

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

LABORATORIO DE SEROTERAPIA DEL INSTITUTO DE HIJENE

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

SOBRE

# LOS BACILOS EBERTH Y COLI

(Estudio Comparativo de algunos Métodos para su Investigacion en el Agua)

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

MEMORIA DE PRUEBA

PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN LA FACULTAD DE MEDICINA

FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

PRESENTADA POR

PEDRO SAGRE G.

Ayudante de la Clase de Bacteriología

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

SANTIAGO DE CHILE  
IMPRENTA UNIVERSITARIA  
de S. A. GARCIA VALENZUELA  
41 - BANDERA - 41

1903

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

TUCH  
MED  
1903  
5129a  
C.L

LABORATORIO DE SEROTERAPIA DEL INSTITUTO DE HIJIENE

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

SOBRE

# LOS BACILOS EBERTH Y COLI

(Estudio Comparativo de algunos Métodos para su Investigación en el Agua)

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

MEMORIA DE PRUEBA

PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN LA FACULTAD DE MEDICINA  
I FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



PRESENTADA POR

PEDRO SAGRE G.

Ayudante de la Clase de Bacteriología

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

SANTIAGO DE CHILE  
IMPRENTA UNIVERSITARIA  
de S. A. GARCIA VALENZUELA

41 - BANDERA - 41

1903



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

## Dedicatoria



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

A mi Distinguido Profesor de Bacteriología



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Dr. Mamerto Cádiz



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

que me sirvió de guía en este trabajo i me auxilió

con sus valiosos conocimientos.



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

El Autor.



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



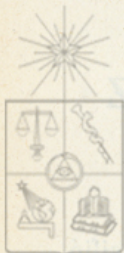
Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

## INTRODUCCION



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

La investigacion del bacilo del tífus en el agua potable ha sido uno de los temas mas interesantes que ha preocupado la atencion de los mas eminentes bacteriólogos e higienistas, desde que la observacion i el estudio de la marcha de muchas epidemias demostraron la parte importante que le correspondia al agua de bebida en la trasmision de la fiebre tifoidea.

Por su orijen fecaloideo, principalmente, el bacilo tífico llega al agua acompañado del *bacillus coli*; éste último es relativamente mucho mas abundante en las deyecciones de los tifoideos como lo demuestra la esperimentacion.

THORNE-THORNE habia demostrado antes del descubrimiento del bacilo de Eberth que toda agua que recibe deyecciones tíficas, se trasforma en un vehículo apropiado para la difusion de la fiebre tifoidea en las personas que tienen que usar esta agua para la bebida.

THORNE sostiene que la gran epidemia de fiebre tifoidea de *Caterham Reigate* i demas pueblos vecinos, se debió exclusivamente al agua de la «*Kent Water Co.*» en uno de cuyos pozos se habia arrojado deyecciones, i, sin duda, orinas de un empleado de esa compañía que estaba enfermo de tifoidea.

A los sabios investigadores KOCH, EBERTH, GAFFKI les debe-



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



mos el estudio completo i la comprobacion de la existencia de aguas infestadas con bacilo de Eberth que producen la fiebre tifoidea.

La adquisicion de esta verdad científica no admite ya discusion. Pensemos si nó un momento en las epidemias de tifoidea que han azotado a muchas ciudades que se abastecian de aguas impuras i que, una vez que han cambiado sus fuentes de produccion por otras en que se consultaba todas las exigencias de la higiene, han visto reducirse la enfermedad a casos aislados.

Como ejemplo, podemos citar la ciudad de *Viena* que se surtia de agua del rio Danubio; era ésta una de las ciudades que mas sufría de fiebre tifoidea. Se reemplazó el agua primitiva por una traída de las montañas. La fiebre tifoidea desapareció entonces casi por completo.

En la ciudad del *Havre* en el año 1887 i 1888 aparecieron epidemias de tifoidea cuya causa demostró *BROUARDEL* se debía al agua de bebida.

En *Chicago* donde la fiebre tifoidea hacía numerosas víctimas, se debía esta enfermedad, según *HUFF*, al agua de bebida contaminada.

Así como en estas ciudades, en otras ha ocurrido igual cosa, hasta que se ha hecho un cambio radical en la provision del agua.

*THOINOT* ha hecho una interesante estadística sobre los casos de fiebre tifoidea ocurridos en los soldados que cubrian la guarnicion de la ciudad de *Rennes* ántes i despues que ésta se surtiera de agua potable pura.

La mortalidad anual que se presentaba a consecuencia de la fiebre tifoidea cuando se surtian de agua impura era de 42,5 por 10,000 término medio.

Cuando se mejoró la provision del agua, la mortalidad anual bajó a la cébil cifra de 2,3 por 10,000.

En la ciudad de *Valparaiso* el año 92 reinó una epidemia de tifoidea. Los señores *Salazar* i *Newman* hicieron entonces un

estudio sobre el agua que surtía a esa poblacion; demostraron que estaba contaminada con materias fecales.

Posteriormente el Dr. *Mourgues* hizo exámenes del agua de esa ciudad i comprobó que los estanques *San Agustin* i *Monte Alegre* estaban contaminados con materias fecales; además comprobó bacteriológicamente la presencia del bacilo del tífus en el agua de los dos estanques.

