

Anotaciones sobre el Meningococcus

BACTERIOLOGIA - HIJENE - SUEROTERAPIA

POR EL DOCTOR

MAMERTO CADIZC.



ANOTACIONES SOBRE EL MENINGOCOCCUS

Bacteriología—Higiene—Sueroterapia

POR EL DOCTOR

MAMERTO CADIZ C.

Profesor de Higiene i Bacteriología. Jefe de la Sección de Sueroterapia

INTRODUCCION

El meningococcus, jermen específico de la meningitis cerebro-espinal epidémica, fué descubierto por Weichselbaum, bacteriólogo vienés, en 1887 i el descubrimiento confirmado el mismo año por Goldschmidt.

La enfermedad se manifiesta por síntomas semejantes a los de otras meningitis agudas, i su microbio tiene reacciones colorantes i caracteres culturales aná-

logos a los de otros microbios i que sólo en los últimos tiempos han sido bien estudiados.

Más de veinte años, i a pesar de numerosos trabajos, se ha discutido la especificidad del meningococcus que muchos no aceptaban, i se le ha confundido con el pneumococcus, con el gonococcus i con otros diplococcus parecidos. En la Revue de Rist, «*Li diplocoque de la meningite cérébro-spinale épidémique*» publicada en el Bulletin de l'Institut Pasteur (1903, pájs. 385 i 433), el autor sostiene la especificidad del microbio de Weichselbaum con argumentos claros i precisos, sacados principalmente de los estudios experimentales de Albrecht i Ghon, discípulos de Weichselbaum. Tres años antes, en la Tesis de Simonesco (1900) i tres años después, en el trabajo de Vanntenberghe i Grysez (Ann. Inst. Past. 1906), se encuentra aún la duda respecto al verdadero agente de la meningitis.

Hoi está demostrada la naturaleza específica de la enfermedad, se conoce i se sabe distinguir su microbio, se hace mejor el diagnóstico clínico i de laboratorio de las meningococcias i se ha comprobado la eficacia del tratamiento sérico, gracias a los trabajos o investigaciones de Lingelsheim i Westenhoffer, de Netter i Debré, de Flexner i Jobling, de Kolle i Wassermann, de Dopter i Koch, etc.

Parece que la meningitis cerebro-espinal no existe en Chile, pues hasta hoi no ha sido encontrada entre las infecciones menínjeas que se observan en el país.

Las últimas epidemias de esta enfermedad, así como las de polio-mielitis infecciosa (Parálisis infantil) que se han desarrollado en Estados Unidos, han despertado alguna alarma entre nosotros. La llegada al

Callao de un vapor japonés (Junio de 1918), el *Anyu Marú*, que tuvo a bordo durante el viaje 19 casos de meningitis cerebro-espinal, i la muerte en el puerto de Arica, a bordo del *Penang Marú* (Junio de 1918) de un meningítico que fué sepultado en tierra, nos muestran el peligro de una posible importación.

Ante una amenaza contra la salud pública, es conveniente adelantarse al peligro i estudiar la enfermedad, porque en materia de profilaxis el higienista como el médico deben prepararse para la defensa i la lucha, adquiriendo los conocimientos necesarios sobre la nueva enfermedad que puede presentárseles en el ejercicio de su profesión o en el desempeño de funciones sanitarias.

Por mi parte, inicio la tarea con el estudio de las causas etiológicas de la meningitis cerebro-espinal, recopilando datos que se refieren principalmente al agente microbiano de la infección.

Estas *Anotaciones* no son, pues, más que un resumen de lo que se sabe sobre el microbio de Weichselbaum, en sus relaciones con el diagnóstico i el tratamiento de la enfermedad por lo que respecta a la medicina, i con la profilaxis por lo que toca a la higiene. No me ocuparé en detalle de la sintomatología ni de las formas clínicas de las meningococcias, porque mi objeto es reunir i condensar, en pocas páginas, conocimientos que los profesionales estiman de escasa importancia práctica, pero que para el higienista i el bacteriólogo son de interés primordial.

El programa que me he trazado para redactar este trabajo obedece a un concepto particular i que es el siguiente: *En la lucha contra las enfermedades infecto-contajiosas, los conocimientos etiológicos son de gran*

valor práctico, porque nos señalan el camino más seguro del diagnóstico i los medios más eficaces para el tratamiento i la profilaxis de las afecciones microbianas.

Los jóvenes *estudiantes de la Escuela de Medicina*, sabrán estimar el propósito que me anima al dedicarles estas *Anotaciones*, i que no es otro que el de economizarles tiempo con una lección escrita que contiene datos i observaciones que no han sido reunidos todavía en los libros de medicina que están en sus manos. Tal vez más tarde pueda servirles también en la práctica profesional, a los que hoy son mis alumnos de los cursos de Higiene i Bacteriología.

Dr. M. CÁDIZ.

Noviembre de 1918.



BIBLIOGRAFIA

La bibliografía consultada para estas Anotaciones, ha sido intercalada en el texto, con el objeto de facilitar a los interesados la investigación de los datos comprobatorios de los hechos, opiniones e ideas espuestas.

Láminas.—Han sido dibujadas por mi ayudante, señor Gandulfo, tomando las figuras 1, 2, 3 i 4 de la obra de Netter i Debré, «La Meninjite Cérébre-spinale» i las figuras 5, 6 i 7 de la Presse Medicale, 1918.



I.—BACTERIOLOGIA

DIAGNÓSTICO DE LAS MENINGOCOCCIAS

I.—El meningococcus

El meningococcus de Weichselbaum se encuentra en el líquido céfalo-raquídeo de los enfermos de meningitis cerebro-espinal. La punción raquídea da salida a un líquido turbio, opalescente i de ordinario francamente purulento; rara vez su aspecto es seroso i transparente.

El microbio es un diplococcus no esférico sino alargado como un grano de café: sus elementos con una cara plana que se miran, están dispuestos por pares o tetradas en el interior de los glóbulos de pus i nunca en cadenas como los streptococcus. A veces todos son intra-celulares i se ven en grandes cantidades en el interior de los leucocytos; en otros casos es difícil observar uno que otro diplococcus fagocitado, su número es mucho menor, i aún en otros enfermos sólo

se presentan entre las cédulas de pus i ninguno en su interior. Hai preparaciones coloreadas que tienen el mismo aspecto que las que se hacen con pus blenorrájico, en cuanto a la morfología, situación intra-celular i coloración; mui rara vez se ven coccus aislados.

Con fuerte agrandamiento se puede notar una especie de halo con el aspecto de una cápsula, aspecto que ha hecho creer a algunos bacteriólogos en la existencia de una verdadera cápsula.

El meningococcus se colora por todos los colorantes básicos de anilina, pero no toma la coloración de Gram; es, pues, un microbio Gram-negativo. La tionina fenicada, el azul de Löffler, el Ziehl diluído i sobre todo el azul polycromo de Unna dan buenas tinciones. El sedimento obtenido por centrifugación del líquido, se distiende sobre láminas, se fija por alcohol-éter i se colora. Lagane recomienda hacer tres coloraciones: una con azul o tionina, una con Gram i otra con Gram, sobre adición de Ziehl diluído i hemateína-eosina para las células.

Examinando al microscopio algunas preparaciones coloreadas, se nota que los elementos microbianos no son todos del mismo tamaño, i que no presentan la misma intensidad de coloración. Algunos mui grandes i mui teñidos, son tres i cuatro veces más grandes que otros, formas jigantes de color oscuro, que rara vez se tiñen i entonces tienen un tinte claro. Otros elementos son pequeños, mal coloreados, parecen semillas o manchitas dispuestas por pares i que inducen a creer que no son verdaderos microbios (Netter).

El polimorfismo no es siempre bien marcado en los microbios del líquido céfalo-raquídeo, es mucho más manifiesto en preparaciones del exudado rino-farín-

jeo i mucho más neto todavía en preparaciones de cultivos de más de 24 horas.

Según Netter i Debré las formas pequeñas (granos o semillas) que se coloran mediocrementemente, son más frecuentes cuando la enfermedad marcha hacia la curación. En algunos casos la forma es un poco alargada, como un coco-bacilo i presenta toda su netedad en las tetradas; forma que ha sido comparada por Netter a la de un *pan hendido* (marraqueta) cuando sus elementos están dispuestos por pares. (Lámina 1. Figuras 1 i 2).

El carácter de Gram-negativo fué bien establecido por Weichselbaum i opiniones contrarias derivadas de observaciones mal hechas, fueron después la causa de errores i confusiones de algunos bacteriólogos que trabajaban con el meningococcus i otros microbios parecidos del mismo grupo o familia.

Según Ferrier i Desmaroux, los microbios del grupo meningococcus, en preparaciones no fijadas i examinadas inmediatamente después de la punción, a una temperatura superior a 25°, se puede ver que están animados de un movimiento jiratorio que hace variar la forma de sus cotiledones i su orientación en la célula misma que los contiene. (Revue d'Hygiene et de Polic. Sanit. 1916., páj. 257).

Cultivos.—El meningococcus es un microbio mui frágil. Parásito del hombre, se adapta mal a la vida de saprófito i es difícil desarrollarlo i aclimatarlo en los medios artificiales de cultivo; necesita sustancias nutritivas albuminosas de animales i mejor humanas. De todos modos su vitalidad es corta fuera del organismo del hombre i es preciso hacer traspasos frecuentes para conservarlo vivo. No es raro que muera

bruscamente cuando parecía asegurada su adaptación al medio artificial apropiado.

Es estrictamente aerobio i no se desarrolla a la temperatura ordinaria; comienza a multiplicarse con dificultad i lentitud a 25° i su temperatura óptima es de 37°; muere a una temperatura poco superior a la óptima, aún cuando algunos dicen que lo han visto desarrollarse a 42° i 43°, pero no más. Nunca a menos de 25°, carácter que permite diferenciarlo de algunos pseudo-meningococcus que se multiplican a la temperatura del laboratorio.

Practicada la siembra en medios especiales, hai que colocar en el acto los tubos a 37° porque de otro modo se corre el riesgo de que el cultivo no se desarrolle. Se puede conservar el material a 37° (líquido céfaloraquídeo), mientras llega el momento de practicar la siembra; pero si se deja a la temperatura ordinaria i se siembra 6 u 8 horas después, se obtienen muy pocas colonias i a las 18 horas el resultado es nulo, no hai desarrollo. Esta fragilidad del meningococcus puede ser causa de errores, i tomarse como estéril un material rico en microbios i que no se multiplican porque la siembra ha sido retardada más tiempo que el que corresponde a su vitalidad. Por la misma razón, cuando el material es impuro i contiene microbios estraños que se multiplican con facilidad, éstos impiden el desarrollo del meningococcus; es esto lo que ocurre a veces con la siembra del exudado rino-faríngeo.

Los medios de cultivo que se recomiendan son los siguientes:

Gelosa-ascitis.—Se funde al baño-maría tubos con gelosa neutra al 2, 5 o 3%, se dejan enfriar a 60° i se agrega 1/2 de líquido ascítico aséptico. Se agitan has-

ta obtener una mezcla uniforme i se espera la solidificación por enfriamiento.

El líquido ascítico se conserva aséptico en el laboratorio en matraces soldados a la lámpara o bien por medio del cloroformo. En vez de líquido ascítico podría emplearse líquido pleural, líquido de hidrocele o suero humano calentado a 60°. Según Lagane el agar-ascitis debe emplearse recientemente preparado.

