatura, así aparecen los esporos, se hace granuloso el contenido celular, y aparecen en el interior de los filamentos los pequeños corpúsculos brillantes, que constituyen los esporos, los cuales salen, quedando en estado libre; los esporos son ovóideos y circundados de una masa redonda trasparente.

La humedad, el calor y el medio poco nutritivo, y especialmente el oxígeno producen la esporulacion.

Este bacilo liquida la gelatina y se desarrolla bien en el caldo, agar-agar, en papas, en las infusiones y en todos los medios de cultura. Las altas y bajas temperaturas lo matan facilmente, pero no así á sus esporos que son excesivamente resistentes.

Cultivado en gelatina se nota el desarrollo en filamentos entrecruzados, que poco á poco van descendiendo al fondo del tubo, dejando trasparente la gelatina liquida, y quedando allí como una nubécula; si se toma de esta cultura en el porta objetos, presenta al microscopio un entrecruzamiento de hilos en forma de red informe.

Con las papas se desarrollan perfectamente y esporulan; dan una superficie blanco-mate que poco á poco se repliega: los filamentos en este medio nutritivo son mas largos.

Este bacilo puede confundirse con la sola vista al microscopio, con el bacillus subtilis; pero este último es mas delgado, y sus estremidades no son mas abultadas que el centro; además el subtilis es muy inmovible mientras el antracis no posee esta cualidad; últimamente, en la cultura es imposible confundirlos, por cuanto el subtilis, deja en la superficie de la gelatina una capa ó película espesa, y enturbia la gelatina, mientras que el antracis la deja trasparente: por último en la experimentacion se vé que el subtile no es bacterio patógeno.

Tambien se le podria confundir con el bacilo del edema maligno: pero este es mas corto, no presenta la segmentacion cuando se le colora con anilina: el del adema maligno es móvil; además el bacilo del edema maligno no se encuentra en la sangre por ser anaerobio, solamente trascurrido mucho tiempo despues de la muerte cuando aquella haya perdido su oxígeno.

Casi todos los animales inoculados con el bacillus antracis enferman y mueren, y lo mismo las aves y hasta los animales de sangre fria como las ranas puestas en agua á 38 grados mueren de carbunco, como lo hemos demostrado en el laboratorio, donde se han practicado repetidos estudios en conejos, chanchitos de indias y ratones, para comprobar las vacunas preservativas de Pasteur, que han servido al Dr. Susini en la provincia de Entre Ríos donde ha llevado á cabo pacientes y tras-

cendentales resultados que serán objeto de un trabajo especial al que no quiero quitarle el interés estractándolo aquí.

En nuestros trabajos de laboratorio hemos observado siempre un aumento del bazo donde se encuentran los bacilos en gran cantidad y nunca en los músculos; siempre inyectamos una pequeña cantidad de cultura debajo de la piel, ya sea en agar-gar; gelatina ó papas.

Hemos tenido oportunidad de constatar un hecho ya demostrado por Branell, en dos vizcachas muertas por inoculación del carbunco, encontramos dos fetos, en las cuales no se demostró la presencia del bacilo.

Esta bacteria penetra ó por soluciones de continuidad, ó por la vía gástrica, en forma de esporo, que al llegar al intestino en el medio alcalino, se desarrolla y produce la infección: La coloración se hace como todas las demás bacterias en soluciones acuosas de anilina.

Este bacilo puede atenuarse y formar la vacuna preservativa de Pasteur: la atenuación se opera manteniéndolo en caldo neutro á una temperatura de 42 grados constantemente durante seis días; á la de 20 grados durante treinta días seguidos, y así el bacilo vegeta sin cambiar su naturaleza, y no esporula: pero por medio de inoculaciones especiales, puede tornarse otra vez virulento, cuyos procedimientos para el estudio de las vacunas, creo innecesario aquí el describir; restándome solamente decir que los esporos son

escesivamente resistentes, que pueden conservarse por muchos años sin que pierdan su poder virulento, como le ha demostrado Koch, que los conserva en hilos procediendo de esta manera.

Cultiva el bacilus antracis sobre papas y las somete á una temperatura de 30 grados hasta que se hayan desarrollado los esporos una vez constatado el hecho se rasda toda la superficie de cultura con un cuchillo bien esterilizado y frio, y se deposita el producto así obtenido en un vidrio de reloj previamente esterilizado y se mezcla el todo con agua filtrada y esterilizada.

Se disponen hilos de seda debidamente esterilizados en la estufa, y se cortan en manojos de medio centimetro de longitud, y así se les estiende en la solucion formada en el vidrio del reloj para que se empapen íntimamente en aquel líquido, lo que una vez obtenido, se les estiende en hebras sobre una placa de vidrio esterilizada para secarlos, procurando el taparlos con una campana ó cosa análoga que los ponga á cubierto de los gérmenes del aire.

Cuando los hilos se han secado se les pone en frascos de vidrio debidamente esterilizados, y se los tapa herméticamente, pudiéndolos conservar largos años con su poder virulento, como lo ha comprobado Koch conservando los esporos en hilos así preparados, trascurridos diez ó doce años.

Fiebre recurrente

Spirocheta Obermeier—Esta bacteria que es una espiroqueta se encuentra en los individuos atacados de fiebre recurrente, pero solamente en el periodo accesional, faltando durante los intervalos de esta.

Aparece bajo la forma de filamentos rizados excesivamente móviles, presentando en sus extremidades una especie de pestaña; tienen un diametro de diez y seis á cuarenta milésimas, y se encuentran solamente en la sangre.

Segun Albrecht, en culturas de sangre ha observado esporos visibles á un aumento de mil diametros, esporos que suceden á los espirilos durante las remisiones.

Este bacilo se colorea bien con violeta de metilo.

Inoculando á los monos la sangre que contenga la espiroqueta, se reproduce la enfermedad, encontrándose la bacteria en gran cantidad en estos animales muertos.

Bacteria de la pulmonia ó neumococcus

Esta bacteria tiene la forma oval ó redonda, aislado, y por lo común, reunidos de dos en dos, ó en cadena; el carácter de este bacilo es de tener, aunque no siempre, una capsula redonda, oval ó cilíndrica, segun se trate de

monococcus, diplococcus, ó estreptococos: que se colora muy débilmente en soluciones acuosas de genciana y fuschina; esta forma de cocos es evolutiva, porque en realidad es un bacilo, por su forma alargada como puede observarse dentro de su capsula.

La capsula constituye un carácter importantísimo; no apreciable en otras bacterias patógenas. se encuentran en el período de acenso de la enfermedad, y desaparecen desde el quinto ó sexto día: En los animales inoculados lo encontramos en el esudado y en la sangre provistos de su correspondiente capsula: pero no en las culturas sobre papas, y en gelatina; y para hacer aparecer la capsula, basta tomar la cultura de estos medios y trasplantarla al caldo con una temperatura de 34 á 35 para observarla á los pocos minutos, la cual se colorea fácilmente con una solución acuosa de genciana calentándola á 40 grados y lavándola con agua destilada, entonces la capsula coloreada débilmente permite reconocer las bacterias teñidas intensamente.

El neumococcus se encuentra en el esudado de los alveolos pulmonares, en los productos de la pleura, y también ha sido encontrado en el polvo de una habitación en que hubo una epidemia de pulmonía crupal.

Cultivado en gelatina presenta en el punto de la punción con la aguja, una colonia en forma de cabeza de clavo, ó eminencia esférica de un color blanco perla, y la gelatina se liquida á las 5 á 6 semanas.

En papas se desarrollan rápidamente formando peque-

ñas gotas grisáceas, desde el segundo día aparecen algunas burbujas, que distienden el gas que se ha formado en la cultura.

El neumococus cultivado, ó tomado del esudado directamente, produce en los chanchitos de indias la pulmonía, inoculándolo por inyeccion en la cavidad torácica: hemos practicado en el laboratorio algunos experimentos para comprobarlo, y el resultado ha sido decisivo: Inoculamos á un chanchito con cultura pura, á los dos dias la disnea era muy marcada, los movimientos respiratorios eran acelerados y entre-cortados, viéndose el esfuerzo que hacia el animal para llevar aire á sus pulmones; poco á poco la disnea fué creciendo hasta que al cuarto dia murió el chanchito; en la autopsia encontramos un abundante esudado pleural, y una hepatizacion de los pulmones envueltos en un abundante líquido fibrinoso, Los neumococus se encontraban en grandísima proporcion provistos de su cápsula, tanto en el esudado como en la sangre.

Así pues la pulmonía es una enfermedad bacteriana, debida al neumococus, ó sea un bacilo provisto de cápsula en ciertas condiciones, que presenta cultivado en gelatina una colonia en forma de clavo, y que sobre las papas desarrolla burbujas de gas. Esta bacteria linoculada á los chanchitos de indias produce una intensísima pleuro-neumonía donde se encuentran en abundancia los neumococus.

Blenorragia

Esta enfermedad es debida á la presencia del gonococcus, pequeño organismo, que se sitúa en las mucosas, y así se le ha encontrado lo mismo en la uretra que en la conjuntiva, y lo mismo en las artritis blenorragicas dentro de los glóbulos purulentos.