Es pues de un alto interes poseer un procedimiento, de investigacion del bacilo del tífus en el agua, que sea de lo mas sencillo, exacto i de una ejecucion lo mas rápida posible, porque entonces se puede, casi desde el primer momento, detener una epidemia de fiebre tifoidea.

En este trabajo pasaré en revista los métodos difererenciales antiguos, mas importantes que se han usado en la investigacion del bacilo tífico en el agua. En seguida describiré los métodos modernos, detallando los experimentos que he efectuado con cada uno de ellos.





Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



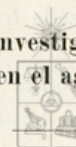
Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

## PRIMERA PARTE



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Métodos antiguos de investigación del bacilo del tífus  
en el agua



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

### METODO DE CHANTEMESSE I WIDAL

Las primeras comprobaciones anunciadas sobre la presencia del bacilo del tífus en el agua fueron: las de MOERS en 1886 i las de IVAN MICHAEL en 1886 que lo encontraron en aguas de pozos.

Despues aparece la mas completa de CHANTEMESSE I WIDAL que lo hallaron en aguas de pozos i en aguas de otras fuentes que surtian a la ciudad de Paris.

El procedimiento de estos autores está fundado en la resistencia que presentan los bacillus coli i bacilo de Eberth cuando se encuentran en presencia de soluciones débiles de ácido fénico.

Se necesita para este procedimiento:

- 1.º Agua destilada fenicada al 6%.
- 2.º Jugo de papas esterilizado, filtrado para suprimir los grumos coagulados i vuelto a esterilizar.



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



3.º Solucion esterilizada de peptona al 25%.

4.º Caldo N.º 1, preparado con:

- |                                    |     |      |
|------------------------------------|-----|------|
| a) caldo normal de buei.....       | 800 | grs. |
| b) solucion fenicada al 6%.....    | 90  | »    |
| c) jugo de papas.....              | 20  | »    |
| d) solucion de peptona al 25%..... | 90  | »    |



5.º Caldo N.º 2, preparado con:

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

- |                                      |     |      |
|--------------------------------------|-----|------|
| a) agua destilada esterilizada.....  | 880 | grs. |
| b) caldo N.º 1.....                  | 100 | »    |
| c) solucion fenicada al 6%.....      | 8   | »    |
| d) solucion peptonizada fresca ..... | 12  | »    |

El análisis debe hacerse con la mayor cantidad posible de agua. Se usa para esto una bujía Chamberland esterilizada que se coloca en el agua sospechosa; la estremidad abierta se pone en comunicacion por medio de un tubo de goma con una trompa de agua que sirve para hacer el vacío. El agua en exámen se reduce así a  $\frac{1}{2}$  litro, cantidad en la cual se incluyen por medio de un papel de filtro esterilizado los bacterios que están adheridos a la bujía.

Se reparte el agua en fracciones de 50 cc<sup>3</sup> en frascos signados a la altura de 50 i de 60 cc<sup>3</sup>; se agrega el caldo número 1 hasta la línea que marca 60 cc<sup>3</sup>. Se ajita i se obtiene así una mezcla que contiene para 1,000 cc<sup>3</sup>, 835 gramos del agua sospechosa, 132 gramos de caldo de buei, 15 gramos de agua fenicada al 6%, 15 gramos de solucion peptomizada al 25% i 3 gramos de jugo de papas.

Los frascos se colocan a la estufa a 35° C.

Desde el momento en que se manifiesta su enturbiamiento, se siembra en un tubo que contiene caldo número 2. Se siembra así igualmente un tercero i un cuarto i aun un quinto tubo.

Mientras mas impura es el agua, mas hai que multiplicar

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

los pasajes sucesivos. Algunas gotas del último caldo turbio, por fin, se distribuyen en tubos de jelatina líquida. Despues la jelatina se vacia en placas de Petri.



Museo Nacional de Medicina

MÉTODO DE THOINOT, 1887

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

El procedimiento de este autor es el siguiente:

A 500 gramos de agua sospechosa se le agregan 20 gotas de ácido fénico puro. Con esta agua se hacen siembras en placas que desde luego muestran en la jelatina las colonias del bacilo típico.

MÉTODO DE M. LOIR, 1887

Hace previamente filtracion de una gran cantidad de agua sospechosa. El residuo que queda sobre la bujía es el que sirve para hacer la siembra en placas de jelatina fenicada.

MÉTODO DE RODET POR LA TEMPERATURA, 1889

Reposa en la posibilidad de la vejatacion del bacilo de Eberthi del bacilo coli a 45° de temperatura, con la cual no pueden prosperar la gran mayoría de los microbios.

En cuatro o cinco matraces con caldo se hace la siembra del agua que se va a analizar. Se colocan en la incubadora a 45°.

Al fin de 48 horas se retiran los matraces i se examinan. Si está límpido el caldo, el análisis está terminado; el agua no contiene ni *bacillus coli* ni bacilo de Eberthi.

Si los matraces tienen el líquido turbio se les aisla en placas de jelatina, etc.