En lugar de la gelosa ordinaria con 1% de peptona, se usa también la gelosa fuertemente peptonizada al 5% (Chapoteaut) o el *chapasgar* (Chapoteaut-ascitis-agar de Simmers i Wilson). Se recomienda agregar glucosa i sobre todo nutrosa (2 a 3 por 100) o usar *enasgar* de los americanos (nutrosa-ascitis-agar) que se dice da buenos resultados.

Sobre gelosa-ascitis las colonias del meningococcus son pequeñas, redondas, color blanco-gris, sobrelevantadas, de 1 a 3 milímetros de diámetro, mates i de aspecto húmedo. Con débil aumento se ven al microscopio amarillentas, transparentes, homojéneas, rodeadas de una zona lisa i a veces ondulada. A las 48 horas tienen 3 a 4 milímetros de diámetro, el centro elevado i la periferie baja, i cuando viejas el centro es de coloración bruna. Al hacer una preparación con una partícula de colonia, se observa que se emulsiona fácilmente en el agua o en el caldo.

Papin, Gandin i Stevenin dicen que examinando las colonias con débil aumento se ve un punteado característico i cristales que aparecen a las 48 horas i que talvez permitan diferenciar el meningococcus de microbios vecinos. (Soc. Med. de los Hosp. Junio de 1916).

Medio de Kutscher.—Un litro de agua i 500 gramos de placenta molida i a lo cual se agrega después:

Gelosa.....	2,5	por	100
Sal marina.....	0,5	»	»
Glucosa.....	1,0	»	»
Peptona Chapoteaut.....	2,0	»	»

A esta preparación ya terminada se agrega un vol. de suero de buei calentado a 60° por cada 3 vols.

Gelosa-sangre.—Tres partes de agar-agar con una parte de sangre humana, de perro o de conejo, mezcladas íntimamente. O bien, como lo hace Pfeiffer, se distiende la sangre sobre la superficie del agar-agar frío.

También puede emplearse el suero de Löffler o el suero de Wassermann: suero humano, gelosa, nutrosa; porque el suero de animales es inferior. (Raymond Koch).

La gelosa-sangre (Bezançon i Griffon) i el suero de Löffler son opacos i dificultan el examen de las colonias por transparencia. La adición de azúcar o de glicerina a los diferentes medios, no aumenta sus cualidades nutritivas para el meningococcus (Koch), pero la fermentación de los azúcares es uno de los elementos para su diferenciación de los pseudo-meningococcus.

Sobre papas no se desarrolla o da algunas colonias puntiformes i tampoco nada se gana agregándolas a otros medios.

En vista de la dificultad que hai a veces para procurarse líquido ascítico, *Faroy* i *Chavaillon* han propuesto la fórmula siguiente: Verter en un matraz esterilizado i con perlas de vidrio 100 cent. cub. de sue-

ro aséptico de caballo i agregarle 20 cent. cub. de clara de huevo que se toman directamente de un huevo fresco por medio de una pipeta Miquel. Se ajita la mezcla vigorosamente cinco o diez minutos hasta que el líquido se presente homogéneo i sin grumos de albúmina.

De otro lado se prepara agar-agar al 2 1/2 por 100 alcalinizado como sigue: neutralizar exactamente i agregar 0,20 por litro de una solución de soda al 10 por 100.

El medio se obtiene mezclando una parte del suero-albúmina a 3 partes del agar-agar fundido i enfriado a 50°. (Soc. de Biologie, 6 de Agosto 1915. Bull Inst. Past. 1915, páj. 708).

Tribondeau prefiere agregar el líquido céfalo-raquídeo sobre la superficie de la gelosa-ascitis o de la gelosa ordinaria ya solidificada en una gran placa de Petri o en una caja de Roux. El recipiente se mantiene inclinado para que la mitad del medio esté a descubierto. A las 16 o 18 horas se ven las colonias en toda la zona emergente i que son menos exuberantes cuando no hai líquido ascítico en el medio. (Soc. Biol. 31 Marzo 1917).

El mejor medio líquido para el cultivo del meningococcus es el caldo-ascitis al 3 × 1 que enturbia en 2 o 3 días i se vuelve homogéneo con abundante sedimento en el fondo del tubo. En reposo absoluto da un velo pelicular en la superficie del líquido i que se rompe al menor choque. (Koch).

También se usa el caldo-suero de cordero al 20%. Flexner emplea una proporción menor de suero de cordero i Bezançon, habla de suero de conejo al estado líquido.

Vines dice que el medio de Wedder al almidón es bueno para conservar largo tiempo el meningococcus sin traspasarlo cuotidianamente i propone un caldo almidonado i es el siguiente:

Almidón 10 gr., Azúcar 15 gr., Peptona 10 gr., Cloruro de sodio 5 gr., Maceración de corazón de ternera 1,000 c. c.

Se muele en un mortero 10 gr. de almidón con una pequeña cantidad de la maceración i se vierte lentamente el magma así obtenido en 200 c. c. maceración hervida i mantenida a la ebullición. Estos 200 c. c. de maceración almidonada se calientan en el autoclave durante 20 minutos para destruir microbios esporulados que son frecuentes en el almidón del comercio, i en seguida se agrega el resto de la maceración. Se hace disolver en seguida los 10 gr. de peptona, 15 gr. de azúcar escojido i 5 gr. de cloruro de sodio. Se realiza entonces en el medio una acidez de 0,2 % a la phenoltaleina i se incorpora la cantidad de tornasol necesaria para obtener una coloración azul oscura. Se reparte en tubos i se esteriliza tres días seguidos a 100° durante 20 minutos.

El meningococcus i los jérmenes vecinos se cultivarían mui bien sobre este medio i su tinte no sería alterado ni por la esterilización ni por la permanencia en la estufa; los virajes debidos a la fermentación de los azúcares se manifestarían prontamente. (Bulletin de l'Institut. Past. 1917, páj. 78).

Según Lloddy (Cambridge) los medios preconizados para el cultivo del meningococcus, tienen de común la presencia de una vitamina, de un hormon, tales como aquellas cuyo rol ha sido mostrado en 1892 por Hopkins en la alimentación de los mamíferos, i el autor

da algunos ejemplos de la importancia de estas sustancias en el desarrollo del meningococcus. (Bull. Inst. Past. 1917, páj. 258).

G. A. Roos preconiza para la conservación del meningococcus en cultivos, un medio semejante al de Bordet-Gengeu para el microbio de la coqueluche, i que prepara del modo siguiente: 100 gr. de papas peladas i certadas en trozos pequeños se lavan dos horas en agua corriente, se sumerjen en 200 c. c. de agua con 4% de glicerina redestilada sin ácido; 40 minutos al autoclave, dejar en reposo una noche i filtrar sobre tela. Mezclar entonces en un matraz de Erlenmeyer 50 c. c. de extracto glicerinado de papas, 150 c. c. de NaCl al 0,65% i 5 gramos de agar. Disolver el agar calentando 30 minutos a una hora en el esterilizador al vapor, repartir, autoclave 40 minutos. En el momento de usarlo, liquidar el agar, enfriar a 45°, incorporar asépticamente una cantidad determinada de sangre desfibrinada de caballo.

Si el microbio proviene de otro medio, hai que agregar 20% de sangre, sembrar abundantemente con semilla de nomas de 24 horas i dejar los tubos 2 días a 37°. Los repicajes sobre el mismo medio no requieren sino 5% de sangre i se hacen cada 15 días. Así se conservan vivos cuatro semanas a la temperatura ordinaria, después de un día de estufa en cada traspaso. (Bull. I. P. 1918, páj. 82).

Nicolle recomienda como medio de conservación la *gelosa-Martín suero-fermolado*. Esta gelosa se reparte en tubos anchos de 2 1/2 cent. de diámetro i se siembra el centro del disco con una capa uniforme de microbios i sin lesionar demasiado el medio de cultivo. En la estufa a 37° el desarrollo se manifiesta por

el ensanche de la zona sembrada, que avanza hacia la periferie del disco hasta llegar a la pared del tubo i asciende sobre ella. La vitalidad del meningococcus se mantiene dos meses, de modo que un traspaso mensual basta para conservarlo. (Para la preparación del medio, ver Diagnóstico bacteriológico).

Inoculaciones experimentales.—La virulencia del meningococcus para los animales de laboratorio es mui débil, los animales son en jeneral refractarios i es preciso inyectar grandes dosis para conseguir matarlos. La acción patójena de este microbio no sólo es débil sino también inconstante. Los cultivos recién obtenidos del hombre son los más virulentos, pero la virulencia disminuye en los cultivos viejos i que han sido traspasados muchas veces sobre medios artificiales. La virulencia perdida puede hacerse reaparecer por una serie de pasajes sobre animales, pero este resultado es inconstante i Flexner ha observado una raza de meningococcus que fué mucho tiempo virulenta, virulencia que perdió un buen día i que no fué posible devolverle por pasajes sobre animales sensibles.

Los animales más sensibles son la laucha i los cuyes pequeños, de 200 a 250 gramos de peso. Los conejos i cabros son mucho menos sensibles. El cui mismo tiene una sensibilidad individual mui variable, pues la dosis mortal va de uno a diez i más.

La inyección intra-peritoneal determina en el cui un descenso notable de la temperatura (Flexner), el pelo se eriza, los músculos abdominales se ponen duros i el vientre se meteoriza. Cuando el animal muere antes de 18 horas, se encuentra a la autopsia poco exudado con escasos leucocitos; si sobrevive 24 a 36 horas, el exudado es más abundante, espeso, con-

creto, sobre todo en la cara anterior del hígado. La serosa peritoneal está vascularizada i roja i el bazo ligeramente congestionado i aumentado de volumen. El peritoneo contiene un líquido citrino i en parte turbio i su examen al microscopio muestra leucocitos con diplococcus en su interior, a menudo en vía de degeneración. Según Kolle i Wassermann la infección queda localizada, pero Lingelsheim i Leuchs dicen que han encontrado el meningococcus en la sangre.

Según Netter la laucha blanca es el animal más sensible para el microbio de Weichselbaum, pero la inyección sub-cutánea no da en jeneral ningún resultado. La inyección intra-peritoneal produce casi siempre la muerte i el meningococcus se encuentra siempre en la cavidad de la serosa i casi siempre en la sangre del corazón. En todo caso su acción patójena sobre la laucha es variable i algunos animales toleran sin sufrir la inoculación en el peritoneo de grandes cantidades de meningococcus.

Según Wassermann, Lingelsheim i Leuchs no se puede determinar el desarrollo de la meningitis cerebro-espinal en el cui ni en el conejo por la inyección intra-espinal del meningococcus.

Las inyecciones en monos hechas por Kolle i Wassermann i por Bettencourt i França, no tuvieron éxito; pero los resultados han sido positivos en manos de Lingelsheim i Leuchs i de Flexner. La inyección sub-cutánea sólo produce una induración pero la inyección intra-raquídea es a menudo positiva. El animal se pone triste, queda inmóvil i la depresión aumenta hasta que muere a las 18 o 20 horas. En algunos se observa nystagmus, disnea e hipotermia, i en otros los sín-

tomas clínicos retroceden, el animal se mejora o bien muere súbitamente a pesar de la reacción favorable.

La inoculación lumbar produce lesiones dominantes en las meninges cerebrales: gran congestión, extravasaciones hemorrágicas i una infiltración puriforme de las vainas vasculares i nerviosas. Es fácil encontrar el meningococcus al examen microscópico, pero parece que no se multiplica i que su virulencia para el mono no es la misma que para el hombre.