El descubrimiento del gonococcus ha traído un importante contingente á la clinica venerea; pues, como hemos podido comprobar ya varias veces, individuos al parecer sanos han presentado el gonococcus, debido al periodo estacionario de la uretritis posterior, que como se sabe, á la menor escitacion se revela bajo la forma aguda: bastando un exámen por medio de la coloreacion sobre laminilla de vidrio con el esudado uretral, para distinguirlo y poder ó no afirmar la curacion de la blenorragia.

Estos cocos los encontramos fuera y dentro de las células epiteliales de la blenorragia, como granulaciones que destacan en medio de los núcleos de la célula, dentro de la cápsula, y tambien formando pequeñas masas en grupos de ocho ó cuatro en el intersticio de los glóbulos, sin que hayamos podido apreciar la diferencia que exista entre los que han atravesado el glóbulo purulento, y los que sobrenadan en el líquido blenorragico.

El gonococcus produce por inoculacion en las mucosas una violenta inflamacion donde se encuentran despues en

mayor número; sin que hasta ahora se haya producido la blenorragia á los animales, que tampoco la presentan espontáneamente, pero si al hombre como lo demuestra el decisivo experimento de Bockhart inyectando en la uretra á un paralítico casi moribundo una geringa de Pravaz llena de una cultura á la quinta generacion, produciendo una violenta blenorragia con propagacion al riñon derecho: despues de la muerte acaecida seis dias despues, se encontraron en la uretra gran cantidad de gonococus, con las alteraciones en la mucosa que son consiguientes.

El cultivo sobre placas de gelatina, segun dicen, ha dado unas colonias diversas, que siendo unas amarillentas ó naranjadas presentaban al microscopio la semejanza del gonococus; otros tenian todos los caracteres del estafilococus aureus, lo que comprobaba no era el gonococus, que no se desarrolla en gelatina.

Loeffler y Bumm han inoculado con cultura pura á una mujer en la uretra, y han ocasionado al dia siguiente una tumefaccion y á los pocos dias una blenorragia típica, donde abundaban los gonococus.

Edema maligno

Este bacilo descrito por Pasteur con el nombre *vibrion séptico*, se presenta bajo la forma de bastoncillos de una largura de tres ó cinco milésimas, por una; aun cuando

aparecen mas largos cuando están reunidos en dos ó mas, tomando la semejanza de los hilos del *bacillus antracis*.

Este bacilo tiene movimientos propios; se le encuentra abundantemente en la tierra de los jardines, en el polvo del pasto, y en la mayor parte de los líquidos putrefactos, el que produce el edema maligno inoculado á los chanchitos de la India, conejos y ratones blancos, citándose el caso de Brieger que por una inoculacion de musgo se desarrolló el edema maligno.

Para cultivar este bacilo se procede á operar como lo hacemos en el laboratorio; tomamos una porcion de tierra cultivada y la desecamos suficientemente, y luego una pequeña cantidad la metemos en el saco que con un bisturí previamente esterilizado hemos hecho debajo de la piel del muslo de un chanchito de la India; se cierra la herida si ha resultado ancha, y se observa que al segundo ó tercer dia, lo mas tarde, el animalito muere.

Encontramos en el lugar de la inoculacion un basto edema situado en el tejido sub-cutáneo, bajo la forma de un líquido trasparente ó ligeramente sanguinolento con algunas burbujas de gas; en este líquido se encuentran en grandísima cantidad los bacilos, y no así en la sangre ni órganos internos, escepcion hecha del raton, que los presenta tambien en la sangre al poco tiempo despues de morir. En todas las autopsias hechas por nosotros hemos visto el bazo tumefacto y de una coloreacion oscura.

Hasta ahora se hacia el cultivo en las papas, colocando dentro de las dos mitades un pedacito de hígado ú

otro órgano, y manteniéndolo á una temperatura de 38 á 39 grados. Del segundo al tercero día se desarrollan en la papa al rededor del pedazo de órgano, las colonias del bacilo en forma de sutil entretegido. Una mitad de la papa así cultivada se pone en otra recién cortada y así se obtenian las culturas para inocular á los chanchitos de la India, que mueren en algunas horas por edema maligno. El mejor medio de cultura se hace como lo practicamos en el laboratorio, poniendo un pedacito de órgano en el fondo del tubo de gelatina, ó haciendo la puncion con la aguja que llegue hasta el fondo, donde se desarrolla la burbuja y empieza la liquidacion de la gelatina, del fondo á la superficie. Hemos reservado el nombre dado por Koch de edema maligno mas apropiado que el de vibrion séptico dado por Pasteur, por cuanto no produce la verdadera septicemia.

Como se observará en las enfermedades que anteceden, ellas son bacterianas, perfectamente demostrada su naturaleza y su trasmision al hombre y á los animales, condiciones indispensables para reputarlas como tales.

Hemos omitido muchos detalles importantes propios de obras extensas, donde todo debe estar previamente constatado, pero que hemos creido inútil el apuntar aquí, en atencion al objeto para que destinamos este trabajo.

CAPITULO VII

SUMARIO

Enfermedades en que se ha encontrado el bacterio probabbele—Sífilis
—Lepra—Malaria—Rabia—Difteria.

En estas enfermedades cuyos organismos vamos á describir, no están plenamente confirmados los estudios hechos acerca de ellas, falta todavia la experimentacion, aún cuando convengamos en que el bacterio descubierto, es el causante de la modalidad patológica.

Sífilis

No puede caber ninguna duda respecto á la naturaleza microbiana de esta enfermedad, tan eminentemente contagiosa; pero sí, respecto á la clase de bacterias encontradas por diversos experimenta-

dores más ó menos competentes, entre los que se encuentra Schutz, el cual, habiendo encontrado un bacterio semejante al de la tuberculosis en los productos sifilíticos, no considera sus estudios lo bastante concluyentes y se sostiene en una prudente expectación hasta tanto que los resultados sean decisivos.

Birsch-Slirschfeld ha encontrado en los chancros, en las gomas y en los condilomas unos bastones cortos de una milésima de longitud, y algo gruesos relativamente, y que se encuentran en las células; ha visto también otros más largos en el tejido intercelular y en las células mismas, haciendo cortes sobre piezas congeladas con el micrótopo de Thoma, y tratados con el ácido acético y glicerina.

Martineau y Blamont han producido erupciones parecidas á las de la sífilis, inoculando á los monos líquidos de cultura hechos con pedazos de chancros donde habían observado bastones; han ido más allá todavía, han practicado picaduras en el prepucio y dicen haberse desarrollado á los 28 días unas induraciones semejantes á los chancros duros, induraciones que han traído en pos de sí accidentes secundarios.

Otros varios, han obtenido en las placas mucosas y en los chancros, bacilos y cocos, los que no han podido transmitir á los animales, pero el que recientemente ha llevado á cabo notables estudios sobre la sífilis es Lustgarten, quien ha encontrado los bas-

tones muy semejantes á los de la tuberculosis y la lepra, con una largura de 3 á 4 milésimas aproximadamente.

Se distinguen en su interior de dos á cuatro puntos incoloros y ovóideos que deben ser los esporos. Se encuentran en el interior de las células de un diámetro doble al de los leucocitos; estas células se hallan en el borde de la infiltracion celular ó en los tejidos, que parecen normales á su alrededor, igualmente se les encuentra á los bacilos entre las células epiteliales del tejido mucoso, al nivel de las papulas sifilíticas y tambien en los chancros indurados.

En nueve casos observados de distintas modalidades sifilíticas, un chancreo del prepucio, ganglio linfático inguinal, induraciones sifilíticas gomosas, gomas periostales, ha practicado cortes, que colorea así: somete los cortes durante doce á veinticuatro horas á la accion de un líquido compuesto de 11 partes de solucion de violeta de genciana alcohólica, por 100 partes de solucion de aceite de anilina; despues las somete por dos horas más en el mismo líquido con una temperatura de 60 grados aproximadamente.

Se le pone por algunos minutos en alcohol absoluto, y despues por diez segundos en una solucion de permanganato de potasa al uno y medio por ciento, haciéndolos pasar rápidamente por una solucion concentrada de ácido sulfuroso, tantas veces como se precise para

decolorarlo; se deshidrata por el alcohol absoluto y la esencia de clavo, y se monta, por último con el bálsamo para llevarlo al microscopio.

Este proceder puede tambien servir para colorear los bacilos de la lepra y de la tuberculosis.

Sin embargo, de tan interesantes estudios, falta obtener culturas puras y hacer la trasmision á los animales ó al hombre para concederles todo el valor que indudablemente tienen, por cuanto los observadores empiezan á constatar la presencia del bacilo descrito por Lustgarten, entre ellos Doutrelepon en un condiloma de los grandes lábios, en cinco papulas, en el chancro del labio superior, y ocho chancros del prepucio.

Tambien Alvarez y Fabel han encontrado un bacilo semejante al descrito por Lustgarten, pero ni unos ni otros han podido cultivar la bacteria hasta ahora.

Sin embargo, los experimentos de transmitibilidad á los monos, produciendo hasta las manifestaciones secundarias, no son bastante decisivos, faltando las colonias puras para completar estos interesantes trabajos, que hasta ahora no pueden aceptarse.

Bacilo de la Lepra

Aun cuando no está demostrado que sea el bacilo que vamos á describir el productor de la lepra, su presencia en los tubérculos, encontrado en la mayor parte de los

casos sometidos á exámen hacen, sin duda, sospecharlo con visos de certeza, faltando su trasmisibilidad para que le tengamos por el específico.