MÉTODO DE VINCENT, 1890

Hace intervenir la accion del ácido fénico a débiles dosis i la accion de la alta temperatura. Esta doble accion es ventajosa para el crecimiento del bacilo típico i desfavorable para

Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



los otros bacterios del agua, porque no pueden multiplicarse. La técnica de este procedimiento es la siguiente: Se siembra una pequeña cantidad de agua de la que se trata de examinar, con una a veinte gotas, en cinco a seis tubos de caldo, a los cuales se les agrega una gota de ácido fénico al 5% por cada dos cc<sup>3</sup> de caldo.

Se colocan a 45°. A las ocho o a las doce horas despues, el caldo puede estar ya turbio; se siembra entónces una gota del líquido en cinco o seis tubos con caldo fenicado preparado como los anteriores. Se colocan a 42°. Se siembra por fin en placas de jelatina.

Con este procedimiento solo se pueden examinar algunos centímetros cúbicos de agua.

#### MÉTODO DE PERÉ, 1891

Aconseja este investigador tambien los caldos fenicados, pero su manera de operar le permite emplear cantidades mas considerables de agua para su examen.

Su método es el siguiente:

En un matraz esterilizado, de capacidad de un litro, se introduce el medio nutritivo siguiente:

Caldo nutritivo.....	100 cc <sup>3</sup>
Solucion peptonizada al 10%.....	50 cc <sup>3</sup>

Se esteriliza.

Se agregan 600 a 700 cc<sup>3</sup> del agua que se va a analizar.

De una solucion de ácido fénico al 5% se toman 20 cc<sup>3</sup> i se agregan a la mezcla anterior. Por último se agrega mas del agua sospechosa hasta completar un litro.

Se coloca el matraz, o los pequeños matraces si se hace la reparticion del líquido en éstos, a la temperatura de 34°. La temperatura no debe pasar de 36°, porque se corre el riesgo de hacer perecer todos los jérmenes.

Se deja la mezcla durante 18, 24 o 36 horas. En el agua que contenga bacilos tíficos o *bacillus coli*, se producirá el enturbiamiento de ella, tanto mas ligero cuanto mayor sea la cantidad de microbios.

Desde el momento en que el enturbiamiento se ha hecho aparente, se siembra de este líquido con una asa de platino, algunos tubos que contienen el medio preparado de la manera siguiente:

Acido fénico.....	1 gramo
Caldo ordinario.....	10 gramos
Peptona.....	5 »

Esta solucion se guarda en tubos cerrados a la lámpara i esterilizados a 110°. Cuando se va a preparar el medio de que hablamos, se le agrega agua destilada hasta completar 1 litro. Se reparte en tubos i se esteriliza.

Los tubos sembrados se dejan en la incubadora 6 horas a 34°. Se hace un nuevo traspaso a tubos con el mismo líquido. **Aun se hace un tercer pasaje.** Despues se hace la siembra en caldo normal.

Por último este líquido se siembra en placas de jelatina.

Este procedimiento de Peré es el que siempre se ejecuta en el curso de bacteriología del profesor Cadiz.

#### MÉTODO DE PARIETTI, 1891

Este autor emplea una solucion de ácido fénico que contiene 5 gramos de ácido carbólico i 4 gramos de ácido clorhídrico en 100 gramos de agua destilada.

De esta solucion agrega 3, 6 i 9 gotas a tubos que contienen 10 cc<sup>3</sup> de caldo ordinario.

Estos tubos se siembran con dosis crecientes (1, 2, 10 gotas del agua que se va a examinar. **Se colocan a 37°.**

Cuando existen *bacillus coli* i bacilos tíficos, el caldo se en-







WWW.MUSEOMEDICINA.CL turbia. Se hacen varios pasajes sobre el mismo medio i se siembran placas.

MÉTODO DE ELSNER, 1895



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Este procedimiento fué ideado para investigar el bacilo de Eberth en las deyecciones. Después se ha extendido su uso para hacer indagaciones del bacilo en el agua.

Emplea el autor lo siguiente:

1) Jelatina especial preparada con:

- a) Maceración de 500 gramos de papas rayadas en un litro de agua, durante algunas horas.
- b) Filtrar i enterar un litro.
- c) Agregar 150 gramos de jelatina. Se disuelve al baño-maria.
- d) Neutralizar con solución de soda al 10%.
- e) Acidificar ligeramente con un poco de jugo de papas.
- f) Calentar en el autoclavo a 115° durante 15 minutos.
- g) Filtrar en caliente sobre papel mojado.
- h) Repartir en tubos en cantidad de 9 cc<sup>3</sup> para cada uno; esterilizar 15 minutos a 115°.

2) Solución de yoduro de potasio al 10%.

El exámen del agua debe ejecutarse con la mayor cantidad de líquido posible. Con este objeto se hace pasar el agua a través de una bujía de Chamberland. El sedimento que queda en la bujía se siembra en caldo. De éste se hace siembra en jelatina de Elsner fundida. Antes de sembrarla se le agrega 1 cc<sup>3</sup> de la solución de yoduro de potasio. Se le vacía en placas de Petri. Se dejan éstas a 20° C.