Flexner ha experimentado con monos americanos (cebus, macacus rhesus, macacus nemestrinus). El exudado meníngeo es concreto, rico en leucocitos con meningococcus en su interior, sobre todo al nivel de los lóbulos olfativos i en la dura-madre infiltrada, con largas prolongaciones de la meninge espesada. Flexner atribuye a estas observaciones una gran importancia por la posibilidad del paso al través del etmoide, porque los espacios linfáticos de la mucosa nasal están en comunicación con los espacios linfáticos que rodean los nervios olfativos: los linfáticos de la mucosa nasal pueden ser inyectados por la cavidad craneana. A menudo los cultivos le han revelado la presencia del microbio en el exudado meníngeo i en la sangre; lo ha encontrado también en el mucus nasal de algunos de sus monos, pero de aquí no ha podido cultivarlo. Con dosis pequeñas i sucesivas de virus determina una enfermedad de larga duración. En resumen, Flexner ha conseguido realizar en ciertos monos inferiores un cuadro anatómico comparable al de la meningitis humana. (Tesis de R. Koch. París 1909).

La dificultad de procurarse monos i la inconstancia del resultado de la inoculación del meningococcus

a otros animales, han inspirado al Dr. Raymond Koch la idea de ensayar en cuyes la disminución de su resistencia orgánica por medio del frío, de asociaciones microbianas o del ácido láctico, para favorecer la virulencia del microbio de Weichselbaum. Los resultados obtenidos han sido también dudosos e inconstantes

II.—Los pseudo-meningococcus

En 1898 el profesor Dieulafoy hablaba de que no hai una meningitis cerebro-espinal sino meningitis cerebro-espinales, i la Tesis de doctorado de Simonesco (París 1900) estudia dos de esos microbios: El *streptococcus meningitidis* de Bonome (Padua 1889) i el *diplococcus meningitidis* de Weichselbaum (1887); el primero mui parecido al pneumococcus i el segundo aproximándose más al gonococcus de Neisser. En esta enfermedad, como en otras infecciones se presenta el problema de la distinción de razas, variedades o especies microbianas que tienen caracteres comunes i caracteres diferenciales poco marcados.

Hasta hacen pocos años tales dificultades llevaron a investigadores como Vansteenbergh e Grysez a mirar como meningococcus todos los microbios que se encuentran normal o anormalmente en la mucosa nasal, fueran Gram positivo o negativo, porque la coloración era para ellos variable i contingente, así como sus caracteres de cultivo i su virulencia. Son las conclusiones a que arriban después de estudiar un microbio, aislado de un caso de meningitis, mui virulento para el cui i el conejo, en los cuales produce lesiones análogas a las que se observan en el hombre,

microbio Gram-positivo i que en cultivos posteriores pasa a ser Gram-negativo. Se trataría, pues, de un saprófito, viviendo al estado latente en las fosas nasales i cuya virulencia se despertaría en condiciones escepcionales. (Ann. Inst. Past. 1906, páj. 69).

La confusión que durante tantos años hizo dudar de la especificidad de la meningitis cerebro-espinal ya no existe, el meningococcus es un microbio bien definido i los otros microbios que se le parecen se clasifican como pseudo-meningococcus.

Von Lingelsheim clasifica como pseudo-meningococcus los siguientes microbios que han sido aislados del líquido céfalo-raquídeo de enfermos de meningitis:

- 1.—Diplococcus crasus (Meningococcus de Joerger).
- 2.—Pneumococcus de Talamon-Fränkell.
- 3.—Staphylococcus.
- 4.—Streptococcus.
- 5.—Streptococcus mucosus.
- 6.—Diplococcus mucosus.
- 7.—Diplococcus pharínjis flavus II.
- 8.—Micrococcus cinereus.
- 9.—B. Gram-negativo.

El mismo investigador ha encontrado en las fosas nasales los siguientes microbios:

- 1.—Micrococcus catarrhalis (Pfeiffer).
- 2.—Diplococcus pharínjis ciccus.
- 3.—Micrococcus pharínjis cinereus.
- 4.—Diplococcus pharínjis flavus I, II i III.
- 5.—Diplococcus crasus.

Además de los microbios encontrados por von Lingelsheim en el líquido céfalo-raquídeo de enfermos de

meningitis, hai muchos otros que pueden producir meningitis, tales como:

- 1.—Bacillus de Koch (meningitis tuberculosa).
- 2.—B. de Eberth (Merklen i Gautier hablan de 17 casos. Presse Med. 1917, páj. 51. Dr. Daumazon, Bull. Acad. Med. 3 de Agosto i 16 de Noviembre 1915. Presse Medical, 1918, páj. 66).
- 3.—B. paratífico A. (1 caso de Tolmer i Weissenbach. Presse Med. 1917, páj. 51).
- 4.—B. pyocianeus (Chauffard i Guy Laroche. Presse Med. 1917, páj. 322).
- 5.—B. de Yersin (Lafont, Lecompte i Heckenroth. Soc. de Patholog. exotique, 1915, N.º 3).
- 6.—B. de Pfeiffer (Meunier).
- 7.—Trypanosoma gambiense (Thiroux i Pelletier. Soc. de Pathologie exotique, 1909, páj. 400).
- 8.—Spirochaeta ictero-hemorrhagiae. (Costa i Troisier. Office Intern. d'Higiene publique, 1917, páj. 108 i 644).
- 9.—B. coli (Brailion i Merle. Presse Med. 1914, páj. 156. Dr. M. Cádiz, 1895, observ. inédita).
- 10.—B. de Friedlaender (Siredey. Soc. Med. des Hop. 1912, 26 de Julio).
- 11.—Proteus Submobilis (Bauer. Soc. Biolog. 1918, 20 de Julio).
- 12.—Sífilis hereditaria (Lección del prof. Hutinel. Presse Med. 1918, N.º 23, páj. 205).

Los microbios de esta última lista, así como algunos de los que figuran en los dos grupos estudiados por von Lingelsheim, no se pueden confundir con el meningococcus de Weichselbaum, pero entre los de los dos grupos últimos hai otros que por la semejanza de sus caracteres se prestan a errores de diagnóstico

con el verdadero agente de la meningitis cerebro-espinal. Son éstos los llamados pseudo-meningococcus por los alemanes i de los cuales paso a ocuparme.

Diplococcus crasus.—(Meningococcus de Joeger i Heubner, 1895). Microbio frecuente en las vías respiratorias i que ha sido encontrado en el líquido céfalo-raquídeo de meningíticos, sea al estado puro, sea asociado al verdadero agente específico o a otros microbios (B. de Koch). Su existencia comprobada en casos esporádicos de meningitis i en casos de la epidemia de Silesia (Von Lingelsheim) i sus reacciones colorantes inconstantes, han sido causa de errores i confusiones como la que ya he anotado de Vansteenberghé i Grysez, cuyo trabajo se publicó en los Ann. de l'Inst. Pasteur. 1906).

El diplococcus crasus se desarrolla mal en un principio sobre el agar-agar ordinario, pero pronto se habitúa al medio i comienza a multiplicarse a 20° abundantemente, temperatura a la cual el meningococcus no se desarrolla. Sus colonias son muy pequeñas, color blanco-gris, algo brunas i granulosas al exámen microscópico con poco aumento. Sus elementos son más grandes aunque de dimensiones irregulares i no afectan agrupaciones en tetradas.

Es un microbio Gram-positivo, pero en algunas preparaciones ciertos elementos no retienen el colorante después de la adición de la solución iodo-iodurada. Von Lingelsheim fué quien lo identificó con el falso meningococcus de Joeger, estudiando comparativamente muchas muestras de microbios sobre medios azucarados, i terminó así con las dudas i discusiones sobre los caracteres que corresponden al verdadero meningococcus. Observó que el diplococcus

crasus hace fermentar los azúcares menos la manita, la dulcita i la inulita, mientras que el meningococcus sólo hace la fermentación de la glucosa i la maltosa. Ambos microbios se aglutinan por el suero antimeningocócico, pero el verdadero agente de la meningitis cerebro-espinal no se aglutina por el suero anti-crasus.

Salvo el crasus todos los demás pseudo-meningococcus son Gram-negativos i sus colonias en los medios artificiales de cultivo no tienen caracteres bastante netos para un diagnóstico diferencial seguro. Dichos caracteres, tomados de la Tesis del Dr. Raymond Koch, son los que damos a continuación.

Streptococcus mucosus.—Colonias transparentes como vidrio, húmedas, de 3 a 4 milímetros de diámetro. Al microscopio, rosario más o menos largos, Gram-positivos, encapsulados; la confusión con el meningococcus es, pues, imposible. Sólo por el aspecto de sus cultivos podría mirársele como un pseudo-meningococcus. Cultiva mal sobre gelosa simple i bien sobre gelosa-ascitis i gelosa-sangre.

Diplococcus mucosus.—Colonias redondas, grises, transparentes, de 3 a 4 milímetros de diámetro. Las preparaciones muestran al examen microscópico diplococcus i a veces tetradas, Gram-negativo. Cultiva bien a cualquiera temperatura en agar-agar i en gelatina i si al examen microscópico puede dar lugar a confusión con el meningococcus el carácter anterior señala el diagnóstico.

Diplococcus pharyngis flavus II.—Se parece mucho al catarrhalis del cual se distingue porque produce un pigmento amarillo dorado sobre los medios nutritivos con sangre o sobre suero de Löffler i amarillo claro sobre los medios con líquido ascítico. Al microscopio

pio es un diplococcus Gram-negativo, mui pequeño en las primeras jeneraciones i más grande en las posteriores.

Micrococcus pharyngis cinereus.—Colonias pequeñas grises o blancas, redondeadas, de 1 a 1 i medio milímetro de diámetro. Con débil aumento se ven brunas, granulosas, con bordes lisos. Al microscopio grandes coccus Gram-negativo, aislados, en grupos o en diplococcus. Cultiva en gelosa ordinaria i en gelatina a la temperatura del laboratorio, lo que lo distingue del meningococcus.

Micrococcus catarrhalis.—Aislado por Pfeiffer, es el más importante i más constante en la rino-farinje, i es el agente de muchas anjinas; se le ha encontrado en casos esporásicos de meninjitis. Vansteenbergh e Grysez lo confundieron con el meningococcus i por su frecuencia en las vías respiratorias superiores creyeron que el agente de la meningitis era un microbio vulgar en el hombre.

Las colonias del catarrhalis en gelosa-ascitis son redondas, blancas, compactas, de superficie seca i un tanto desigual; con débil aumento aparecen brunas, granulosas i con un marjen irregularmente franjeado. Su diámetro es menor que el de las colonias del meningococcus. Cultiva en gelosa ordinaria pero es poco vivaz. Al microscopio, pequeños micrococcus Gram-negativo, jeneralmente sin diplococcus ni tetradas, pero cuando el desarrollo de la colonia ha sido estorbado aumentan las tetradas. Entonces la confusión es posible i para tener el dianóstico diferencial cierto, hai que recurrir a reacciones que indicaremos después.

Diplococcus pharyngis siccus.—Cultiva bien sobre gelosa-sangre i gelosa-suero. Sus colonias son secas,

resistentes, profundamente surcadas, de 3 milímetros de diámetro más o menos i que no se prestan para ser emulsionadas en los líquidos; por esta razón no pueden confundirse con las del meningococcus que se emulsionan con facilidad. Es un diplococcus Gram-negativo.