Este bacilo tiene alguna semejanza microscópica con el de la tuberculosis; se presenta bajo la forma de bastoncitos finos de una largura de cuatro á cinco milésimos de milímetro; por una milésima aproximadamente de grosor, y tienen en cada extremidad que es medio afilada ó en punta un esporo; están dotados de gran movimiento oscilatorio.

Se les encuentra entre las células de los tubérculos leprosos, en el espesor del dermis, y su inoculación á los animales no produce resultado, habiéndose practicado numerosos experimentos depositando en la cámara anterior del ojo de los conejos fragmentos de tubérculos sin que la enfermedad se haya reproducido.

Neiser, dice haber obtenido la cultura del bacilo cultivándolo en el suero de la sangre á una temperatura de 37 ó 38 grados, observando despues de algunas semanas, unas colonias en forma de pequeñas películas desarrolladas al rededor de los fragmentos introducidos en el tubo de cultura.

Se colorea perfectamente de la manera que expusimos en su lugar correspondiente; como tambien con solución acuosa de violeta genciana.

Se diferencia del de la tuberculosis, en que se presenta en los preparados desecados hechos con líquido de tubérculo leproso, contenido dentro de las células, mien-

tras el de la tuberculosis está libre lo mismo en los esputos que en las cavernas pulmonares.

Vistos con grandes aumentos se apercibe el de la lepra con las extremidades en forma de punta, mientras el de la tuberculosis es redondeada.

Malaria

Desde antiguo se ha considerado á la fiebre intermitente como producida por especies vegetales ó animales que penetrando en la sangre ocasionaban esta enfermedad.

Los últimos trabajos de Tomasi Crudeli, y de Cuboni y Marchiafaba hacen presentir una pronta aclaracion sobre las dudas que aún se tienen á este respecto.

Klebs y Tomasi Crudeli analizaron el aire agua y suelo de las lagunas Prontinas, y encontraron bacterias, corpusculos ovales, micrococos, y algas diversas: Practicaron culturas con la tierra, y obtuvieron bacilos, esporos y filamentos; los bacilos de una largura de 4 á 6 milésimas; los filamentos un poco mas largos, y los esporos ovoideos y movibles. Los corpusculos ovales son los que originan los filamentos.

Por las culturas se obtienen en 48 horas pequeñas colonias enturbiadas cargadas de bacilos de 4 á 6 milésimas, movibles y acrobias, que tienen los esporos en el centro y sus extremidades, constituyendo así, segun ellos,

las culturas puras, que inoculadas en el tejido subcutáneo de los conejos, les produce una fiebre semejante á la fiebre intermitente.

Se ha objetado á estos estudios que el material inyectado era escesivo, y que el líquido filtrado no producía efecto alguno; y que la fiebre no era de igual naturaleza.

Los últimos trabajos de Tomasi Crudeli, atestiguan la presencia de los esporos del bacillus malarie en la sangre de los conejos inoculados, y lo que es mas importante, que los ha encontrado en el hombre durante la vida, estrayéndolos con una geringa de Pravaz del bazo de los febricitantes. Este líquido obtenido del bazo por aspiracion y cultivado convenientemente, ha producido el bacilo de Klebs y Tomasi Crudeli.

Cuboni y Marchiafaba han confirmado la presencia del bacilo de Klebs en las culturas practicadas con tierra de lugares malaricos, y han obtenido por inoculacion é inyeccion en los conejos, la fiebre con aumento del bazo; han encontrado tambien los filamentos en la sangre de los enfermos durante el período del frio, filamentos dos veces mayores en diámetro que un glóbulo rojo, y de esporos movibles dispuestos en cadenas.

Ultimamente Cecci ha conseguido encontrar el mismo bacilo, y producir la fiebre por inoculacion en los conejos, sin embargo, Laveran no lo ha conseguido; este último dice haber encontrado varios parásitos que son los productores de la malaria, ó sean los cuerpos quísticos.

De todo esto se desprende la confusion que todavia

reina respecto á esta bacteria, siendo lo mas probable que el descrito por Klebs y Tomasi Crudeli, sea en realidad el verdadero productor de la malaria, pero como en las autopsias practicadas no se haya podido comprobar su existencia, queda todavia la duda, necesitando mas hechos para establecer definitivamente la verdad.

Rabia

Vistas las alteraciones funcionales de los centros nerviosos en esta terrible enfermedad, ha inclinado á buscar el micróbio en el sistema nervioso, mayormente cuando Pasteur en sus interesantes estudios de vacunacion antirábica, se ha servido de las médulas diluidas, como todos saben.

Pasteur encontró en la sustancia cerebral pequeñas granulaciones redondas que no consiguió colorear con los colores de anilina, cuyos estudios no ha proseguido como era de esperarse.

Gibier mezclando un pedacito de sustancia cerebral disuelto en agua destilada y perfectamente esterilizada, y agregando á la papilla así formada dos partes de agua, ha encontrado granulaciones refringentes, redondas con un parecido á pequeños cocos conglomerados, movibles cuando se encuentran libres en el líquido, cuyas granulaciones no las encuentra cuando obra sobre sustancia cerebral de animales sanos, sino rabiosos; estas granulaciones no ha podido cultivarlas.

En los cortes practicados con médulas rábicas, endurecidos con el bicrómato de potasa y el sulfato de cobre, y teñidos con hematosilina al 4 por 90 de agua y 40 partes de alcohol y previamente decolorados con ferrocianuro de potasa, ha encontrado Fol grupos de pequeñas granulaciones que semejaban micrococos.

La cultura hecha con la médula rábica ha producido una nubécula, que al cuarto día se deposita en el fondo del tubo de cultura, y este depósito inoculado á los animales les produce algunas veces una rábica bien caracterizada, con un período de incubacion mas largo de lo ordinario.

Si se deseca este depósito sobre laminilla tratadas con la solución de bicrómato de potasa y coloreados con violeta de metilo, se encuentran los mismos micrococos que en los cortes.

Babes dice que en la médula y en el cerebro rábico existe un microbio redondo que se puede cultivar en el suero sanguíneo á 57 grados de temperatura; las colonias se desarrollan lentamente bajo la forma de manchas superficiales: esta cultura dicha pura, inoculada á la segunda ó tercera generacion á los animales les produce la rábica.

Este microbio se encuentra en la superficie del cerebro en las células que contienen granulaciones grasosas, y se colorea por el método de Gram dejando las laminillas largo tiempo en la solución colorante.

Como se vé, estos estudios apenas están iniciados, y

ya se describen bacterias que tal vez sean las productoras de la enfermedad.

Difteria

En esta enfermedad solo se encuentra las bacterias en las falsas membranas y en su parte profunda, es decir, en la que se encuentra adherida con las mucosas; las bacterias son bacilos aislados y micrococos.

Löffler ha observado un bacilo doble de largo del de la tuberculosis, y mas grueso, unas veces derecho y otras ligeramente encorbado, y un micrococo dispuesto en cadena.

La bacteria solamente se encuentra en la parte interna de la falsa membrana, y solo se desarrolla en el suero de la sangre á 37 grados: Las colonias aparecen bajo la forma de puntitos blancos redondeados, que acaban por formar una superficie compacta.

A 60 grados muere la bacteria, y á 20 no se desarrolla: si se inocular en la piel esta cultura á los conejos de India, mueren en pocos dias, presentando en el punto de la inoculacion ó ingerto una infiltracion blancusca hemorrájica, con edema del tejido sub-cutáneo y lo mismo en la pleura.

Si se inoculan en la traquea de los conejos, palomas y gallinas produce una grave inflamacion, con formacion de seudomembranas donde Löffler solamente ha encontrado alguno que otro bacilo.

Los bacilos se colorean con el azul de metileno.

Babes dice que ha conseguido obtener los esporos, los que cultivados en el suero de la sangre han dado el bacilo descrito por Löffler, cuyos esporos se colorean por el método de Erlinch.

CAPÍTULO VIII

SUMARIO

Enfermedades probablemente parasitarias sin que se haya descubierto su bacterio—Fiebre amarilla—Coqueluche.—Disenteria—Gripe—Viruela—Escarlatina—Sarampion.

Conocemos enfermedades que por su naturaleza infecciosa, y por el sello contagioso que llevan en su manifestaciones, deben ser como otras análogas verdaderamente bacterianas; pero que el estudio que se ha hecho de ellas, no es lo bastante concluyente para con certeza poder incluirlas en aquel grupo; los bacterias descubiertas no tienen aun los caracteres, ó más bien las condiciones que se exigen para considerarlas productoras de la enfermedad; lo que ha de decidir, sin duda alguna, su experimentacion ulterior, y los trabajos que se dirijen á este respecto.

Muchas son las enfermedades á las que podemos suponer con fundamento un origen parasitario; pero aquí solamente trataremos de algunas que son actualmente objeto de especiales estudios bacteriológicos.

Fiebre amarilla

Teniendo en consideración la marcha típica de la enfermedad, la necesidad de un cierto grado de calor, la humedad y su residencia en ciertas costas ó rios importantes, todo hace creer evidentemente que la fiebre amarilla es una enfermedad específica debida al desarrollo de una bacteria, que evoluciona en ciertas condiciones especiales que solo las costas presentan.