Pocas especies prosperan en este medio. Las colonias de *bacillus coli* se desarrollan muy lijero; a las 20 horas tienen su aspecto habitual. A débil aumento tienen tinte amarilloso muy pronunciado i son netamente granulosas. Las colonias tíficas se desarrollan mas lentamente. A las 48 horas son aun pequeños puntos notablemente mas reducidos que las colonias de

coli; son transparentes, semejantes a gotas de rocío. Este procedimiento se ejecuta en la clase de bacteriología del doctor Cadiz.



Museo Nacional de Medicina

MÉTODO DE POUCHET, 1897

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Se preparan matraces de 275 cc<sup>3</sup> que contienen 100 gramos de caldo; se esterilizan. Se les agrega 5cc<sup>3</sup> de agua fenicada al 5 por 100.

Así preparado se les añade 150 cc<sup>3</sup> del agua que se va a examinar i se colocan a 42°.



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Si el agua contiene bacilo de Eberth o *bacillus coli* se produce un enturbiamiento del líquido en 24 o en 48 horas.

En caso de enturbiamiento se hace una serie de pasajes de 48 en 48 horas en tubos que contienen por cada 10 cc<sup>3</sup> de caldo, 6 gotas de solución fenicada al 5 por 100 i que se mantienen a 42°.

Después de tres pasajes, se hacen siembras en tubos que contienen caldo ordinario.

Se colocan éstos a 36° i se hacen de la siembra cultivos de control.



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Por último se hacen siembras en placas de jelatina.

MÉTODO DE PROKOWSKI, 1899



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Aconseja el empleo de medios adicionados de orina. Estos medios se obtienen agregando a la orina ordinaria peptona, jelatina o gelosa en las proporciones habituales sin modificar la reacción alcalina; se usan 0,50 gramos de peptona por 100, 3,30 por 100 de jelatina; se calienta una hora a 100° C, se filtra, se reparte en tubos, se esteriliza a 100° durante ¼ de hora. Al día siguiente se esteriliza durante diez minutos.

En este medio se hace la siembra i se vacía el contenido en placas de Petri. Se colocan a 22°. A las veinte horas hai desarrollo especialmente de *bacillus coli* i bacilo de Eberth. Las



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



colonias de *coli* son netamente redondeadas, opacas, amarillentas. Las tíficas son opalescentes; se parecen un poco a colonias de hongos.

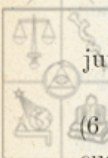
Este método como el de Elsner fué ideado para hacer investigaciones del bacilo del tífus en las deyecciones.

Pero despues se ha estendido a buscar el bacilo de Eberth en el agua.



Métodos modernos de investigacion del bacilo del tífus en el agua

MÉTODO DE CHANTEMESSE, 1901



Este autor consigue con su método, hacer proliferar i rejuvenecer los bacilos tíficos que contiene el agua impura.

En un recipiente que encierra el agua que se va a analizar (6 litros) se coloca una bujia Chamberland esterilizada, en la cual se hace el vacío. Se detienen así sobre la superficie esterna todos los microbios. Se lava esta bujia con 200 gramos, de una solucion estéril de peptona al 3%.

Se obtiene así un líquido turbio que se coloca a la estufa a 37°, en un bocal pequeño de cuello ancho. El orificio del bocal está cerrado por un tapon de cautchue perforado por cuatro agujeros: en el primer orificio se introduce una pequeña bujia porosa filtrante; en el segundo se coloca un tubo de vidrio provisto en su parte superior de un tapon de algodón, por este tubo desciende el aire al fondo del líquido i se renueva constantemente. En el tercer orificio se introduce un tubo de vidrio destinado a hacer el vacío. Por último en el cuarto orificio se coloca un tubo de vidrio que está en comunicacion por su parte superior con un vaso lleno de agua peptonizada estéril al 3%.

Cuando el aparato está en marcha, se hace el vacío en el frasco para aspirar i hacer golpear el aire; en seguida se hace salir por aspiracion al traves de la bujia, el líquido que ha servido para el cultivo i que arrastra con él los productos solubles de las secreciones microbianas.

Los jérmenes quedan retenidos en el vaso i sobre las paredes de la bujia; se hace penetrar despues por uno de los tubos nueva cantidad de agua peptonizada estéril. El cultivo empieza entónces en un caldo fresco. El cambio del líquido debe ser verificado en cada doce horas unas dos veces a lo ménos. Al fin de este tiempo el bocal encierra un cultivo estremadamente rico en microbios en que todas las especies, i entre ellas el bacilo tífico, capaces de crecer a 37° en un medio tan favorable como el agua peptonizada bien aireada, han proliferado i encontrado la juventud i enerjia.

El caldo de cultivo se coloca en la centrifugadora. En el fondo de los tubos de centrifugacion aparece un sedimento formado sobre todo de microbios voluminosos, poco móviles o de cadenas de micro-cocos. Los bacilos tíficos quedan en suspension en gran número en el líquido. Este servirá para sembrar el medio de diferenciacion compuesto de:

Agua peptonizada.....	3%
Jelosa .....	2%

Se cuece en autoclavo a 120° durante ¾ de hora a fin de suprimir la espulsion de agua que se hace despues de la solidificacion de la jelosa.