Diplococcus pharyngis flavus I.—Se le ha encontrado como único agente patógeno en individuos con afecciones de las vías respiratorias superiores. Cultiva bien en agar-agar ordinario, sus colonias son redondas, poco elevadas, transparentes, color amarillo verdoso i de 2 a 3 milímetros de diámetro. Una partícula emulsionada en agua da una color amarillo-claro i la tinción de preparaciones muestra al microscopio diplococcus Gram-negativos semejantes a los del meningococcus.

Diplococcus pharyngis flavus III.—Este microbio se ha encontrado en amigdalitis. Su desarrollo en agar-agar es débil. Sus colonias son redondas, poco elevadas, amarillentas, parecidas a las del meningococcus, salvo la coloración i con poco aumento se ven al microscopio de aspecto granuloso. Su emulsión en agua fisiológica es ligeramente amarilla. Previa coloración, se observa que están compuestas por diplococcus Gram-negativo, parecidos al meningococcus pero sin tetradas. Algunas razas aglutinan espontáneamente, lo que también es un carácter diferencial.

El diagnóstico bacteriológico diferencial entre el meningococcus i los pseudo-meningococcus, interesa mucho más al higienista que al clínico para la profi-

la *axis* internacional i nacional que piden el aislamiento de los portadores peligrosos.

Las fermentaciones que determinan en los medios azucarados i la prueba de la aglutinación, son por ahora las mejores reacciones para la diferenciación. Von Lingelsheim se vale para este objeto de soluciones de azúcares al 10% en agua tornasolada i esterilizada al baño-maría. A 10 c. c. de esta solución (así esterilizada i no al autoclave), agrega 0,5 de solución normal de soda. A 13 de gelosa-ascitis fundida (3×1) agrega 1,5 de la solución tornasolada i las mezcla hasta tener un tinte homogéneo i la vacia en placas de Petri. Siembra en estría i estufa a 37°.

Los resultados obtenidos por Von Lingelsheim son los siguientes:

MICROBIOS	Glucosa	Lenulosa	Galactosa	Manita	Dulcita	Sacarosa	Maltosa	Lactosa	Inulina
Meningococcus.....	+	0	0	0	0	0	+	0	0
Catarrhalis.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M. cinereus.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D. flavus I.....	+	+	0	0	0	0	+	0	0
D. flavus II.....	+	+	0	0	0	0	+	0	0
D. flavus III.....	+	0	0	0	0	0	+	0	0
M. siccus.....	+	+	0	0	0	0	+	0	0
D. crasus.....	+	+	+	0	0	+	+	+	0
Gonococcus.....	+	0	0	0	0	0	0	0	0

Examinando el cuadro anterior vemos que el meningococcus sólo puede confundirse con el flavus III,

pero el aspecto de los cultivos i la aglutinación los diferencian.

Dopter i Koch recomiendan un medio sólido al neutralroth sobre el cual el desarrollo del meningococcus es rápido i el resultado se tiene en 24 horas. Se prepara del modo siguiente:

Se toman 75 c. c. de gelosa al 3% ligeramente alcalina, se agrega un gramo de azúcar i se esteriliza. Después se agregan 25 c. c. de líquido ascítico i 1 c. c. de la solución estéril de neutralroth al 1%. La mezcla toma color naranja; se la mantiene al baño-maría a 60° durante una hora hasta que se obtiene un precipitado fino que hará más neta la reacción colorante. Se ajita i se reparte en placas de Petri; el medio toma un tinte amarillo ligeramente anaranjado. Se siembra en estrías (placas o tubos) i en 24 horas de incubación a 37° se tiene el resultado.

En los medios con dextrosa i maltosa el meningococcus da un color rojo carminado característico que contrasta sobre el tinte amarillo del medio. Con los otros azúcares la fermentación es nula i no hai cambio del color amarillo.

He aquí el cuadro que resume las esperiencias de Dopter i Koch:

MICROBIOS	Levulosa	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Galactosa	Lactosa
Meningococcus 9 razas.....	0	+	+	0	0	0
Catarrhalis.....	0	0	0	0	0	0
Gonococcus.....	0	+	0	0	0	0
D. flavus I.....	+	+	+	0	0	0
D. flavus II.....	+	+	+	0	0	0
D. flavus III.....	0	+	+	0	0	0
D. crasus.....	+	+	+	+	+	+

El otro elemento útil para el diagnóstico bacteriológico diferencial entre el meningococcus i los pseudomeningococcus es la reacción de aglutinación.

El suero anti-meningocócico aglutina el meningococcus al 1 por 500 i al 1 por 1000 i es inactivo sobre los pseudo-meningococcus, salvo sobre el crasus, o los aglutina en debil proporción, al 1 por 15 o al 1 por 25. Los sueros específicos preparados en el laboratorio por la inoculación de animales con distintos pseudomeningococcus, aglutinan en proporciones elevadas el microbio respectivo i se muestran indiferentes para los otros. En suero normal i en agua fisiológica también se aglutinan algunos de estos microbios, pero el meningococcus jamás se aglutina por el suero normal.

Según los autores alemanes el crasus se aglutina por el suero anti-meningocócico, mientras que Dopter i Koch han observado lo contrario, salvo con una muestra de crasus que aglutinó al 1 por 200 i que tres semanas después dió reacción negativa.

He aquí el cuadro con los resultados obtenidos por Dopter i Koch:

MICROBIOS	Suero anti-meningocóc.	Suero normal	Agua fisiológica
Meningococcus....	+	0	0
Catarrhalis.....	0	0	0
Dipl. siccus...	no emuls.	no emuls.	no emuls.
Micr. cinereus....	0	0	0
D. flavus I.....	0	0	0
D. flavus II.	0	0	0
D. flavus III.....	{ 0 } +	0 +	0 +
Gonococcus.....	+	0	0
Dipl. crasus.....	{ + } 0	0 0	0 0

En un trabajo recién publicado de M. Nicolle, E. Debains i C. Jouan (Ann. Inst. Past. 1918, páj. 150), encontramos la técnica para la reacción de la aglutinación que trascribimos en seguida:

Se emulsionan los jérmenes a razón de 1 c. c. de microbios por 20 c. c. de la solución de Na Cl al 1 por ciento.

Cuando se trata de un primer cultivo obtenido sobre gelosa-suero (formolado) con agua de condensación, se tendrá cuidado de no tomar las colonias que bañan en el líquido, pues un rastro de este podría entorpecer la aglutinación. Cuando se trata de cultivos ulteriores obtenidos sobre gelosa T (sin agua de condensación), no se corre ningún riesgo. En ambos ca-

sos conviene usar cultivos de 24 horas o más jóvenes todavía. Recordaremos también que los cultivos de 16-18 horas son más apropiados para la identificación rápida del meningococcus.

La técnica de la aglutinación varía según que se trate del simple diagnóstico del tipo meningococcus para una respuesta inmediata (precioso desde el punto de vista epidemiológico i sobre todo terapéutico) o que se desee conocer el límite exacto de aglutinación de una muestra dada. Para el primer caso basta el método rápido i para él segundo hai que recurrir a método lento.

Método rápido.—«Se vierte 1 c. c. de emulsión en 4 tubos i se agrega, respectivamente, 1/20 de c. c. de cada uno de los sueros reactivos A, B i C (veremos después lo que son estos sueros) i de suero equino normal. Se ajita durante algunos instantes, inclinando i enderezando los tubos alternativamente i se lee. Habitualmente, el resultado que se busca se obtiene en 3 a 5 minutos. En el caso de muestras poco aglutinables, es preciso prolongar la ajitación durante 10 minutos más o menos. En el caso (mui raro) de muestras hiperaglutinables (sensibles al suero normal), se repetirá la operación con 1/50 de c. c. (especialmente con 1/100 de los 4 sueros empleados)».

Método lento.—«Supongamos que se quiere determinar el límite de acción de los 4 sueros reactivos (A, B, C, D.) i del suero equino normal, sobre un meningococcus dado. Se preparan 5 grupos de 4 tubos, conteniendo todos 1 c. c. de emulsión i se vierte, respectivamente para cada grupo, 1/20, 1/50, 1/100, 1/200 de c. c. de cada suero (es mui raro que haya que emplear más de 1/200 de c. c.) Se abandonan duran-

te 24 horas a la temperatura ordinaria i se examina en seguida al ojo desnudo (ayudado de la lente)».

Según los tres autores citados, el resultado del *método rápido*, estrictamente cualitativo, se debe al exceso de suero empleado i a la rapidez obligada de la reacción. Toda aglutinina «dominante» no manifestaría su presencia en tan corto tiempo.

El método lento permite, al contrario, llevar más lejos el análisis del fenómeno i resolver las tres cuestiones siguientes: *legitimidad de los tipos meningocócicos* (revelada por la aglutinación); *su frecuencia respectiva—poder aglutinógeno* de los meningococcus— i *aglutinabilidad* de los meningococcus.

Para evitar repeticiones, dejaremos el resultado de los estudios de Nicolle i sus colaboradores sobre aglutinación, para recordarlo cuando tratemos de los para-meningococcus.

Entre los pseudo-meningococcus se coloca también el *gonococcus* i, en efecto, las preparaciones microscópicas hechas con líquido céfalo-raquídeo, tienen a veces el mismo aspecto que las que se obtienen con pus blenorrájico. Se dice que la cara interna de los diplococcus es cóncava en el gonococcus i plana en el meningococcus, pero este detalle es mui difícil de apreciar aún con grandes aumentos, i la coloración, uniforme en el primero i desigual en el segundo, tampoco basta para distinguirlos.

Todavía tienen otros caracteres comunes que aumentan las dificultades de su diferenciación: diplococcus intra-celulares, coloración Gram-negativa, que no

se multiplican en los medios ordinarios ni en la temperatura del laboratorio i ambos necesitan albúmina humana para su desarrollo en cultivos artificiales; hasta su vitalidad mui corta fuera del organismo del hombre, contribuye al acercamiento de estas dos especies microbianas.

Es verdad que en los medios de cultivo hai algunas diferencias entre las colonias del gonococcus i del meningococcus, pues las del primero son más pequeñas i no se emulsionan tan fácilmente en una gota de agua como las del segundo, que son más grandes i más prominentes. En caldo el gonococcus da un depósito abundante en el fondo del tubo i el líquido aparece claro, mientras que el meningococcus lo vuelve uniformemente turbio. Pero estas diferencias, como las ya anotadas, son relativas i de importancia secundaria.

La aglutinación por el suero homólogo es positiva para los microbios respectivos, pero también es positiva la aglutinación cruzada, i Raymond Koch cita el caso de un gonococcus auténtico aglutinable por un suero anti-gonocócico de Berna al 1/50 i por un suero anti-meningocócico de Berlín al 1/200.

Estas dificultades para la distinción de ambas especies microbianas por procedimientos de laboratorio, hai que agregarlas a las dificultades del diagnóstico clínico, pues el gonococcus como el meningococcus, determinan septicemias con localizaciones en mucosas i serosas (pericardio, endocardio, serosas articulares) i ambos microbios han sido encontrados en la sangre. Si la clínica recurre al laboratorio es precisamente para llegar a un diagnóstico que le permita establecer un tratamiento (diagnóstico que también interesa al higienista para hacer la profilaxis) porque

algunas localizaciones de las gonococcias i meningo-coccias son las mismas i la semejanza o igualdad de síntomas no deja sospechar al clínico la naturaleza de la infección.