La mayor parte de los bacteriólogos que han cultivado tegidos provenientes de fiebre amarilla, no han encontrado bacteria alguna; pero esto, como se sabe, no prueba que deje de ser bacteriana la enfermedad, pues, tampoco el cólera presenta bacilos en el parenquima de los órganos, y sí solo en el intestivo y su contenido; y así puede suceder que la fiebre amarilla tenga su sitio especial donde se puedan encontrar.

Con el nombre de *Peronospora lutea* ha descrito el Dr. Carmona un bacilo encontrado en un cadáver de fiebre amarilla. Freire ha bautizado también un pretendido microorganismo con el nombre de *Criptococcus xanthogenicus* que ha resultado ser un corpúsculo de suciedad, ó burbuga de aire, otras veces, y todo menos bacteria, como dicen los bacteriólogos experimentados, pues ni se han coloreado, y es lo más probable que sean debidos á figuras imaginativas, forjadas en el deseo de

encontrar en los productos diarreicos la causa de la enfermedad.

Tambien Lacerda ha descrito como bacterias productores de la fiebre amarilla, partículas de picmento ó cuerpos extraños que jamas deben confundirse con microorganismos, cuando se tienen nociones aunque sean superficiales acerca de las prácticas microscópicas.

Babes practicando cortes del hígado y riñón dice haber descubierto unos filamentos, que observados con grueso diametro se presentaban en diplococos.

Nosotros con el Dr. Susini hemos tenido oportunidad de examinar las visceras y el producto de las secreciones y escreciones de un caso de fiebre amarilla. Las culturas solo nos han dado bacterias de la putrefaccion, y los cortes con el micrótopo revelado solo la degeneracion grasosa. Conviene advertir que la autopsia que se practicó, fué trascurridas 48 horas de la muerte, lo que impidió tal vez encontrar algun bacterio especial.

En el laboratorio del Dr. Koch, tampoco han podido encontrar microorganismos especiales en las visceras, de tres casos sometidos á examen con las mas escrupulosas precauciones.

Por lo que se vé, poco ó nada más propiamente se conoce respecto á los gérmenes productores de esta enfermedad, y lo mismo se podría decir respecto á la accion de las famosas vacunas empleadas en el Brasil y Méjico; practicadas con muy buen deseo, pero con malas nociones científicas, y segun aparece, con no buen resultado

práctico, por cuando se cita un aumento de la mortalidad de 49 por 100, como afirma Trouessart en su trabajo de *Los microbios*.

Coqueluche

La contagiosidad de esta enfermedad ha hecho pensar en su naturaleza microbiana y con sobrado fundamento; no existe propiamente medicación específica, y lo que mas la modifica es el tratamiento llamado antiséptico en inhalaciones, pulverizaciones ó por otros medios.

Se han practicado estudios bacteriológicos, cultivando los productos de la espectoración, donde se dice haber encontrado gruesos cocos en forma de zooglea unas veces, y en cadenas otras; y segun Letzerich inoculado á los conejos en la laringe o traquea por medio de la traqueotomía, se le ha producido una tos convulsa idéntica á la coqueluche.

Burger de Berlin ha encontrado pequeños bastones en los espacios situados entre las células ó dentro de ellas, pero nunca en forma de cadena; estos bacilos son elipsoides y con la particularidad de estar como estrangulados en la mitad, conviene advertir que esta bacteria no ha sido cultivada.

Disenteria

Esta es otra de las enfermedades que se comporta como las ocasionadas por las bacterias, donde se han encon-

trado micrococos en la mucosa intestinal ulcerada ó nó, y al rededor de las grandulas, observados por Prior y tambien por Ziegler, en casos habidos en Zurich.

Babes ha encontrado bacilos elípticos en el líquido de los seudo-membranas; así como tambien diplococos, espirilos y gruesos bastones, y en el tegido sub-mucoso micrococos redondeados y bacilos parecidos al del cólera aunque algo más gruesos que liquidaban el suero de la sangre.

Faltan, como se vé, estudiar los organismos encontrados y hacer espirementos en los animales para atribuirles algun significado.

Gripe

De los estudios bacteriologicos hechos sobre esta enfermedad resulta, haberse encontrado en la sangre cultivada, algunas colonias irregulares de pequeños cocos, que no se sabe si son los productores de la enfermedad al parecer especifica bacteriana, si nos abtenemos á la naturaleza contagiosa de ella.

Viruela

Aun cuando nada concluyente haya respecto á esta enfermedad, los observadores creen haber descubierto al-

gunas bacterias que coinciden con la presencia de la viruela; sin embargo, ni se han obtenido cultivos, ni han podido ser, por consiguiente, trasportados á los animales; las bacterias encontradas parecen ser las de la supuración, como hemos encontrado en las culturas hechas con vacuna animal procedente de Santa Catalina, sin haber descubierto otra clase de microorganismos hasta la fecha.

Las supuestas bacterias de la viruela están situadas en las cavidades del cuerpo mucoso, bajo la forma de granulaciones redondeadas ó ligeramente ovaladas, ó bien en estado libre ó formando masas, se las encuentra también en la superficie de las papilas y de las pustulas y se colorean con la hematoxilina, despues de haber pasado los cortes por una solucion de potasa, ó bien se hace la coloreacion con violeta de metilo.

Los estudios de Koch sobre la viruela no han arrojado luz alguna, habiendo solo observado en las pústulas las bacterias de la supuración.

Voigt ha encontrado sobre placas hechas de vacuna, tres bacterias que ha descrito hace poco; una que da colonias grisáceas, compuesta de pequeños diplococos, y en bastones formados de cocos cuando las culturas se hacen viejas; otra que da cocos grandes, en colonias verdosas; y la tercera con colonia amarillenta-grisacea de pequeños cocos.

En el laboratorio solo se han visto las bacterias de la supuración.

Escarlatina

Poco valor tienen los trabajos efectuados hasta ahora sobre la escarlatina donde se han encontrado cocos redondeados, en la epidermis descamada, tal vez iguales á los que normalmente pueden constarse en gran número; otros han hallado bacilos cortos, y otros, menos afortunados, practicando cortes sobre la piel no han encontrado bacteria alguna.

En los productos de la inflamacion consecutiva á la escarlatina se han descubierto estreptococcus que en nada difieren de los que se ven en la supuracion comun.

Sin embargo de todo esto, es de suponer que la escarlatina sea debida á bacterias que todavia no han podido encontrarse, ó por falta de investigacion suficiente, ó por dejar pasar el período apropiado en que puedan apreciarse, como sucede, por ejemplo, con la fiebre recurrente.

Sarampion

Examinando la secrecion resultante del catarro ocular nasal que precede á la aparicion del esantema, se ha creido encontrar en la preparacion de laminillas colo-

readas por la violeta de metilo, bacterias redondeadas y dispuestas en cadenas, sin movimiento y muy brillantes; cultivadas en cámara húmeda con una gota de gelatina se las observa en diplococus.

En la pulmonia sarampionosa dicen que se encuentran tambien, y que coinciden con los habidos en la secrecion nasal; pero como estos estudios están todavia apenas esbozados, no podemos darles gran importancia, aún cuando consideremos al sarampion como enfermedad parasitaria, como se demostrará algun dia descubriendo el bacterio á que debe su origen.

CAPITULO IX

SUMARIO

Hongos—Generalidades—Mucorinas—Oidiun —Aspergillus— Penicillium—Algunas enfermedades determinadas por los hongos.

Entendemos por hongos los organismos inferiores pertenecientes á la familia de los hifomicetos, ó productores de micelium, que consisten en pequeñas células con una membrana semejante á la celulosa, y de un contenido protoplasmático; para crecer las células se alargan hasta formar hilos por lo comun articulados, y ramificados dicotómicamente.

Los hongos no tienen la importancia patogénica de los esquizomizetas, por cuya razon no haremos más que una ligera mencion de ellos.

En todo hongo podemos distinguir un *thallus* compuesto de células sin clorofila, y que se desarrolla dando lugar á largos hilos denominados hifas las cuales son articuladas, y casi siempre formando ramificaciones que al

reunirse constituyen el *micelium*, en el thallus se diferencian el micelium y la parte de fructificacion; los hilos del micelium penetran con fuerza en la sustancia nutritiva y en las plantas vivas.

Los hongos parásitos no solamente se desarrollan en la superficie, sino que hasta llegan á enviar sus hilos al interior de las células, lo mismo que á las membranas animales que no presentando la bastante resistencia, se dejan atravesar por los hilos de los hongos, como tambien nos sucede en los huesos y los dientes.

Como las bacterias, los hongos tambien forman sus esporos, es decir, células que pueden seguir todas las fases evolutivas hasta formar el ser igual á quien deben su origen; estos esporos se forman en hilos especiales llamados hifas de fructificacion, y que en atencion al modo de operarse ésta, se han establecido las diferencias que sirven para clasificarlos.

Los esporos ó conidias se desarrollan formando los cuerpos de fructificacion, y que han recibido diversos nombres, ya por la enfermedad ó sitio donde se les encuentre, ó ya por la persona que los descubrió primero.

Los hongos necesitan para su nutricion bastante cantidad de agua, así como tambien sustancias orgánicas que contengan carbono y azoe y otras varias, cuyos elementos haciéndolos variar, producen desarrollos diversos de las distintas clases de hongos; pero en cuanto al oxígeno lo precisan para su desarrollo, pues aún cuando algunos puedan desarrollarse en el cuerpo (en los riñones por

ejemplo,) no llegan nunca á la formacion de órganos de fructificacion, y solamente al de un micelium bien limitado.