Este medio debe ser perfectamente neutro. Algunos minutos antes de utilizarlo se le agrega 1,05 de ácido fénico cristalizado por 1000. Es importante que la agregacion de ácido fénico sea reciente, pues sobreviene poco a poco disminucion de la cantidad de fenol por el hecho de su combinacion con materias orgánicas.

Se procede así: En el medio de cultivo fundido i mantenido





en el baño maría a 46° se vacía por cada 50 gramos de jelosa 2 cc<sup>3</sup> de una solución de ácido fénico cristalizado al 1 por 40.

Una docena de tubos esterilizados i colocados al baño maría a 42° reciben cada uno 2 cc<sup>3</sup> de jelosa fenicada. En estos tubos se hace la siembra. Una vez practicada esta se colocan los tubos a 46° en el baño maría. La jelosa mantenida así mui líquida, se ajita suavemente i se hace rodar sobre la superficie interna del tubo que se moja en todo su alrededor. Se solidifica así en una delgada película. Se cambia el tapon de algodón por uno de cautchuc que se ha mantenido en parafina en fusión; así queda asegurado el cierre hermético del tubo i la conservación de la jelosa sin desecarse. Se colocan a 37°. Se desarrollan colonias aireadas superficiales.

A las 16 o 17 horas las colonias de *bacillus coli* se han hecho visibles. Se marcan estas colonias i se dejan los tubos en la estufa. A las 18 o a las 24 horas aparecen colonias pequeñas. Examinadas a débil aumento están constituidas por dos especies microbianas distintas. Las unas están rodeadas siempre de un contorno claro, transparente; son colonias tíficas. Las otras colonias pequeñas tienen un centro oscuro i la zona que rodea este centro es amarillosa. Son micrococos.

Cuando se han reconocido las colonias se las levanta con un hilo de platino i se siembran en caldo. A uno de los tubos se le agrega suero aglutinante anti-tifoideo que permite un diagnóstico inmediato.

Este método de Chantemesse tiene algunos escollos que no hemos podido salvar al querer ejecutar experimentos con él. El principal es la fabricacion del aparato que es bastante difícil. No hemos tenido elementos para ejecutarlo, por lo cual lo pasamos por alto.

#### MÉTODO DEL CULTIVO FILTRANTE CAMBIER, 1901

Cuando se deposita en un tubo ancho de vidrio, cerrado en uno de sus extremos, una bujía de porcelana suficientemente

porosa que contiene caldo ordinario hasta su parte media i lo mismo el tubo que incluye a la bujía (el todo ha sido esterilizado a 100°) i se siembra en el interior de ella una asa de cultivo de tifus, se comprueba al cabo de algunas horas de colocada a 37° que el caldo que rodea a la bujía, el cual antes del experimento era completamente límpido, se ha enturbiado. Esto manifiesta que el bacilo ha pasado a través de la bujía.

Esta propiedad del bacilo tífico de atravesar las paredes de un material poroso fué la que hizo nacer en CAMBIER la idea de investigarlo en el agua.

Procede del modo siguiente: Siembra una cierta cantidad de agua en el interior de la bujía preparada del modo indicado anteriormente. Una vez hecha la siembra se coloca a 37°. Desde el momento en que un enturbiamiento se manifiesta en el caldo exterior, se toma con la ayuda de una pipeta mui afilada una pequeña cantidad del líquido turbio que se siembra en el caldo. En seguida se hace la identificación empleando suero anti-tifoideo i demas medios de diferenciación.

Muchas veces es tan neto el pasaje del bacilo tífico que se encuentra en el caldo exterior un cultivo puro de este bacilo. Cambier recomienda aun un medio que impediria al máximo el cultivo de los otros microbios i favorecería el cultivo del bacilo de Eberth.

Preparacion del medio nutritivo Cambier.

- |   |                      |
|---|----------------------|
| 1) Solucion peptonizada Defresné al 3% .....  | 1000 cc <sup>3</sup> |
| 2) Solucion de soda cáustica.....             | 12 cc <sup>3</sup>   |
| 3) Solucion saturada de cloruro de sodio..... | 12 cc <sup>3</sup>   |

Se prepara por separado i se esteriliza. Se mezcla despues de esterilizada i fria.

#### ESPERIMENTOS

N.º 1. Se prepararon dos bujías con caldo del modo indicado anteriormente. De un cultivo puro de tifus tomamos una asa i



la sembramos en el interior de la bujía. Se colocó a 37°. Apareció el enturbiamiento a las 43 horas.

N.º 2. La otra bujía preparada se sembró con un cultivo puro de *bacillus coli*. Se colocó a 37°. El caldo se enturbió a las 41 horas.

N.º 3 Se sembraron nueve litros de agua potable con una asa de cultivo puro de tífus. De este líquido infectado tomamos en una asa para sembrar el interior de una bujía lista como las anteriores. Se colocó a 37°. Se enturbió el caldo a las 45 horas.