Por lo que respecta a la localización meníngea nadie duda de que el meningococcus es el agente específico de la meningitis cerebro-espinal epidémica, pero no sabemos si el gonococcus también puede localizarse en dichas serosas i determinar una meningitis. Ghon ha señalado la existencia del gonococcus en la mucosa nasal de niños pequeños i la literatura médica registra observaciones de casos de meningitis atribuidas al mismo microbio; pero, como lo dice Raymond Koch, esa etiología no debe aceptarse sin beneficio de inventario, sobre todo en los casos en que no hai una uretritis concomitante. Así Koch estima que en las observaciones de Prochoska (Zurich) i de Josselin de Jong (Holanda), no hai pruebas suficientes para aceptar la naturaleza gonocócida de la enfermedad i que el caso estudiado por Ritchie es el único que parece comprobado por las reacciones de aglutinación i desviación del complemento, como de meningitis acompañada de uretritis blenorragica i debida a la misma causa etiológica.

Aun cuando no esté claramente reconocida la localización meníngea del gonococcus, al bacteriólogo le interesa conocer los medios propuestos para diferenciarlo del meningococcus, por la multiplicidad de infecciones locales que ambos producen; en los últimos años se estudian las del meningococcus i parece que todavía quedan por agregarse nuevas localizaciones a las que ya han sido señaladas i comprobadas.

La prueba de la *fermentación de los azúcares* es bue-

na siempre que se haga en medio sólido, porque en medios líquidos el resultado es irregular. Dopter i Koch recomiendan la gelosa al neutralröth. Mientras que el meningococcus hace fermentar la glucosa i la maltosa, el gonococcus sólo produce la fermentación de la glucosa, hecho señalado antes por Rothe.

La *reacción de fijación* o desviación del complemento es positiva i específica con el suero de los enfermos de meningococcias i así lo han demostrado los ensayos de Vannod, de Kolle i Wassermann i de Krumbain i Schatiloff. El amboceptor anti-meningocócico no tiene acción sobre el antígeno gonocócico i por el contrario fija el complemento en presencia del antígeno meningocócico. Esta reacción es, pues, de mucho valor para aclarar el diagnóstico entre el gonococcus i el meningococcus en los casos de dudas.

La *reacción de aglutinación*, como lo hemos dicho, es irregular i se presta a confusiones cuando se opera en las condiciones ordinarias; pero las esperiencias de Dopter i Koch demuestran que la aglutinación del gonococcus por el suero anti-meningocócico, es una coaglutinación, una aglutinación de grupo o de familia, de modo que investigando el fenómeno en condiciones más rigurosas, se llega al resultado de que la reacción es específica.

De las esperiencias practicadas por Koch i descritas en su Tesis, se deduce que conviene operar en la forma siguiente: Se toman dos tubos (M i G) con 3 c. c. del suero sospechoso cada uno i se emulsionan en ellos respectivamente el contenido de 4 tubos de cultivo en gelosa, de meningococcus en el primero i de gonococcus en el segundo; un tubo dos veces por día, i en los intervalos entre estas operaciones se guardan en

la estufa a 37°. Los cultivos para las emulsiones serán de 24 horas i los microbios se repartirán de modo que la opalescencia sea homogénea en cada operación. Después de 48 horas de esta preparación, los jérmes están aglutinados i sedimentados, i si no lo están completamente, se centrifugan hasta su clarificación. Se decanta entonces el suero i con cada uno de los tubos se practican ensayos de aglutinación macroscópica según la técnica corriente, con meningococcus i con gonococcus.

Si el suero examinado proviene de un caso de meningococcia, el resultado de esta última reacción será el siguiente: aglutinación negativa con los dos microbios tratados por el contenido del tubo M. i aglutinación positiva con el meningococcus i negativa con el gonococcus en las emulsiones preparadas con el suero decantado del tubo G. Este resultado se explica porque el líquido del tubo M. tiene su aglutinina específica saturada por los microbios empleados en las primeras emulsiones, mientras que el líquido del tubo G. sólo ha gastado sus co-aglutininas i conserva su aglutinina anti-meningocócica libre en el momento de la última operación.

La reacción de las precipitinas, según Dopter i Koch da resultados análogos a los de la reacción aglutinante. Las mezclas de suero i extracto microbianos dan precipitados en los dos casos, pero la precipitación es más intensa con el suero homólogo que con el suero heterólogo por la acción desigual de las precipitinas i de las co-precipitinas sobre los extractos empleados. Para obtener un resultado más exacto es, pues, necesario recurrir al procedimiento de la saturación de

las precipitinas, usando una técnica semejante a la descrita para la reacción de aglutinación.

Un último método diferencial, indicado por Papin i Stévenin en 1916 i en el cual vuelven a insistir recientemente, es el examen directo al microscopio con débil aumento de las colonias desarrolladas sobre gelosa en placas de Petri. Las colonias del meningococcus presentarían un piqueteado característico que no se observa en las del gonococcus ni en las de otros microbios. Más adelante nos ocuparemos en detalle de este nuevo método.

III.—Los para-meningococcus

Los para-meningococcus son al microbio de Weichselbaum, lo que los B. para-tíficos son al B. de Eberth. El descubrimiento de estos microbios se debe a Dopter que los aisló del líquido céfalo-raquídeo de tres enfermos que murieron después de presentar síntomas de meningitis, i dos de los cuales no fueron aliviados por el tratamiento seroterápico (1909). El mismo microbio fué encontrado en la sangre de un caso de septicemia por Carnot i Marie (Sec. Med. des Hop. 27-I-1911) i en casos de rhino-farínjitis i de corizas. Otros casos fueron comunicados a la misma Sociedad por Manettier i Avezan i las observaciones de muchos casos análogos se han multiplicado en los últimos años.

El descubrimiento de los para-meningococcus exige hoy mayor precisión en el diagnóstico bacteriológico, más prolijidad en la investigación de los portadores

i la preparación de sueros polivalentes para el tratamiento de las meningococcias. Como el examen clínico i la sintomatología de estas infecciones nada hacen presumir sobre la causa etiológica, ni sobre la variedad de sus jérmenes patójenos que las orijinan, el médico se ve en la necesidad de recurrir al laboratorio en demanda de un diagnóstico exacto.

La morfología de los para-meningococcus es la misma que la del meningococcus: Diplococcus en grano de café, con caras planas que se miran, intra-celular i coloración Gram-negativa. Son aerobios estrictos, se cultivan en los mismos medios especiales que el microbio de Weichselbaum a partir de 25°-27° i a la temperatura óptima de 37°; mueren en pocos días a la temperatura ordinaria i al cabo de 36 a 48 horas en el refrigerante. La prueba de la fermentación de los azúcares demuestra que atacan la glucosa i la maltosa i que no tienen acción sobre los demás, caracteres que acentúan la estrecha parentela que liga a estos microbios.

La observación de casos de meningitis cerebro-espinal que no eran favorablemente influenciadas por las inyecciones de suero anti-meningocócico i la ausencia de poder aglutinante en el suero de esos mismos enfermos, vis a vis del microbio clásico de Weichselbaum, hizo pensar en la existencia de varias razas o tipos del microbio específico de dicha infección. En efecto, las investigaciones de Dopter i Paurón así lo han reconocido i sus ideas han sido confirmadas por trabajos posteriores, tales como los de Darré i Dumas, de Marta Wollstein (Jour. of Exp. Med. 1914, XX), de Gordon i Murray (Jour. Roy. Army Med.

Corps, 1915. XXV), de Netter (Bull. Soc. Med. Hôp. 1917, p. 882), de Nicolle, etc.

Establecida ya la existencia de los para-meningococcus, en el caso de un enfermo de meningococcia, la clasificación del tipo microbiano es un problema de bacteriología, porque sólo el laboratorio tiene medios para resolverlo. Según Netter, los síntomas clínicos hacen sospechar en ciertos casos el diagnóstico del tipo, pero no se tendrá la certidumbre en éstos, ni se prevendrá el error en muchos otros sin el auxilio del bacteriólogo, i la duda es grave para el médico, sobre todo cuando no dispone de un suero polivalente de gran valor curativo.

El profesor Netter ha observado en 23 enfermos de meningococcia una frecuencia igual para los tipos A i B. Dopter estima que el tipo A de Nicolle corresponde al microbio clásico de Weichselbaum i que los tipos B., C. i D. no son sino los para-meningococcus descritos por Dopter i Pauron. Gordon i Murray distinguen cuatro tipos en 32 muestras estudiadas.

La *prueba de la aglutinación* es, por ahora a lo menos, el medio más práctico para llegar al diagnóstico bacteriológico diferencial, pero la infidelidad e irregularidad de esta reacción biológica aconsejan recurrir al procedimiento de la saturación de las aglutininas preconizado por Dopter i Pauron i fundado en las siguiente bases:

1.^a Un suero anti-parameningocócico saturado por un meningococcus se despoja de sus aglutininas meningocócicas i conserva las aglutininas para-meningocócicas.

Saturado por un para-meningococcus pierde sus

aglutininas para los jérmenes del mismo tipo i las conserva para el meningococcus.

2.^a Un suero anti-meningocócico saturado por el meningococcus pierde sus aglutininas para este microbio i las conserva para los tipos para-meningocócicos.

Ya hemos dado la técnica para la reacción de aglutinación usada por Nicolle i sus colaboradores (páj. 136) i el procedimiento de la saturación de las aglutininas (páj. 140).

El estudio de los para-meningococcus es mui incompleto todavía, i por lo mismo conviene conocer los resultados obtenidos por Nicolle, Debains i Jouan respecto a la aglutinación i que encontramos en la primera Memoria publicada (Ann. Ins. Past. 1918, páj. 150), advirtiéndolo que los autores no emplean el nombre de para-meningococcus sino el de meningococcus i una letra que indica el tipo.

En jeneral, los meningococcus son microbios poco aglutinójenos, pero escepcionalmente se encuentran muestras aglutinables por el suero equino normal al 1/10, 1/20, 1/50 i rara vez al 1/100.

Han comprobado la existencia de cuatro tipos de meningococcus que distinguen con las letras A, B, C i D. El tipo D es escepcional i sólo es sensible a las aglutininas del suero homólogo. El tipo C es poco común i se caracteriza por sensible el suero-reactivo C (homólogo). Los tipos A i B son frecuentes, tienen más o menos la misma importancia, predomina uno u otro según el momento i el lugar i se aglutinan por los sueros respectivos.

La *aglutinación homóloga* es, pues, lo que caracteriza i justifica esta división de los meningococcus en

cuatro tipos. Pero hai que hacer notar que el poder aglutinante de los sueros anti-meningocócicos, rara vez va más allá de 1/200, aglutinación pobre si se compara con las que dan otros sueros específicos con microbios homólogos.

La *aglutinación heteróloga* se obtiene con los tipos A, B i C, pues hai muestras que son aglutinadas por uno o por los otros dos sueros que no corresponden a su tipo. Pero estas aglutinaciones adventicias son más lentas que la aglutinación dominante i exigen mayor cantidad de suero.

En resumen, como los llamados meningococcus i para-meningococcus tienen caracteres jenerales, comunes, Nicolle los agrupa todos dividiéndolos en *cuatro tipos* que llama *tipos antígenos*, según la noción formulada por Elser i Huntoon, Dopter, Arkwright, Gordon, Ellis. La división se funda, pues, en la semejanza de reacciones biológicas i Nicolle, Debain i Jouan atribuyen a la noción de los 4 *tipos antígenos* una doble importancia.