La presion atmosférica, la luz, electricidad, no tienen gran influencia sobre los hongos, ó casi nula, no así la temperatura que influye de una manera directa; las altas y bajas pueden matarlos, y su mejor desarrollo, aun cuando varia segun las clases oscila entre los 20 y los 57 grados; en general los esporos precisan la accion de una temperatura de 440 á 445 durante una hora para morir.

Su accion sobre el medio en que se desarrolla es casi nula, aún cuando puedan penetrar en el tegido de las plantas vivas, y segun piensan algunos, hasta obrar como verdaderos fermentos; debido á sus condiciones de nutricion, es por lo que no desempeñan tan importante papel como las bacterias, pues, por lo general, se desarrollan á una temperatura menor que la de la sangre, sin que obste para que produzcan enfermedades en la superficie externa de la piel, en el conducto auditivo externo, lengua, boca, estómago, y los encontremos hasta en las cavernas pulmonares, y hasta en la córnea.

Indicaremos aún cuando solo sea de una manera somera cuatro principales familias de hongos, las *mucorinas*, el *oidium*, *aspergillus* y *penicilium*.

Mucorinas

Constituye el principal tipo de esta familia el *Mucor mucedo*, que se le encuentra muy especialmente en los

escrementos y substractum alimenticios, bajo la forma de una cubierta blanquecina que se caracteriza por una especie de tumefaccion, en forma de boton, que es el esporangio, dentro del cual se forman una grande cantidad de conidias ó esporos, se abre el esporangio para darles paso, dejando por un tiempo vacio, y pendiendo de la linfa fructífera.

De estas clases existen muchas variedades que no tenemos espacio suficiente para describir, entre los cuales se encuentran los dos hongos interesantes, recientemente descritos por Cohn con el nombre de *Mucor-rhisopodiformis*, y *Mucor-corimbifer*, y que conservamos en el laboratorio.

Oidium

El oidium tiene la particularidad de carecer de cabeza de fructificacion, y así acontece á veces que las conidias, se encuentren articuladas con el micelium.

Aspergilus

Los aspergilus forman un micelium blanquecino donde se desarrollan en gran número las hifas portadoras de frutos, hinchándose esféricamente en un extremo, del cual nacen las prolongaciones llamadas *esterigmas* que, á su vez, dan tambien nacimiento á

una cadena de conidias. Se distinguen seis especies de *aspergilus*.

Favus que forma unas capas amarillo-doradas, verdosas y tambien morenas, con cabecitas de fructificacion redondeadas, y de color amarillas, verde oliva ó morenas; las conidias, por lo general, redondas y muy rara vez ovales, de superficie finamente verrugosa, y de una coloracion amarillo de azufre y hasta morena.

Aspergilus fumigatus que forma unas capas verdosas, ligeramente anuladas ó grises, con largas cabezas de fructificacion, y conidias redondas muy raras veces ovales, de superficie lisa y trasparente.

Aspergilus niger éste forma una capa de coloracion más oscura casi negra, las conidias son redondeadas, de superficie lisa unas veces, y otras rugosa, con una coloracion moreno-gris en el período de su madurez.

Estos tres, son los únicos que nos pueden interesar, de igual manera que en el Genero *Mucor*, el *corinbifero* y el *risopodiformis*.

Penicilium

El principal tipo de este género lo constituye el *penicilium glaucum*, que es el más común de todos los hongos y que se desarrolla en los substractum menos nutritivos.

El micelium está compuesto de hilos articulados en forma de ramificaciones, cuyos hilos si son portadores de frutos se ramifican de manera, que en uno de sus extremos forma una especie de pincel, donde se producen las cadenas de conidias con una coloracion verdosa.

Los hongos producen enfermedades y alteraciones variadas, cuando se asientan en la superficie de la piel ú otras partes que ya hemos indicado, como tambien si penetran en la sangre.

Cuando se inyectan los esporos de algunas clases de hongos en la vena de la oreja de un conejo, como por ejemplo, los esporos del *aspergilus fumigatus* y *flavesseus*, *mucor corimbifer* ó *risopodiformis*, se produce la muerte del animal al cabo de dos ó tres dias, y por la autopsia podemos demostrar la presencia en todos los órganos y especialmente en los riñones é hígado, de nudosidades blanquecinas que no son mas que el micelio de los hongos que se ha desarrollado en esos sitios, aun cuando no lleguen á la fructificacion.

Se les puede colorear perfectamente bien, valiendonos de la solucion de Ziehl, operando en frio. y las culturas se obtienen con los pedazos de los órganos.

En el hombre los encontramos sobre la piel princi-

palmente determinando el Favus, el herpes tonsurante, la pitiriasis versicolor, la sicosis parasitaria y otras varias.

Gravritz ha conseguido aislarlos debidamente, cultivarlos y provocar con ellos artificialmente la enfermedad en el favus y en el herpes tonsurante.

Se desarrollan á la temperatura ordinaria, pero mejor á 50 grados, y se presentan bajo la forma de hilos ramificados y claramente articulados, distinguiéndose el del favus porque los hilos son encorbados y las bifurcaciones se efectúan en ángulo recto, el hongo del favus es el *Achorion Schoenleinii* y el del herpes el *Microfiton tonsurans*; así como el productor de la Pitiriasis versicolor es el *Microsporon furfur*.

Segun, Grawitz los micelium y conidias de los hongos que se observan en las diversas afecciones de la piel, pertenecen á una única especie el *Oidium Lactis*, cuyas diferencias solo son debidas á los diferentes medios nutritivos.

La coloracion de los micro-organismos cutáneos presenta la dificultad de la grasa que los envuelve, la que es preciso destruir, lo que se consigue poniendo las escamas epidérmicas ó pelos en alcohol por algunas horas, despues en el éter sulfúrico por cinco ó seis horas, estando despues dispuestas para ser coloreadas.

Bizzozero ha propuesto dos medios de coloreacion: El primero consiste en poner la escama ó pelo en

una gota de glicerina ligeramente coloreada con azul de metileno, removerla con la aguja y dejarla por doce ó quince minutos, pudiéndolas poner en un porta-objeto para examinarlo al microscópio.

El segundo método consiste en hacer inchar las escamas, despues de desengrasadas, en el ácido acético al 50 o/o por diez ó doce minutos, se pone en el porta-objetos y se evapora el ácido por medio del calor; se fija el preparado pasándolo por tres veces á la llama como se hace con las bacterias ordinarias, y se le pone encima una ó dos gotas de solución acuosa colorante, se lava en agua, pasados algunos minutos, y se induce en balsamo de Canadá cubriéndolo con una laminilla.

La sustancia colorante puede ser el azul de metileno.

CAPITULO X

SUMARIO

Exámen del aire—Agua—Suelo

En todo tiempo se ha concedido grandísima importancia al estado del agua, aire y suelo para producir enfermedades epidémicas é infecciosas; importancia según las épocas y teorías reinantes, y actualmente en plena época bacteriana, de trascendental resultado; pues, en estos elementos se encuentran numerosas bacterias que difunden enfermedades, cuyos medios de trasmision nos eran antes desconocidos, y que hoy sabemos son debidos al *contagio viviente* ó sean á los microorganismos.

Dada la importancia que tiene el exámen del aire, agua y suelo, para conocer la calidad y cantidad de seres vivos que los pueblan, necesitamos conocer el modo de practicar debidamente estos exámenes de los que la higiene saca grandísimo provecho.

Aire

Para conocer la cualidad y calidad del aire que haya en un volúmen dado, examinaremos metódicamente analizando primero la cualidad de él bajo el punto de vista bacteriológico, como ya indicamos en su lugar, valiéndonos de las placas de gelatina y esponiéndolas al aire por unos veinte minutos ó más, en cuyo tiempo se habrán depositado sobre la placa los microorganismos que contenga, y allí se desarrollarán convenientemente formando colonias fáciles de estudiar aisladamente, de la misma manera que en papas como ya se ha dicho; pero Koch ha querido obtener con un simple aparato los gérmenes que se depositan en un tiempo dado en una columna de aire.

Este aparato se compone de un vaso cilíndrico de vidrio de una altura de 18 centímetros y ancho de 6, en el fondo del cual hay una cajita de cristal de un diámetro de un centímetro de altura por cinco de ancho, destinada para contener la gelatina; este pequeño recipiente se puede elevar y meter fácilmente por medio de una lámina de latón tan larga como el vaso, y formando ángulo recto en el fondo para poder elevar la pequeña caja: el cilindro se tapa con algodón y se esteriliza el todo convenientemente á 150 grados en la estufa seca.

Cuando quiera hacerse el exámen, debe estar frío el aparato; se quita el tapon de algodón con cuidado, y se

eleva poco á poco la cajita tirando de la lámina de latón hasta que haya llegado casi al borde, y entonces se vierten sobre ella cinco gramos de gelatina previamente líquida, volviendo á cerrar el vaso.

Como se ve el objeto de esta manipulación consiste en obtener debajo de la gelatina los gérmenes que hayan ocupado el espacio del vaso, y que se desarrollan convenientemente, pudiéndolos apreciar con exactitud.