N.º 4. Se sembraron diez litros de agua potable con una asa de un cultivo de tífus. De esta agua infectada se tomaron con una pipeta Pasteur algunas gotas. Se sembraron varias bujías preparadas del modo indicado anteriormente. Las bujías empleadas eran dos Chamberland i una Garros. La cantidad de líquido sembrado en cada bujía fué de 5 gotas.

En una de las bujías Chamberland se colocó caldo de Cambier, a esta bujía la llamaremos *B*; en la otra Chamberland colocamos caldo ordinario, a esta bujía la designaremos con la letra *E*. La tercera bujía marca Garros se la dejó lista con caldo ordinario, la denominaremos *F*.

Las tres bujías sembradas se dejaron a 37°.

A las 40 horas se enturbió el líquido en el tubo que contenía la bujía *B*. De este líquido turbio se tomaron inmediatamente algunas gotas i se sembraron cuatro tubos: dos con medio de Cambier i dos con caldo ordinario. A uno de los tubos con Cambier i a otro con caldo ordinario se les agregó a cada uno tres gotas de suero anti-tifoideo. Se dejaron a 37°. A las 18 horas existía enturbiamiento en los tubos. En los que añadimos suero existía aglutinación manifiesta. Del líquido turbio de los tubos se sembró en jielatina haciéndose placas. Al examinar las placas existían colonias de aspecto de tifoideas. Se tomó una de estas colonias i se sembró en caldo. El caldo se enturbió. De este caldo turbio se hicieron siembras en los medios diferenciales con el bacilo coli, obteniendo resultado positivo en favor del tífus.

El tubo *E* que contenía bujía Chamberland i provisto de caldo ordinario se enturbió a las 64 horas. Del líquido turbio se sembraron 4 tubos: dos que contenían el medio de Cambier i dos con caldo ordinario. A uno de los tubos con Cambier i a otro con caldo ordinario se les agregó 3 gotas de suero anti-tifoideo. Se colocaron a 37°. A las 20 horas existía enturbiamiento en los 4 tubos; en los con suero apareció la aglutinación.

Del líquido turbio se hicieron placas de jielatina. Aparecieron colonias de aspecto de tifoideas. Se sembró una de estas colonias en caldo. El caldo se enturbió. De este líquido se hizo la serie de medios diferenciales conocidos.

En el tubo *F*, hasta muchos días después del experimento, no apareció enturbiamiento. No lo seguí más.

N.º 5. Se sembraron diez litros de agua de una acequia con una asa de cultivo de tífus. De este líquido tomamos con una pipeta Pasteur una pequeña cantidad i se sembraron algunas bujías. Las bujías que se emplearon fueron también tres: dos Chamberland i una Garros. Se sembró en cada una la cantidad de 5 gotas.

En una de las bujías Chamberland se colocó medio de Cambier *C*; en la otra Chamberland se colocó caldo ordinario *A* i en la Garros se usó también el caldo ordinario. Esta bujía la llamaremos *D*.

Se colocaron a 37°. Al examinar los tubos encontramos a las 22 horas enturbiamiento en el tubo *A* que contenía bujía de Chamberland i caldo ordinario. Se sembró inmediatamente este líquido turbio en 4 tubos: dos que contenían el medio de Cambier i dos con caldo ordinario. Se agregaron a un tubo de Cambier i a otro con caldo ordinario 3 gotas de suero anti-tifoideo i se dejaron a 37°. A las 20 horas existía aglutinación en los tubos en que agregamos suero; en los otros dos enturbiamiento.

Se tomó de este líquido turbio i se hicieron placas de jielatina. Aparecieron colonias de aspecto tifoideo. Se tomó una de estas





colonias i se sembró en caldo. En cuanto se enturbió el caldo, se hizo siembra en los medios diferenciales. Se obtuvo resultado positivo en favor del tífus.

El tubo C preparado con una bujía Chamberland i que contenian medio de Cambier sufrió el enturbiamiento a las 40 horas.

De este líquido turbio se hizo siembra en 4 tubos: dos que contenian medio de Cambier i dos con caldo ordinario. A cada uno se le sembró con 5 gotas del líquido turbio. A uno de Cambier i a otro con caldo ordinario se les agregaron 3 gotas de suero anti-tífico. Se colocaron a 37°. A las 20 horas existia aglutinacion en los tubos en que agregamos suero. En los otros dos existia solo enturbiamiento. De este líquido turbio se hicieron placas de jelatina. Aparecieron colonias de aspecto de tifoideas. Se tomó una de éstas i se sembró en caldo. Cuando se enturbió el caldo se hizo siembra en los medios diferenciales. El resultado fué positivo para el tífus.

El tubo D preparado con una bujía Garros i provisto de caldo ordinario se enturbió a las 68 horas. Se tomó de este líquido turbio i se hizo siembra en 4 tubos: dos con caldo ordinario i dos con medio de Cambier. A uno Cambier i a otro con caldo ordinario se les agregó 3 gotas de suero anti-tífico. Se dejaron a 37°. A las 20 horas habia aglutinacion en los tubos a los cuales agregamos suero. Los otros dos tubos se enturbiaron. De este líquido turbio se hicieron placas de jelatina. Se tomó una de éstas i se sembró en caldo. Cuando apareció enturbiamiento en el caldo se procedió a hacer siembras en los medios diferenciales. El resultado fué positivo para el tífus.