«Desde el punto de vista práctico, suministra un hilo conductor precioso en las investigaciones epidemiológicas, notablemente en el examen de portadores de jérmenes; constituye de otra parte, una base sólida para la preparación i el empleo de sueros terapéuticos». «Desde el punto de vista teórico, hemos aprendido la existencia de un *antígeno dominante* en todos los meningococcus: antígeno A, B, C o D según el caso» i la reacción de Bordet-Gengou nos dice que los cuatro tipos de antígenos existen realmente en cada meningococcus. (Loc. cit., páj. 164).

El interesante trabajo de Nicolle i sus colaboradores nos induce a pensar que no hai necesidad de re-

currir al procedimiento de la saturación de las aglutininas de Dopter i Pauron para llegar al diagnóstico del tipo antígeno, en un caso dado de infección meningocócica o para-meningocócica. Bastaría clínicamente el resultado de la reacción aglutinante practicada con el microbio aislado del enfermo i los sueros anti-meningocócicos A, B i C.

Los sueros terapéuticos no siempre tienen un poder aglutinógeno en relación paralela con su poder curativo i nos parece más práctico i hacedero que el bacteriólogo prepare los sueros monovalentes para sus reacciones, procurándose los tres tipos de meningococcus A, B i C. Gordon i Murray se sirven de conejos jóvenes, de 1,000 a 1,500 gramos de peso i obtienen en poco tiempo sueros fuertemente aglutinógenos, inmunizando dichos animales como sigue:

Hacen cada dos días inyecciones intra-venosas a dosis crecientes de una emulsión de microbios muertos por el calor, tituladas a razón de 5 millares por cent. cúbico. Recomiendan un método de *saturación* que consiste en inyectar en una vena 1/2 cent. cúb. de emulsión microbiana i 48 horas después 3 inyecciones de un cent. cúb. de emulsión titulada a una hora de intervalo. Así puede obtenerse en 10 días un suero aglutinante al 1/800 (Bull. Inst. Past. 1916, páj. 293).

Hai otras reacciones biológicas que pueden utilizarse para la diferenciación del meningococcus i los parameningococcus, aunque de menos importancia que la aglutinación.

Reacción de las precipitinas.—Llamada reacción de

Kraus, se obtiene mezclando un extracto citolítico de un para-meningococcus con un suero anti-meningocócico. El resultado es positivo como si se tratase de un suero homólogo, i en consecuencia, la reacción no serviría para un diagnóstico bacteriológico diferencial; pero Dopter ha demostrado que el fenómeno se debe a un efecto de coprecipitación o precipitación de grupo, i que empleando el procedimiento de la saturación de las precipitinas se puede hacer la distinción entre el meningococcus i los para-meningococcus. (Soc. de Biolog. 10 de Julio 1909.—20 de Junio 1914).

Fenómeno de Pfeiffer.—Si se inyecta en el peritoneo de un cui de 250 gramos, una dosis no mortal de alguno de los microbios de que tratamos, éstos no desaparecen del exudado seroso sino al cabo de 5 o 6 horas. Pero si 24 horas antes se ha inyectado en la misma cavidad 1 cent. cúb. de suero anti-meningocócico, 10 o 20 minutos después de inyectados los microbios, éstos desaparecen rápidamente por fagocitosis, de modo que el examen del exudado peritoneal comprueba la ausencia de microbios libres.

El resultado es positivo con el suero homólogo, pero negativo con un suero heterólogo. Así con suero anti-meningocócico i un jermen para-meningocócico, la mayor parte de los microbios están libres i persisten en grupos 45 a 50 minutos. Más tarde llegan los poli-nucleares i los micro-organismos desaparecen al cabo de 1 1/2 a 2 horas después de la inyección.

Prueba de la vena.—Es una reacción biológica que se debe a Briot i Dopter i que se practica del modo siguiente:

A un cui de 250 a 300 gramos de peso, se hace una

inyección intra-venosa de 1 a 2 centímetros cúbicos de suero anti-meningocócico fresco i de una fuerte emulsión de meningococcus, 1/20 a 2/20 de cultivo sobre agar-agar en caja de Roux, de 24 horas de edad. La inyección determina accidentes inmediatos: convulsiones, contracturas, dispnea, coma i muerte en algunos minutos.

Los accidentes i la muerte del animal se deben a la acción bacteriolysica del suero que destruye los microbios homólogos i pone en libertad un veneno, causa de los síntomas fulminantes.

Si la prueba se hace con una emulsión igual de parameningococcus, los trastornos no se observan o son pasajeros. (Soc. de Biologie, 1910 i 1914).

El diagnóstico bacteriológico diferencial entre el meningococcus i los para-meningococcus, se hace, pues, por medios distintos de laboratorio que los que se emplean para el mismo diagnóstico con los pseudomeningococcus.

IV.—Diagnóstico bacteriológico

El diagnóstico bacteriológico ha tomado mayor importancia clínica desde que se sabe que hai septicemias i otras afecciones de naturaleza meningocócica, pues hasta hace pocos años se ignoraban i sólo se conocía la meningitis cerebro-espinal-epidémica.

Las observaciones de enfermos de meningitis acompañadas de ciertas complicaciones i de otros con diversas afecciones sin meningitis i en los cuales se ha descubierto el meningococcus como agente etiológico, prueban la multiplicidad de sus localizaciones en el hombre. Algunas *meningococcias* están ya más o menos

estudiadas i otras se sospechan. Las investigaciones bacteriológicas darán a conocer poco a poco todas sus formas i localizaciones, así como su frecuencia e importancia en patología.

Sabemos que las septicemias preceden o siguen a las localizaciones viscerales de los microbios, o bien la infección sanguínea i local son concomitantes. Pero las septicemias médicas que evolucionan sin lesiones viscerales son las que presentan grandes dificultades al diagnóstico clínico, i en tales casos no cabe otro recurso que la hemocultura, porque el examen microscópico de la sangre es casi siempre negativo. (Stephen Portret, Septicemies meningococciques.—Thèse de París, 1912).

Follet i Sacquépée publicaron dos observaciones de **meningococcemias** en 1906 (Press. Med. páj. 41), hablan de la rareza de esta infección sanguínea i citan los pocos casos conocidos de 1901-1905. En una epidemia de meningitis cerebro-espinal, en New-York, Elser, encontró 10 casos con septicemia sobre 41 hemoculturas. Bovaird, a propósito de un caso de septicemia casi sin síntomas meníngeos, dice no haber encontrado en la literatura sino tres casos análogos que parecen mostrar que existe un tipo clínico de meningococcemia sin meningitis (Press. Med. 1909, páj. 328). (Arch. of internat. Med. 1909, N.º 3, vol. III, páj. 267). El profesor Netter ha llamado la atención a que en la epidemia de París de 1915 se notó una frecuencia insólita de infecciones jeneralizadas, o sea, de septicemias meningocócicas i en algunos casos como única localización la sangre, sin que se presentase inflamación meníngea, como en el caso observado por

él mismo en 1909. (Bull. de l'Académie de Med., 1915, vol. I, páj. 769).

Es, pues, un hecho demostrado que en la meningitis cerebro-espinal hai a veces infección sanguínea, antes, durante o después de la localización meníngea, i que también hai casos de septicemia meningocócica sin localización manifiesta del microbio en tejidos u órganos determinados. A este respecto, es interesante recordar que Netter i Salanier sostienen que las erupciones purpúreas de la infección, no son como se dice, el efecto de una intoxicación, sino el resultado de un depósito de meningococcus. La investigación bacteriológica en las lesiones cutáneas, es entonces de mucho valor para asegurar el diagnóstico, porque la hemocultura demanda más tiempo i su resultado está lejos de ser constante. (Soc. de Biolog., 22 de Julio 1916).

Otras afecciones locales oriñinadas por el meningococcus, son las endocarditis, las artropatías, las lesiones de la piel, las epididimitis, las anjinas i enfermedades de los ojos i los oídos.

Respecto a la **endocarditis**, Teissier dice, que son mui raras en la meningitis cerebro-espinal i que la mayor parte de los casos publicados no tienen historia clínica, no se ha establecido la naturaleza meningocócica de las lesiones i el diagnóstico se funda en el examen anatómico. Por su parte ha podido seguir la evolución de la meningitis en 65 enfermos sin descubrir en ninguno signos de endocarditis. Sólo en una mujer, con una antigua lesión mitral, se encontró a la autopsia, una lijera pericarditis i una endocarditis vejeteante en la válvula lesionada; el examen histo-bac-

teriológico reveló la presencia del meningococcus. (Acad. de Med., 6 Junio 1911).

Sin embargo, es oportuno recordar que el gonococcus de Neisser también produce septicemias i afecciones locales análogas a las que se atribuyen en los meningíticos al microbio de Weichselbaum, entre ellas las endocarditis, i ya hemos hablado de la estrecha parentela entre las dos especies microbianas. Por estas razones i por la frecuencia de lesiones valvulares en muchas septicemias, no sería de estrañar la localización del meningococcus en el endocardio, aun cuando no se manifieste por síntomas clínicos.

Las **artritis** suelen presentarse en el curso de la meningitis cerebro-espinal. Netter ha visto tres casos (1915) i Sainton i Maille han comunicado otros tres a la Academie de Medicine sobre 17 enfermos observados. (Bull. Acad. de Med., 1915, vol. I, páj. 427).

La localización es precoz, del 4.º al 6.º día de la enfermedad, ataca sólo la rodilla, sitio de elección, o coincide con otra localización. Es dolorosa o indolente, el derrame abundante se hace con rapidez i no se acompaña de rubicundez de la piel. La punción retira un líquido filtrante, espeso, francamente purulento i con reflejos verdosos. Al examen microscópico i en cultivos se comprueba la existencia del meningococcus.

Es importante saber que la artropatía puede presentarse fuera de los síntomas meníngeos, como única manifestación de una infección latente o de una meningitis frustra sin gravedad. Así se explicaría la inmunidad de ciertos portadores del jermen en pequeñas poblaciones donde casi todos sus habitantes han sufrido en un momento dado perturbaciones pasa-

geras de la salud, i que no serían sino infecciones meningéas insignificantes.

Las **lesiones cutáneas** son el herpes que aparece en el curso o a fines del primer septenario, los exantemas escarlatiniformes i morbiliformes más frecuentes en las epidemias de Inglaterra i América i la púrpura hemorrájica, jeneralizada o limitada, a veces de estrema gravedad (Irlanda). «*Spotted fever*».

Las manchas purpúricas de la piel, pequeñas o grandes, precoces o tardías, se observan en algunos casos como síntoma precursor de un ataque de meningitis más o menos cercanos, i en otros como el único signo de la infección meningocócica abortada (Netter). En todo caso, cuando se presentan las infiltraciones hemorrájicas, el médico debe aprovecharlas para el diagnóstico, con más razón si no hai otros síntomas, porque en ellas se encuentra el meningococcus si son manifestaciones de una meningococcia. (Soc. Med. de Hop., 28 de Julio 1916).

En efecto, i como ya se ha dicho, la investigación bacteriológica es rápida por el examen microscópico i aún por el cultivo del material tomado de las lesiones purpúricas. Según Netter, parece suficiente la comprobación en las preparaciones de los caracteres morfológicos i de coloración del microbio, i cree que en la mayor parte de las meningitis con púrpura intervienen meningococcus que difieren del tipo clásico. (Soc. de Biolog., 30 de Junio de 1917).