Para apreciar la cantidad de gérmenes que contenga un volumen determinado de aire, podemos servirnos del aparato de Hesse que ha resuelto el problema, depositando la gelatina en las paredes de largos tubos por donde debe pasar el aire atmosférico en cantidad determinada, y para dejar en ellos los microorganismos que contenga.

Este aparato se compone de dos partes, la primera constituida por el tubo de vidrio y el trípode; y la segunda por un aparato de aspiración.

El tubo de vidrio tiene una largura de setenta centímetros por cinco de diámetro, cerrado en una de sus extremidades por una tela de goma elástica oradada en el centro por un agujero de un centímetro, y recubierto por otra tela de goma sin oradar: en el otro extremo lleva un tapon de goma atravesado por un tubo de vidrio de 40 centímetros de largo por uno de diámetro, obturado con dos bolitas de algodón que sirven para filtrar el aire que salga del tubo.

Este cilindro descansa sobre un trípode como los que usan los fotógrafos para sostener la cámara oscura.

El aspirador se compone de dos botellas de un litro de capacidad, suspendida una del centro del tripode por un gancho, y la otra suspendida de igual manera de uno de los pies del tripode, mediando una altura entre las dos botellas de diez á veinte centímetros.

Estas botellas comunican entre sí por un tubo de vidrio acodado que atravesando su capacidad y llegando al fondo, permite por su parte exterior adaptar un tubo flexible de goma; el tapon de las botellas tiene dos orificios que adaptan los dos tubos de vidrio, uno por el que se comunican entre sí, y el otro, que sirve en la botella superior para poner en comunicacion las botellas con el tubo, y el de la botella inferior con el ambiente, pudiéndose en caso necesario adaptar el tubo del cilindro á la botella inferior, cambiando su disposicion cuando esté llena, y en ese caso hacer pasar un litro más de aire, como es consiguiente enganchando la que estaba abajo en la parte superior, y aquella donde ésta.

El tubo de goma que pone en comunicacion el cilindro de vidrio con el aspirador, tiene en su mitad una pinza de presion, que abriéndola permite ejercer la presion del aire.

Para operar con este aparato, se vierten en el cilindro de vidrio cincuenta gramos de gelatina nutritiva liquidada, la que se distribuye uniformemente, haciendo jirar al cilindro sobre su eje, y descansándolo sobre hielo para que se conjele la gelatina.

Se llena la botella superior de agua, y la inferior que

debe faltarle una altura de nivel como de cincuenta milímetros; puesto en comunicacion el cilindro y el aparato de aspiracion ó sean las botellas; se quita la cubierta externa de uno de los extremos; y se abre la pinza de presion.

Como resulta un sifon, la presion ejercida, determina un arrastre de aire que se introduce por el agujero del cilindro y deposita en sus paredes los gérmenes que contenga; cuando se ha llenado la botella inferior está terminada la operacion de un volumen de aire de un litro, y si se quiere hacer de dos, basta con invertir las botellas, poniendo arriba la que está debajo y adaptar á aquella el tubo que viene del cilindro.

Como es consiguiente, el cilindro ha debido estar previamente esterilizado á la estufa seca; y mientras dura la operacion, el pedazo de goma que cierra el extremo debe estar sumergido en solucion de bi-cloruro hídrargirico, con el que se tapa una vez terminada la operacion, llevando el cilindro á una temperatura de 18 á 20 grados, para que del primero al tercero dia se desarrollen las colonias y se puedan contar debidamente, y tambien sacarlas para las culturas en medios apropiados.

La capacidad del aire que debe examinarse en cada operacion, debe ser de uno á cinco litros en lugares cerrados como habitaciones: y de diez á veinte en el aire libre.

Los Dres. Koch y Hesse en sus numerosos estudio del aire de Berlin, han obtenido interesantes resultados. El

aire libre con tiempo seco les daba por cada dos litros una bacteria y un hongo.

En Londres se han obtenido cinco veces más de gérmenes que en Berlin; porque el número y la cualidad de los gérmenes están en razón directa con la humedad del aire, y así observaban en Berlin más desarrollo de hongos en tiempo húmedo.

De la misma manera el aire de las habitaciones contiene más, y en particular bacterias; pero las habitaciones desabitadas y cerradas por largo tiempo casi no tienen gérmenes en el aire.

En este momento estamos ocupados en el laboratorio con exámen del aire, valiéndonos de un sencillo aparato ideado por el Dr. Susini, y que describiremos en otra ocasión juntamente con el resultado de nuestros trabajos sobre este importante punto, que abarcará el aire de los establecimientos públicos, teatros, iglesias, escuelas, hospitales, etc. y lo mismo de la ribera que en las capas inferiores.

Agua

Para el exámen del agua debe hacerse principalmente el estudio bacteriológico, pues el exámen químico es secundario, por cuanto un agua puede ser químicamente pura y sin embargo contener bacterias; y al contrario, un

agua químicamente impura puede contener muy pocos gérmenes.

Para hacer el exámen debe procurarse obtener el agua sin que organismos estraños vayan á depositarse sobre ella, para lo cual se deben esterilizar los recipientes y pipetas de vidrio provistos de tapones de algodón con las que se recoje el agua, teniendo la precaución, que si los recipientes esterilizados tienen tapones esmerilados deben recubrirse con capuchas de goma elástica también esterilizadas, manteniendo estos recipientes á baja temperatura si debe pasar algún tiempo para practicarse el exámen, porque un corto grado de calor puede producir el desarrollo de gérmenes.

Con el agua así obtenida se hace el exámen microscópico, poniendo en una laminilla una gota y recubriéndola con un porta-objeto para llevarla al microscopio; y una vez examinado, se deja secar la laminilla para colorearla y se observa nuevamente.

Se sigue la cultura del agua como ya se dijo en su lugar, mezclando una cierta cantidad con gelatina liquidada, estendiéndola sobre placas esterilizadas y graduadas en centímetros cuadrados; de esta manera podemos conocer el número de los microorganismos que contiene, y para que el exámen sea lo mas exacto, procederemos á la contraprueba haciendo culturas de gelatina pura, para determinar el número de organismos que hayan podido depositarse durante la observación y deducirlos del principal exámen.

Como es consiguiente, las placas se pondrán en cámaras húmedas, ó cubriéndolas con campanas humedecidas, y sometidas á una temperatura de 16 á 20 grados.

Como se compende, este examen no puede ser seguramente exacto, porque no todas los microorganismos se desarrollan en iguales medios nutritivos y á igual temperatura, así que las cifras obtenidas con este examen son algo más inferiores que la realidad.

Con este método se ha probado el valor de los filtros, que como el mejor de Chamberlan, deja pasar gérmenes, y que segun Koch, los filtros más bien sirven para contaminar el agua por el depósito que se forma en sus poros, los que tiene que atravesar y algunas veces arastrar tambien.

Las aguas meteóricas son las más impuras, porque haciendo una especie de lavado en la atmósfera, llegan al suelo cargadas de impurezas, que bien se depositen en la superficie, ó penetren en su profundidad, sirven para el desarrollo de los gérmenes en cantidad prodijiosa.

Hay aguas consideradas como excelentes, de una transparencia cristalina, y que, sin embargo, contienen sesenta mil gérmenes por centímetro cúbico.

Actualmente seguimos en el laboratorio de la Asistencia Pública, el estudio de las aguas con el Dr. Susini, ocupándonos ahora del examen de las aguas de la ribera donde se lava la ropa de la ciudad, cuyo es-

tudio se dará á conocer oportunamente con los resultados que hayamos obtenido.

Suelo

El estudio del suelo tiene una grandísima importancia, pues á él vienen á parar en último término la inmensa mayoría de los microorganismos que encuentran condiciones favorables para su desarrollo y conservacion, como piensa Pettenkofer, concediéndole el poder de generalizacion de las enfermedades infecciosas

Se ha demostrado que la descomposicion que sufren algunos terrenos con ciertas sustancias orgánicas, es debido á la accion especial de las bacterias, y Koch ha extraído, como se sabe, del suelo una bacteria patogena del *edema maligno*; así como tambien Nicolaier ha cultivado otra, un bacilo, que inoculado á los chanchitos de la india ó á los conejos y ratones blancos, les produce una especie de tétanos reinoculable.

El examen del suelo se verifica, ya mezclando una pequeña cantidad de tierra previamente desecada y reducida á polvo en un mortero, con una cantidad dada de gelatina liquidada con la que se hace la placa, ó ya se distiende la gelatina solamente, y se espolvorea sobre su superficie cuando está solidificada la cantidad de tierra, valiéndose de una cucharilla ó cosa análoga esterilizada convenientemente.

Como durante la operacion pueden depositarse gérmenes del aire, se hace la contraprueba como en el examen del agua, es decir, se somete la tierra á una temperatura de 160 grados para dejarla esteril, y se mezcla ó espolvorea en la gelatina, para que los gérmenes obtenidos puedan descontarse de la placa sometidas al examen principal, debiendo recubrirse una placa de contraprueba con una lámina de mica, con el objeto de favorecer el desarrollo de las bacterias *anaerobias*.

En estos exámenes, se encuentran, por lo general, bacilos y casi ningun micrococo, lo que se explica perfectamente por la accion de los esporos, que resistiendo la desecacion se desarrollan en la gelatina, constituyendo los bacilos; mientras los micrococos no resisten la sequedad; así que los esporos son los que pueblan los terrenos secos.