#### MÉTODO DE CHANTEMESSE, 1902

##### Jelo-diagnóstico de las aguas que trasmiten la fiebre tifoidea

Este método tiene por objeto: 1.º Provocar una pululacion de los jérmenes tíficos contenidos en los materiales sospechosos.

2.º Obtener sobre jelosa colonias mui superficiales. 3.º Hacer por el ácido fénico esta jelosa impropia para el cultivo de muchos microbios, escepto para el *bacillus coli* i bacilo tífico. Facilitar la diferenciación de estos dos jérmenes por el cultivo en un medio adicionado de lactosa i tornasol en que las colonias de *bacillus coli* toman un color rojo i las colonias tíficas toman un tinte azul. 5.º Hacer el diagnóstico por la aglutinacion con un suero aglutinante anti-tifoideo.

La técnica de este procedimiento es la siguiente:

Un litro de agua sospechosa se filtra a traves de un papel de filtro; se agregan 30 gramos de solucion peptonizada Defresne al 3% i neutralizada. Se coloca el líquido a 24° durante 20 horas; se filtra de nuevo si hai grumos. Se adiciona de suero anti-tífico. Se deja que se forme el depósito durante 2 horas. Se decanta, se filtra. Los grumos quedados sobre el filtro, se siembran sobre jelosa lactosada, fenicada i tornasolada, colocada en placas de Petri. Se colocan las placas a 37°. Antes de las 18 horas aparece desarrollo. Se reconocen las colonias tíficas por su pequeñez i por su aspecto azul nacarado. Se toma una de estas colonias con un hilo de platino i se siembra en caldo que contiene algunas gotas de suero. Algunas horas mas tarde aparecerá la aglutinacion.

#### Preparacion del agar de Chantemesse

Agua peptonizada Defresne.....	3%
Agar-Agar .....	2%
Lactosa.....	2%

Al Agar-agar fundido se le agrega, ántes de ponerlo en las placas, por cada diez cc<sup>3</sup>:

Solucion de ácido fénico al 3%... ..	4 gotas
Tintura de tornasol sensible.....	1 cc





ESPERIMENTOS

N.º 1.—Se hacen 4 placas segun la técnica indicada. Se siembran con una espátula de vidrio 2 placas con un cultivo de *bacillus coli* i dos placas con cultivo de bacilo de Eberth. Se dejan a 37°. Al examinarlas a las 18 horas se encuentran en las placas sembradas con bacilo de Eberth colonias pequeñas, de 2 mm de diámetro mas o ménos, transparentes, con tinte violeta; parecen gotas de rocío; las sembradas con *bacillus coli* presentan colonias mas grandes de un diámetro de 4 a 5 mm son de color rojo claro algunas, otras color rojo oscuro i algunas con una aureola rojiza.

N.º 2.—Se sembraron dos placas de agar de Chantemesse con una mezcla de cultivo de *bacillus coli* i de cultivo de bacilo tífico. Se dejaron a 37°. A las 18 horas existia un desarrollo típico de las 2 clases de colonias. Se veian colonias rojas i colonias azules pequeñísimas como gotas de rocío.

N.º 3.—Se tomaron 3 litros de agua i se sembraron con una asa de un cultivo de tífus i una asa de un cultivo de *bacillus coli*.

Se sacó un litro de este líquido, se mezcló con 30 gramos de solución neutra de peptona Defresne. Se dejó la mezcla durante 20 horas a 24°. El líquido presentó enturbiamiento. De este líquido turbio se tomaron 10 cc<sup>3</sup> i se les agregaron 3 gotas de suero anti-tifoideo. Al cabo de 2 horas, existian grumos en el líquido. Se filtró. En seguida se tomó con una espátula de vidrio el sedimento retenido sobre el papel de filtro i se procedió a sembrar 4 placas de agar de Chantemesse. Las placas se sembraron una en pos de la otra sin esterilizar la espátula.

Se colocaron las placas a 37°. A las 18 horas se vió en las placas un desarrollo de colonias de lo mas manifiesto. Existian colonias pequeñísimas que tenían el aspecto de gotas de rocío i colonias mas grandes de 2 mms. mas o ménos que tenían color rojizo.

Se tomó una colonia de las pequeñas azulejas i se sembró

en caldo. Cuando se enturbió el caldo se le agregaron 3 gotas de suero. Antes de dos horas se produjo la aglutinacion. Despues se hizo siembra en los medios diferenciales. El resultado fué positivo para el tífus.

N.º 4.—Se tomaron cinco litros de agua potable i se la sembró con una asa de un cultivo de tífus i una asa de un cultivo de *bacillus coli*.

Se tomó un litro de esta agua i se la mezcló con 30 gramos de solución de peptona Defresne, neutralizada. Se dejó la mezcla a 24° durante 20 horas. El líquido se enturbió. De este líquido se tomaron 10 cc<sup>3</sup> i se le agregaron 3 gotas de suero anti-tífico. Al fin de 2 horas, se formaron grumos. Se filtró i en seguida con la espátula se tomó el sedimento i se sembraron cuatro placas. Se colocaron a 37°. A las 18 horas de colocadas a 37° existian un desarrollo de colonias manifiesto. Se veian colonias de aspecto de gotas de rocío pequeñísimas i colonias mas grandes de color rojizo.