Mientras no se inserten observaciones de meningitis cerebro-espinal, con lesiones cutáneas purpúricas en los tratados de clínica interna, se pueden consultar las publicadas en las actas de la Société Médicale

des Hopitaux i en la Presse Médicale. (1912, páj. 978; 1917, páj. 79, 257 i 408).

A este respecto, Benda dice que el exantema petequial es una complicación aún poco conocida de la meningitis cerebro-espinal i que el diagnóstico es difícil cuando a la vez hai epidemia de tifus exantemático, pues en ambas enfermedades se presentan síntomas cerebrales graves. Cortes de la piel al nivel de las manchas hemorrájicas muestran al microscopio una infiltración de leucocitos polinucleares, más o menos igual en las dos enfermedades; pero si se trata de meningitis, se encuentran a veces diplococcus Gram-negativo dentro o fuera de los vasos, lo que constituye en tales casos un signo diferencial decisivo. (Berlín klin. Woch. 1916, p. 449. Bull. Inst. Past. 1916, páj. 620).

La **epididimitis** es otra afección local que se presenta en algunos enfermos de meningitis cerebro-espinal. Tales son los tres casos observados por Lancelin i en los cuales las lesiones glandulares aparecieron en la declinación de la enfermedad, i uno de Costa i Troisier, también como manifestación tardía consecutiva a la infección menínjea. (*La Presse Med.* 1917, páj. 631 i 728.—Id. 1918, páj. 173).

La meningitis linfocytica, descrita por Chauffard i Boidin en 1914, se considera como una complicación rara de la parotiditis epidémica; pero el Dr. Massary (del hospital Andral) cree que es constante en dicha infección, porque la punción lumbar da en todos los casos un líquido céfalo-raquídeo de la misma fórmula leucocytaria, aunque el enfermo esté indemne del síndrome meníngeo. (*Bull. Acad. de Med.* 1917, vol. II, páj. 6).

Recuerdo estos datos en vista de una observación de Lavergne de un enfermo de meningitis urliana, simulando una forma grave de meningitis cerebrospinal meningocócica (*Journal de Med. de Lucas Championnière* 1917, páj. 534) i de otra de Roger Voisin, cuyo enfermo murió a los tres días de la presentación de los síntomas. (*Presse Med.* 1916, páj. 86). Como la meningitis linfocytica es una complicación benigna de la parotiditis epidémica, es posible un error de diagnóstico en el caso de un enfermo con síntomas graves de meningitis i manifestaciones parotídeas insignificantes.

Es del caso recordar también que la epididimitis es complicación de la blenorragia, que el gonococcus se parece al meningococcus, i que, por lo tanto, conviene en la práctica no olvidar esta analogía de lesiones i la parentela de sus jérmenes patójenos, para el diagnóstico i el tratamiento.

Ciertas **anjinas** parecen de naturaleza meningocócica. El Dr. Azalbert dice, en una comunicación a la Academie de Médecine, que la meningitis cerebrospinal puede simular al principio el sarampión i la anjina aguda (*Bull. de id.* 1916, vol. II, páj. 375) i el Dr. Sainton (París), médico del hospital de Contajiosos de Cherbourg, se pregunta que si la investigación bacteriológica en las anjinas se hiciese por cultivo en medios apropiados ¿cuántas anjinas meningocócicas se encontrarían? (*Journal de L. Championn.*, 1918, páj. 548).

Las sospechas del Dr. Sainton parecen fundadas en vista de algunas observaciones de O. Thomsen i F. Wulff (Copenhague) tomadas durante una epidemia de meningitis. Nueve personas que habían

estado en relación con enfermos de meningitis, ingresaron al hospital con fiebre, cefalalja i dolores i fueron diagnosticados como casos de *influenza*. Todas ellas sufrían de la garganta, todas tuvieron exantema cutáneo como los meningíticos, pero sin petequias, todas líquido céfalo-raquídeo límpido i estéril i todas sanaron rápidamente. El diagnóstico posterior fué el de *meningococcia benigna*, pues al cabo de una a tres semanas se obtuvo en todas la reacción de fijación del complemento positiva i positiva también la aglutinación en seis casos con el suero de dichos convalecientes.

Estos autores piensan que en la mayoría de los casos de meningitis, se trata de una complicación metastática de una infección sanguínea primitiva de corta duración, porque sólo encontraron el meningococcus en la circulación en cuatro casos sobre 42 enfermos. Sin embargo, en todos hubo exantemas, sea del tipo petequial ordinario, del tipo papuloso i en uno de tipo escarlatiniforme. (O. I. de H. P., 1918, páj. 681).

Sin comentarios, por ahora prematuros, me permito llamar la atención a la *frecuencia de las anjinas* en las enfermedades infecciosas de carácter séptico, tales como las fiebres eruptivas, la fiebre tifoidea (rinofarínjitis tífica), el tifus exantemático, etc., sin contar las infecciones que se localizan en las vías respiratorias.

Las **meningococcias sensoriales** se presentan más o menos en el 15% de los casos i son complicaciones de la meningitis cerebro-espinal que afectan los órganos de la visión i audición i dejan a veces reliquias indelebles.

El Dr. Zarzycki (del Mans, médico mayor de 2.^a clase) menciona las siguientes del órgano de la visión: conjuntivitis, keratitis, úlceras de la córnea, dacryocystitis, flegmones orbitarios, iritis o íridocoroiditis, oftalmia metastática, trombosis de los vasos, neuritis retro-bulbar; éxtasis papilar, neuritis óptica, neuro retinitis, estrabismo con hipertonia glaucomatosa i atrofia consecutiva del globo, etc. Del lado del oído: trastornos laberínticos, otitis media aguda e inflamación mastoídea, sordera absoluta con lesión vestibular, esclerosis del oído medio i parálisis facial. (*Comunic. a la Academie de Med.* 1917, páj. 748).

La **meningitis cerebro-espinal epidémica**, efecto de la localización meníngea del microbio i la que da el nombre a la enfermedad, es la más frecuente, la más conocida i mejor estudiada de las meningococcias. A su trípode sintomático, constituido por los vómitos, la cefalalja i la fiebre, se agregan otros tales como la rijidez de la nuca, que es constante, el signo de Kernig en el 93% de los casos, las convulsiones que son excepcionales i graves, las parálisis que son raras, los dolores jeneralizados, las erupciones cutáneas, a veces trastornos de la intelijencia, complicaciones concomitantes o tardías, etc.

La evolución de la infección i la predominancia i gravedad de ciertos síntomas, dan al cuadro patológico caracteres particulares que permiten distinguir varias formas clínicas. Así, el Dr. Honorat Collette (Tesis de doctorado, París, 1917) las divide en las siguientes formas: fulminante-sobre-aguda-aguda

de recaídas-prolongada caquetisante-abortiva-frustra-septicémica-eclámtica-comatosa i tifoídea.

A estas once formas hai que agregar la forma intermitente, de apariencia palúdica i que según Netter puede revestir los tipos cotidiano i terciano del paludismo. En la mayoría de los casos los síntomas meningíticos suceden a los accesos febriles, faltan a menudo las erupciones cutáneas i aún suelen faltar los síntomas de la meningitis o demoran un mes, dos meses i más en presentarse. (Soc. Med. des Hop. 1917, 12 Octubre.—*Presse Med.*, 1917, páj. 621 i 622. Id. 1918, páj. 34. Dr. Paul Brette, *L'infection meningococcique à type de fièvre intermittente*, Thèse de Lyon, 1918).

Los casos de sintomatología incompleta, el número i variedad de formas clínicas, la existencia de meningococcias localizadas i de la septicemia que complican la meningitis o se muestran como afecciones aisladas, nos hacen comprender las dificultades para llegar a un diagnóstico, aun en tiempos de epidemia. Todavía hai que agregar el hecho señalado por el Dr. Sainton de que muchos enfermos ingresan a los hospitales con diagnóstico erróneo: curvadura febril simple, embarazo gástrico, reumatismo articular agudo, grippe, pneumonía, paludismo, apendicitis aguda, alienación mental, sarampión, escarlatina, etc.

Sin exajerar, por amor al laboratorio, los obstáculos con que el médico tropieza en el camino del diagnóstico, es justo reconocer que en una infección tan variada i compleja, las investigaciones bacteriológicas son más seguras i eficaces para disipar las dudas i afirmar el diagnóstico, que el examen objetivo i sugestivo del enfermo, aun cuando suele acontecer

alguna vez que el bacteriólogo mismo se vea en la imposibilidad de pronunciarse. Tal es la oscuridad que envuelve a las meningococcias, que Boinet cree probable que la mayor parte de los tétanos médicos dependen de la meningitis cerebro-espinal. (*Academie de Medecine*, 1909, vol. I, páj. 634).

Ante las dificultades del diagnóstico clínico, sobre todo en los casos de importación de la enfermedad a un país como el nuestro, hasta entonces indemne, es necesario conocer los medios de que dispone el laboratorio para ayudar al médico en la solución del problema.

Desde luego, hai que descartar la investigación del microbio por inoculación experimental, porque es un medio de mui escaso valor práctico, de resultados inconstantes i que no podría ser empleado entre nosotros por falta de animales sensibles al virus. Pero son suficientes para el diagnóstico bacteriológico el examen directo, los cultivos i las reacciones biológicas.

En la primera parte de este trabajo hemos tratado de la : morfología, caracteres microscópicos i cultivos del meningococcus, i después de sus reacciones biológicas i su diferenciación de las especies microbianas vecinas o parecidas. Sólo nos falta que agregar ciertos detalles de técnica i algunas recomendaciones particulares tendientes a facilitar i apresurar el resultado de las investigaciones que conducen al diagnóstico.

En la mayoría de los enfermos, el líquido céfalo-raquídeo estraído por la punción lumbar es turbio o francamente purulento, i al microscópico de prepa-

raçiones coloreadas, se comprueba la presencia del diplococcus específico. Pero Orticoni i Costa citan observaciones de líquido turbio i Netter de líquido claro en las cuales el resultado del examen directo es dudoso o negativo.

En tales casos se ha pensado en aclarar la duda por la cytología del líquido céfalo-raquídeo i se ha dicho que la polynucleosis es la característica habitual de la infección de la serosa por el meningococcus. Sin embargo, no es posible aceptar esta opinión en vista de observaciones de Menetrier i Mallet, de Vincent i de Netter con linfocytosis evidente; este último autor cita casos que han dado 75 i 95% de linfocytos.

La polynucleosis es más frecuente que la linfocytosis, pero cuando hai esta última o la primera no es preponderante, Netter cree que el análisis químico del líquido, tal como lo indica Mestrezat en su trabajo (*Le liquide céfalo-rachidien normal et pathologique. París, Maloine, 1912*), puede dar casi la certidumbre del diagnóstico, sobre todo cuando se sospecha la meningitis tuberculosa con la cual suele confundirse la meningitis cerebro-espinal de líquido céfalo-raquídeo claro.

Hé aquí las cantidades espesadas en gramos por un litro de líquido que el análisis químico da en la dosificación:

	LÍQUIDO CÉFALO-RAQÚIDEO		
	normal	tuberculoso	meningocócico
Cloruros.....	7,32	5 a 6	6,50 a 7
Albúmina.....	0,18	1 a 3	super. a 3 gr.
Extracto seco...	10,90	10	13 a 16
Cenizas.....	8,80	7,50	super. a 8 gr.