La cantidad de gérmenes disminuye, como lo ha provado Koch, á medida que se profundiza el suelo, no encontrándose bacilo, y cuando más, alguno que otro micrococo aislado.

En los terrenos húmedos es donde se encuentran las bacterias más en abundancia, y todavía en mayor número si el suelo contiene detritus vegetales ó animales, por razones sencillas que escuso indicar despues de lo ya dicho.

El estudio del aire, agua y suelo, es de una importancia capital para la higiene de las poblaciones,

pues tanto en tiempo de epidemia, como en los normales pueden deducirse trascendentales resultados, como los vimos, por ejemplo, en la ciudad de Mendoza en el último cólera; la epidemia producía estragos, se pensó en el agua que conducían las azequias, y el Dr. Gil logró por medio de la coción del agua, ayudada por otras oportunas medidas, detener los efectos del flagelo y devolver á la ciudad su estado salubable, porque el agua era el vector de los bacilos sin ningún género de duda, como sucedió también en España en la provincia de Murcia, y creo que en Valencia, si la memoria no me es infiel, donde se propagaba el cólera siguiendo la dirección de las azequias, y bastó no hacer uso del agua para hacer cesar la epidemia en poco tiempo.

Respecto al suelo, se tienen ya probada su acción para el desarrollo de varias enfermedades, que sin mencionar los terrenos palustres, nos limitaremos á consignar lo que hacen en la estancia de las Cabezas en la provincia de Entre-ríos. Reina allí el carbunco entre los animales; se desarrolla, y empieza la mortandad y no cesa hasta que la hacienda no es trasladada á potreros distantes, cuyo suelo está todavía inmune; y repetidas veces han probado la acción del suelo patógeno, por decirlo así, dejando ó introduciendo en él algún animal, que no tarda en contraer el grano malo, prueba irrefutable de la condición del suelo para retener los gérmenes del carbunco, y producir funestos resultados.

De todos es sabido la bondad del aire en el mar y de las montañas, bondad debida á la escasez de microorganismos que los pueblan, así como lo perjudicial de los terrenos bajos, que es precisamente donde en mayor cantidad se encuentra los gérmenes.

Basta con lo ya dicho para comprender la importancia de estos estudios.

Como complemento de estos apuntes, debia seguirse un capitulo que tratara de las enfermedades infecciosas, epidemias, su desarrollo, propagacion y modos de estincion, pero como esto haria mas largo el estudio, nos abstenemos por ahora, y concretándonos á lo ya espuesto, que es cuanto puede exigirse á los alumnos.

FIN

ÍNDICE

	Páginas
Dos palabras.	3
Introduccion.	5
CAPITULO I	11
Qué son las bacterias—Lugar que ocupan entre los vegetales— ¿Existen especies definidas?—Hay constancia en su forma?—Las bacterias pueden pasar por diversas formas, pero siempre tienen una evolucion determinada—La forma no constituye su carácter distintivo—Division en Cocos, Bacilos y Espirilos— Subdivision de estos—Modos de multiplicacion por escision, por endosporos y artrosporos—Propiedades de las bacterias— Su modo de nutricion—Respiracion intramolecular—Cambios con el medio nutritivo—Fermentaciones—Clasificacion . . .	
CAPITULO II.	21
Generacion espontánea—Varias teorías—Esterilizacion	23
Aparato á vapor de Koch—Estufa seca.	24
Sustancias químicas—Esporos y bacterias bajo el punto de vista de la esterilizacion—Relacion de las bacterias con las enfer- medades	28
Son la causa y no su efecto—Condiciones para que una bacteria sea considerada como causa de una enfermedad.	30

CAPITULO III.	33
Medio para determinar la presencia de las bacterias—Microscópio bacteriológico.	34
Modo de examinar las bacterias sin coloracion	36
Con coloracion—Teoría de la coloracion—Diversos tintes—Coloreacion en la laminilla—Coloreacion simple y doble.	37
Coloreaciones especiales—Bacilo de la Tuberculosis.	42
Bacilo de la Lepra	44
Método general de Graham	45
Coloracion de los esporos.	46
Micrótopo	46
Cortes—Modo de preparar los tegidos—Líquidos diversos.	47
Método de inclusion.	48
 CAPITULO IV.	 51
Culturas—Medios nutritivos	51
Medios líquidos—Caldos diversos—Sus inconvenientes.	52
Medios sólidos—Trasparentes y no transparentes	54
Gelatina nutritiva de Koch	55
Agar-agar.	57
Suero de la sangre	58
Leche.	60
Medios sólidos no transparentes—Papas—Zanahoria—Miga de pan	60
Método de aislamiento.	63
Placas—Idea de las colonias—Culturas en puncion—En rayas— Termostatos.	 64
 CAPITULO V	
Bacterias no patógenas	69
Micrococcus prodigiosus	70
Levadura rosa	71
Sarcina—Sarcina amarilla	72
Sarcina naranjada—Sarcina ventriculi	73
Micrococo amarillo del aire.	74
Amarillo verde del agua	74

Leche azul.	75
Bacilus subtilis.	76
Micrococo rojo.	77

CAPITULO VI.

Enfermedades en las cuales está perfectamente demostrada su naturaleza bacteriana	79
Bacilo de la Tuberculosis.	80
Supuracion	83
Estafilococcus piogenicus (blanco y estrino).	84
Extreptococcus piogenicus.	85
Seudoneumococo	86
Erisipela	87
Bacilo del tifus abdominal	88
Cólera	90
Muermo	97
Carbunco ó bacilus antracis.	99
Fiebre recurrente.	104
Pulmonia	104
Blenorragia	107
Edema maligno.	108

CAPITULO VII

Enfermedades en las cuales se ha encontrado el bacterio probable	111
Sífilis.	111
Lepa.	114
Malaria.	116
Rabia.	118
Difteria.	120

CAPITULO VIII

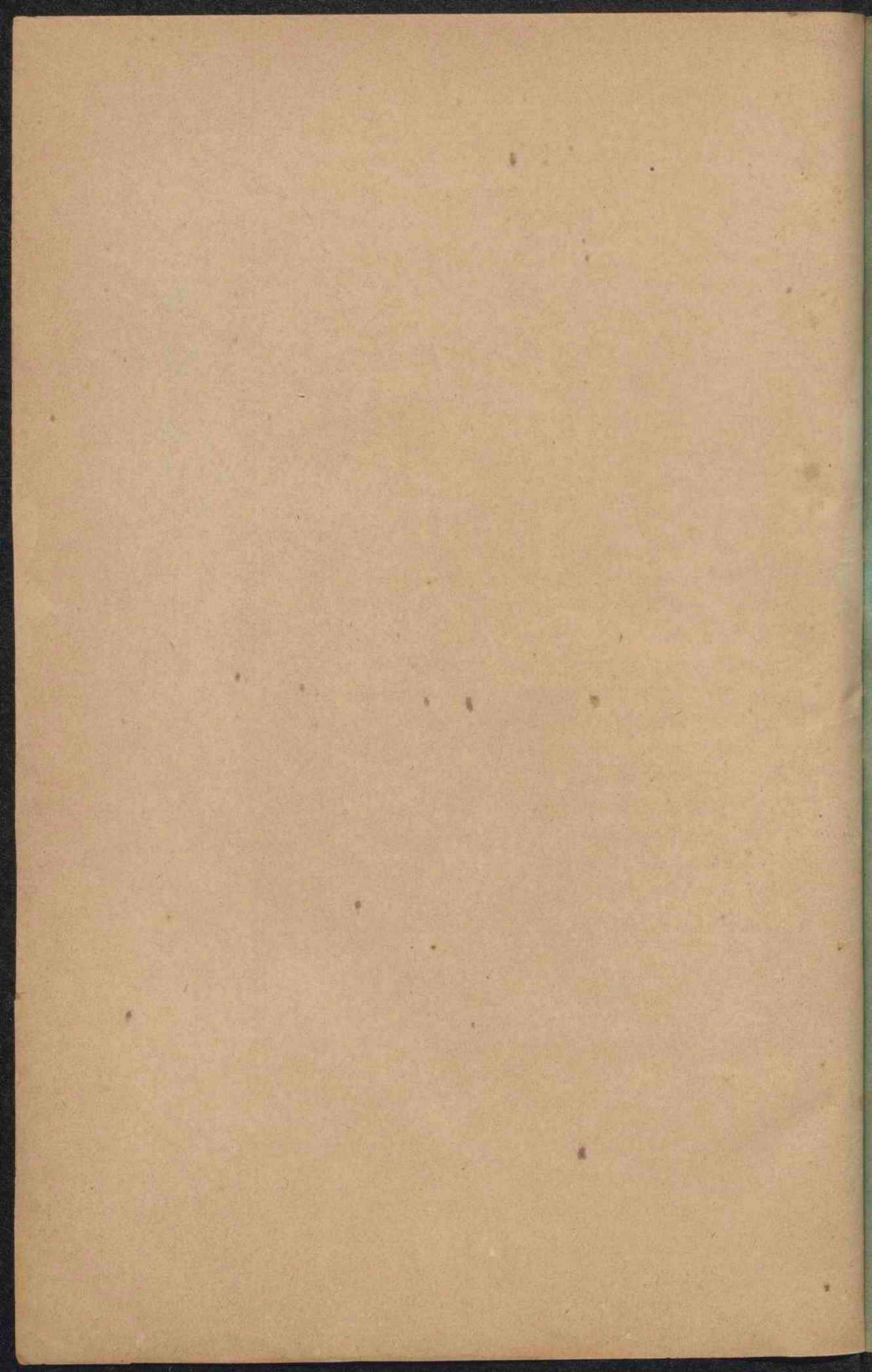
Enfermedades probablemente parasitarias sin que le haya descu- bierto su bacteria.	123
Fiebre amarilla.	124
Coqueluche	126
Disenteria.	126