Estas cifras están transcritas en una comunicación de Netter i Salanier a la Sociedad Médica des Hopitaux (*Bull. Inst. Past.* 1915, páj. 422), quienes añaden que el dosaje suministra datos preciosos i que la operación es rápida i fácil.

Cuando el examen microscópico es negativo i el cultivo estéril, sea porque los microbios son escasos o porque han desaparecido, Dopter recomienda: 1.º, la prueba de la aglutinación con el suero del enfermo i un meningococcus conocido; 2.º, la investigación del jermen en la rino-farinje del mismo i, 3.º, la precipito-reacción. (*Revue d'Hygien. et Polic. Sanit.*, 1910, páj. 174).

El **precipito-diagnóstico** de la meningitis cerebro-espinal ha sido experimentado i propuesto por Vincent i Bellot, i se practica del modo siguiente: Se reparte el líquido céfalo-raquídeo, previamente centrifugado hasta su completa clarificación, en tres tubos de ensaye, uno con 100 i los otros dos con 50 gotas cada uno; se agrega a cada uno de los dos primeros una gota de suero anti-meningocócico aglutinante i el tercero sirve como testigo. Los tres se dejan en la estufa a 50º-55º para impedir la multiplicación de jérmenes.

Si la enfermedad es de naturaleza meningocócica, los dos primeros tubos presentarán un enturbiamiento característico al cabo de 8 a 12 horas, mientras que el tubo testigo estará claro. Es una reacción de infección, en algunos casos precoz, porque suele obtenerse 11 a 13 horas después del comienzo de la enfermedad, es menos neta desde el 12º día i desaparece a los 20 días más o menos. Aunque específica, los mismos autores han señalado algunos casos de

errores de diagnóstico que podrían atribuirse a la existencia de co-precipitinas en el suero empleado o a la concentración del líquido en los tubos mantenidos en la estufa a 50°-55°. (*Bull. Acad. de Med.*, 1909, vol. I., páj. 326 i *Revue d'Hygiene*, 1910, páj. 176).

El examen microscópico es también positivo en las preparaciones hechas con exudados de las artropatías i con el contenido de las erupciones hemorrágicas de la piel; pero como con el líquido céfalo-raquídeo, el resultado no es seguro en todos los casos de infección por el meningococcus. En cuanto a la investigación directa en preparaciones de sangre i de otros productos sacados de otras lesiones, nada he podido encontrar en la literatura que he tenido a mi alcance.

La presencia del microbio de Weichselbaum en las manchas de púrpura es de gran valor diagnóstico en los enfermos dudosos o sospechosos i las septicemias sin manifestaciones localizadas. Basta para el examen microscópico de *preparaciones de frotés*, la extracción del material por una simple escarificación de la piel al nivel de las petequias o púrpuras, estenderlo en capa delgada sobre láminas porta-objeto i una vez seco, fijarlo i colorearlo según la técnica ordinaria. El bacteriólogo no debe olvidar de aprovechar la operación para intentar la obtención de cultivos del microbio.

Los cultivos se obtienen por siembra de materias virulentas sacadas del enfermo i sirven para formular primero el diagnóstico «grosso modo» o exacto i después para la identificación del meningococcus, su diferenciación de los pseudo-meningococcus i en caso necesario de los para-meningococcus, como lo exige la curación del enfermo cuando sólo se dispone de sueros monovalentes para el tratamiento de la infección.

Se sabe que el meningococcus no se desarrolla sino en medios nutritivos con albúminas animales i mejor humanas, i en la parte consagrada a la bacteriología, están indicados los que ordinariamente se emplean para éste objeto; pero no está de más anotar otros recomendados por bacteriólogos competentes que los han experimentado i los consideran como ventajosos para el diagnóstico.

A. Marshall (Khartoum) recomienda como método rápido para el aislamiento del meningococcus el cultivo en el medio de Buchanan:

A 600 c. c. de suero claro de buei se mezclan 100 c. c. de caldo ordinario. A otros 100 c. c. de caldo se agregan 8 gramos de glucosa i 1/10,000 de rojo neutro i este líquido se mezcla a la solución suero-caldo.

Se reparte en tubos estériles i se hace coagular su contenido calentando a 90° en un esterilizador a vapor durante 20 minutos. Se llenan de caldo los tubos i se esterilizan a 100°, calentando tres días seguidos durante 20 minutos.

Antes de practicar la siembra se retira el caldo. Después de 12 horas los meningococcus forman pequeñas colonias discretas, brillantes i completamente

rojas. Después de 24 horas las colonias tienen 2 a 4 milímetros i las de otros microbios se ven blanquizcas o amarillentas. (*The Laboratory Journal*, Octubre 1915. *Bull. Inst. Pasteur*, 1916, pág. 228).

Según Nicolle, Debains i Jouan, el aislamiento sobre gelosa-Martin suero (formolado), debe adoptarse como regla i el medio líquido MM que ofrece grandes ventajas, debe aconsejarse como medio asociado.

Preparacion de gelosa-Martin suero (formolado).—Se toman 500 c. c. de suero equino i se tratan por 1 c. c. de formol comercial; después de algunos instantes se agrega 1 c. c. de amoníaco (22° Baumé) para neutralizar el formaldehido, se diluye en dos partes de agua *destilada* i se esteriliza media hora a 110°. Cuando se mezcla a la gelosa-Martin 1/3 de este suero-formolado, no se agrega en realidad sino 1/9 de suero orijinal, lo que es suficiente.

Preparación de lMedio MM (Martin-meningococcus).—Este medio ha sido preconizado simultáneamente por Salimbeni i Hérelle para el pneumococcus i por Jouan para el meningococcus.

Se hace dijering durante 7-8 horas (i no más) a 50°, estómagos de cerdo desgrasados i picados, como para la preparación de la peptona Martin. El agua se calienta primero a 55°, se agrega en seguida 10 c. c. de HCL puro (22° Baumé) por litro i después, ajitando el líquido, 300 gr. del picadillo de estómagos. Trascu- rridas las 7-8 horas de dijering, se hace subir la temperatura de 50° a 80°-90° con el fin de destruir la pep- sina i detener la dijering. La peptona, así obtenida, se conserva sin precauciones durante muchas sema-

nas; los mohos que pudieran desarrollarse no alteran sus propiedades.

Para tener el medio MM, se da al líquido una ligera alcalinidad, se precipita a 120° i se filtra sobre papel húmedo. Se agrega 2 gr. de glucosa, se reparte en tubos o matraces i se esteriliza a 115°.

La gelosa-suero (formolado) tiene la ventaja de los medios sólidos para el aislamiento de microbios; pero cuando el sedimento del líquido céfalo-raquídeo que se siembra contiene pocos meningococcus, dentro de los leucocytos o envueltos en el depósito de fibrina, hai el riesgo de que no aparezcan sus colonias.

Dos partes del medio líquido MM i una parte de líquido céfalo-raquídeo no centrifugado, forman una mezcla con albuminoides que son indispensables para el primer cultivo *in vitro* del meningococcus; Conviene hacer la mezcla a la cabecera del enfermo i dejar los tubos sembrados en posición inclinada dentro de la incubadora para la aeración necesaria a la multiplicación rápida de los jérmenes. Después de 16-18 horas, el cultivo ya desarrollado permite la identificación directa de los microbios por la aglutinación.

En el medio MM los microbios quedan pronto libres i disponen de materias nutritivas abundantes para su desarrollo, lo que esplica un porcentaje más alto de resultados positivos. Pero si el meningococcus está en simbiosis o hai contaminaciones fortuitas, el cultivo resulta impropio para el diagnóstico. Los autores recomiendan, pues, por una doble razón el empleo de los dos medios. (*Ann. de l'Inst. Past.*, 1918, páj. 151).

En resumen, estas preparaciones i el agar-agar-

ascitis son los medios más empleados para el diagnóstico bacteriológico de las meningococcias por cultivo del microbio. Las materias virulentas que suministran la semilla para las siembras, son el líquido céfalo-raquídeo, las manchas cutáneas de púrpura, los exudados de las articulaciones i del epidídimo i tal vez las secreciones faríngeas en los enfermos de anjina (i los portadores).

El pequeño número de jérmenes que puede haber en las materias virulentas i la escasa vitalidad del meningococcus fuera del organismo humano, aconsejan tomar precauciones con el objeto de aumentar las probabilidades de éxito. Una de ellas consiste en practicar la siembra a la cabecera del enfermo i otra, emplear como semilla el sedimento obtenido por centrifugación de líquidos patológicos, sobre todo cuando son claros (líquido céfalo-raquídeo).

W. J. Denchy (Melbourne) que ha hecho 700 exámenes bacteriológicos de líquido céfalo-raquídeo, pone el líquido a 37° lo más pronto posible después de extraído, durante 12 a 24 horas, antes de practicar el examen, i para los traspasos calienta previamente los medios de cultivo a 37°. (*The British Med. Jour.*, 1916, páj. 684).

En los casos de septicemia con localizaciones o sin localizaciones, a lo menos manifiestas, [hai que recurrir a la hemocultura, i cuando se sospecha la infección meningocócica, la siembra de la sangre virulenta tiene que hacerse en medios nutritivos que favorezcan el desarrollo del meningococcus.

La sangre se extrae por punción de una vena su-

perforada i en condiciones de asepsis rigurosa para prevenir contaminaciones estrañas, particularmente de la piel.

Su distribución en medios de cultivo sólidos no es conveniente porque jeneralmente los microbios no son abundantes en la sangre, i la cantidad para un tubo o una placa de Petri es mui pequeña i podría talvez no contenerlos. También hai que pensar en que se necesita contrarrestar la acción de los anticuerpos de la sangre que dificultan el desarrollo del cultivo. Por estas razones debe darse la preferencia a los medios líquidos como el caldo-ascitis (3 por 1) i el medio MM, al cual habría que agregarle líquido ascítico, para darle los albuminoides que le faltan.

Dos matraces, con 200 a 500 c. c. cada uno de alguno de estos medios nutritivos, se siembran con dos a cinco centímetros cúbicos de sangre virulenta recién sacada del enfermo, se ajitan durante algunos minutos i se dejan en la incubadora a 37°. Se elegirán matraces que ofrezcan al líquido una gran superficie de aeración, porque el meningococcus es un microbio esencialmente aerobio.

En caldo-ascitis el enturbiamiento es tardío (2 a 3 días) i en el medio MM a las 24 horas, el cultivo se asemeja al del B. de Eberth en caldo-Martin i la aereofilia se manifiesta en los matraces por un anillo adherente a sus paredes.

Thomsen i Wulff (Copenhague, 1917) han dado un método para la investigación del meningococcus en la sangre i que facilita el envío de las muestras al laboratorio para que lleguen en buenas condiciones, suministrando a los microbios el oxígeno que necesitan para su desarrollo. Consiste en ajitar los reci-

pientes con caldo-ascitis hasta que se forme espuma en la superficie del líquido i entonces se deja caer la sangre sobre la espuma. Esta la estiende por encima i cuando se rompen las burbujas de aire la sangre queda en la superficie del líquido. A las 48 horas se siembran placas de agar-ascitis con una asa de platino que se carga con el virus del caldo-ascitis ya en pleno desarrollo. (*Office Internat. d'Hygiene Publique*, 1918, páj. 681).

(Continuará)