Gripe.	127
Viruela.	127
Escarlatina	129
Sarampion	129
CAPITULO IX	
Hongos—Generalidades	131
Mucorinas.	133
Oidium	134
Aspergilus.	134
Penicilium.	135
CAPITULO X.	
Exámen del aire, agua y suelo	139
Aire	140
Agua.	144
Suelo.	147

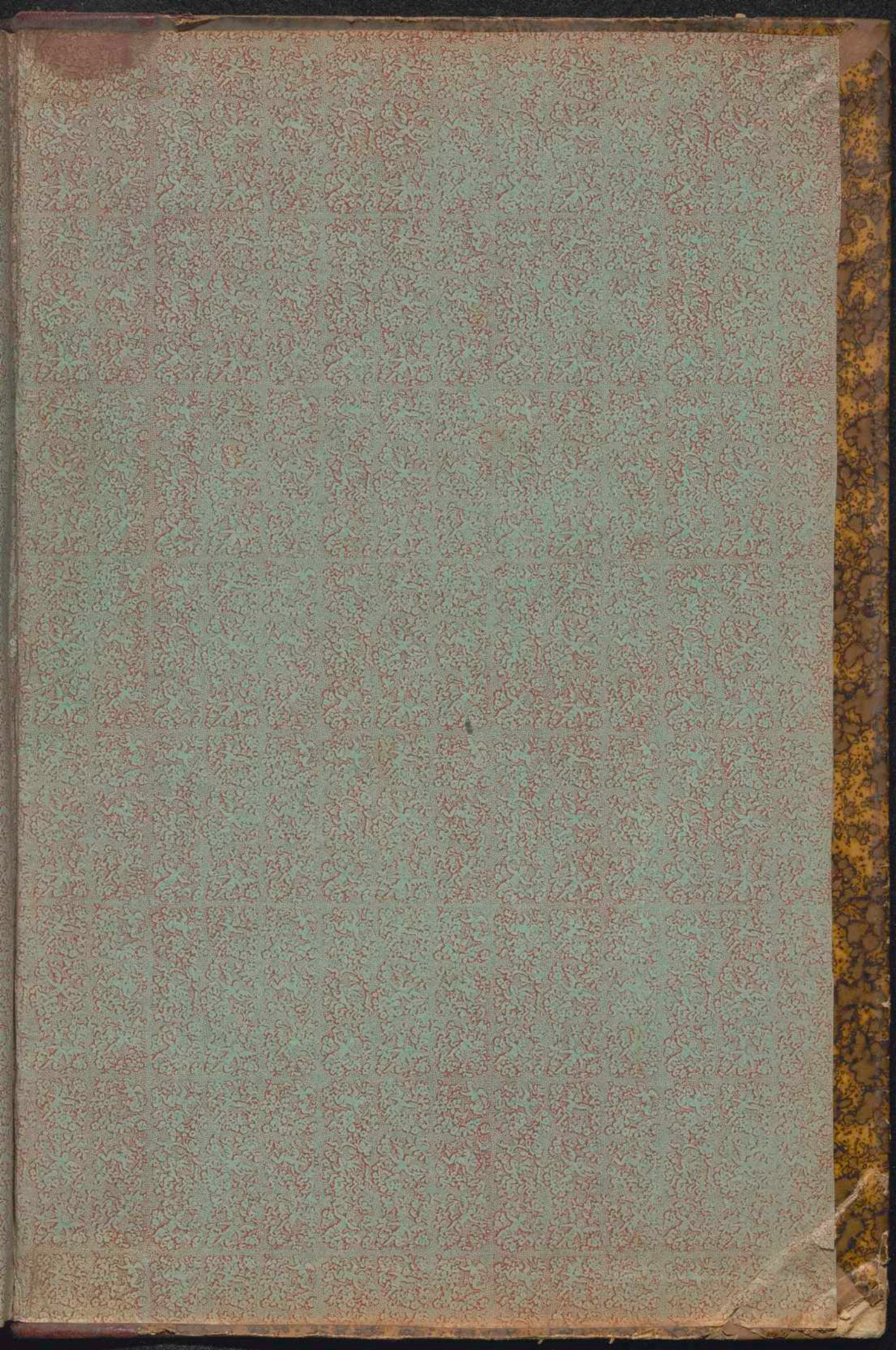
ERRATAS MAS NOTABLES

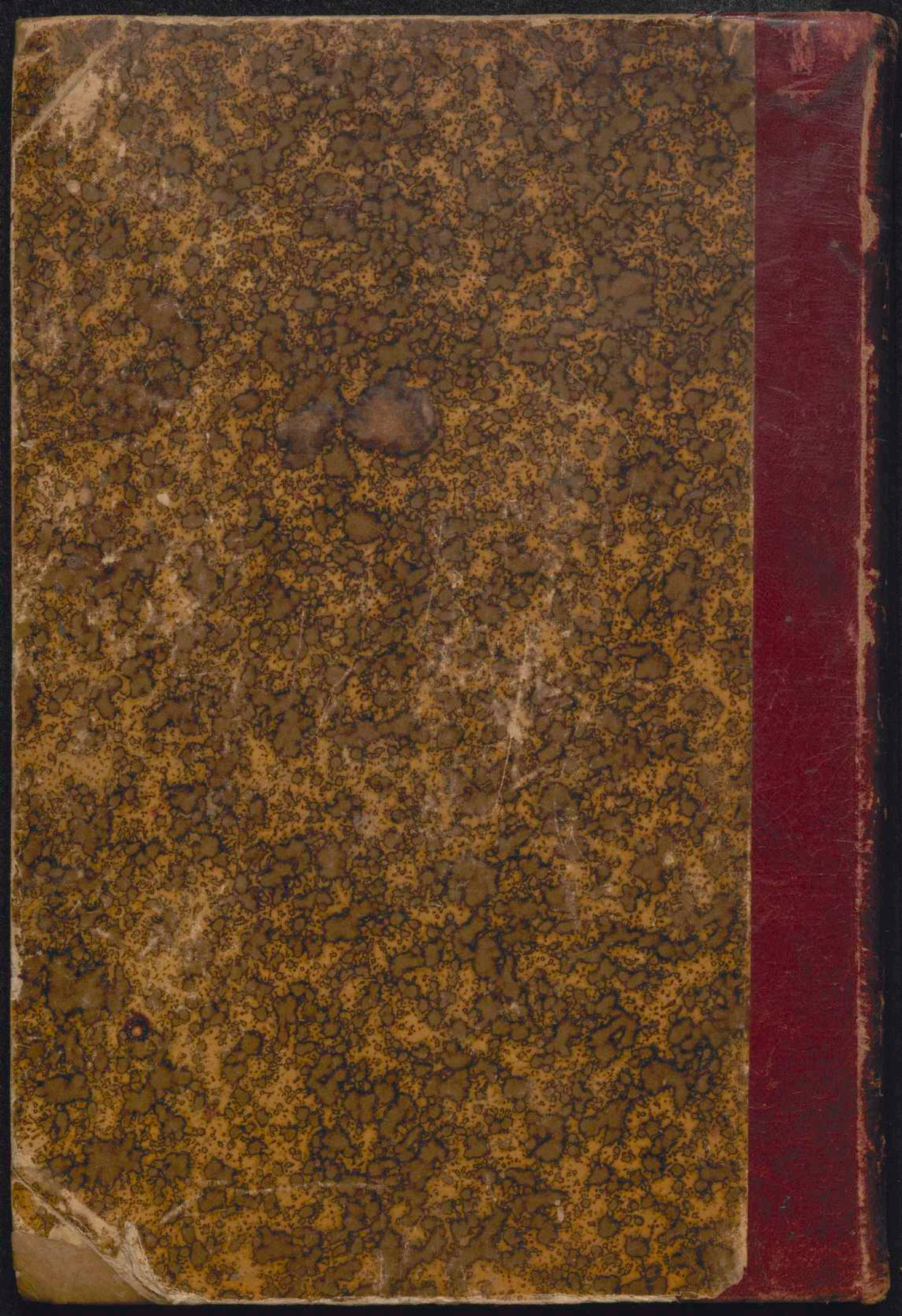
<u>Página</u>	<u>Línea</u>	<u>Dice</u>	<u>Debe decir</u>
6	16	por	por que
44	3	milímetro	miliámetro
44	4	miliámetro	milímetro
44	16	espiroquetes	espiroquetes
25	15	los cultivos	los medios de cultivo.
26	24	admosfera	atmósfera.
28	40	minillas etc,	laminillas etc;
28	44	gelatina;	gelatina,
30	44	clóbeulos	glóbulos
33	8	deialles	detalles
33	44	iluminar	eliminar
33	44	efectos	defectos.
37	23	ablandarlas	incluirlas
40	7	deluyendola	diluyendola
44	13	fusdríca	fuschina
87	3	epiemia	piemia

1002236



1002236





DOMINGEZ

BACTERIOLOGIA