Se aisló una de las colonias pequeñas en caldo; se hizo una mezcla con 3 gotas de suero. A las pocas horas apareció la aglutinacion. Se hizo en seguida siembra en los medios diferenciales. Se obtuvo resultado positivo en favor del *bacillus tífico*.

MÉTODO DE DRIGALSKI I CONRADI

Estos autores centrifugan el agua primeramente i del sedimento hacen la siembra en placas con agar especial. Ademas agregan a cada placa sembrada 1 a 2 cc<sup>3</sup> de agua en la superficie.

Preparación del agar de Drigalski i Conradi

a) 1½ kilos de carne de buei se maceran con dos litros de agua hasta el próximo día. El líquido decantado se hace hervir durante 1 hora, se filtra, se agregan 20 gramos peptona de Witte, 20 gramos de nutrosa i 10 gramos de sal. Se hierve



1 hora, se filtra. Se agregan 60 gramos de agar, se hierve 3 horas (o una hora en el autoclavo). Se alcaliniza ligeramente, se filtra, se hierve media hora.

b) Solucion de tornasol (segun Kubel i Tieman) 260 cc<sup>3</sup> que se hacen hervir diez minutos, se les agrega lactosa pura 30 gramos, se hace hervir 15 minutos.

c) La solucion de tornasol lactosada se agrega al agar caliente, (véase a) se ajita bien, se restituye la reaccion ligeramente alcalina que puede haber desaparecido.

Se agregan en seguida 4 cc<sup>3</sup> de una solucion estéril i caliente de soda al 10% i 20 cc<sup>3</sup> de una solucion recién preparada de violeta-cristal B Höchst al 0,1 gramo por 100 cc<sup>3</sup> de agua destilada esterilizada.

Se obtiene así un agar nutrosa peptonizada con 13% de solucion tornasol lactosada i 0,01 por 1000 de violeta-cristal, que es de consistencia bastante dura sin ser demasiado seca.

Una parte del agar así preparado se vacia en placas. Lo demas se guarda en matraces de 200 cc<sup>3</sup> de capacidad.

PREPARACION DE LAS PLACAS

Las placas que se emplean son de 1 a 2 centímetros de altura i de 15 a 20 de diámetro. El espesor del agar no debe ser menor de dos milímetros.

Una vez vaciado el agar en las placas, se dejan abiertas durante 1 hora hasta que se evapore el agua.

La siembra de las placas se hace con una varilla especial de 5 milímetros de espesor. Una de las estremidades se dobla en ángulo recto en una estension de 5 a 6 centímetros. La estremidad de la varilla se da provee de un boton ligeramente doblado. Con esta varilla se hace la siembra en una serie de placas. Se deben sembrar las placas una en pos de otra sin esterilizar la espátula.

Despues de sembradas las placas se dejan abiertas una media hora para que se seque bien la superficie del agar.

Una infeccion por los jérmenes del aire no se hace por la presencia en el agar del violeta-cristal.

Las placas se colocan en seguida a 37° e invertidas.

DIFERENCIACION DE LAS COLONIAS

Despues de 16 a 24 horas a 37° se distinguen las colonias desarrolladas del modo siguiente:

a) *Bacillus coli*: Diámetro 2 a 6 milímetros, color rojo claro o vivo no transparentes i entre ellas algunas que se diferencian por la intensidad de la coloracion i su transparencia; otras son rojo claro poco turbias, algunas completamente opacas de color concho de vino i otras rodeadas de una aréola rojiza.

b) *Bacilo de Eberth*: Diámetro de 1 a 3 milímetros. Color azul con lijero jiro a violeta, estructura vitrea sin doble contorno, son parecidas a gotas de rocío. Rara vez su aspecto es mas opaco.

c) *Colonias que pertenecen al grupo del Bacillus subtilis*: Son iguales en tamaño i estructura al *bacillus coli*; algunas con doble contorno; otras son colonias azulejas vitreas i umbilicadas al centro.

EXPERIMENTOS

Núm. 1.—Se sembraron tres placas Drigalski con un cultivo puro de *bacillus coli*. Se colocaron a 37°. A las 18 horas existen colonias de 3 milímetros de diámetro mas o menos de color rojo muy intenso i algunas con una aréola rojiza.

Núm. 2.—Se sembraron tres placas Drigalski con un cultivo puro de *bacilo de Eberth*. Se dejaron a 37°. A las 18 horas existen colonias pequeñísimas, transparentes que se presentaban con el aspecto de gotas de rocío.

Núm. 3.—Se hizo una mezcla de una gota de cultivo de *bacillus coli* i de una gota de un cultivo de *bacilo de Eberth*. Se



sembraron 3 placas Drigalski. Se dejaron a 37°. Al examina las placas a las 18 horas existia un desarrollo inmenso de colonias rojizas que habian hecho jirar por completo la coloracion de las placas. No se percibian otras colonias.

Núm. 4.—Se hizo una mezcla de una gota de un cultivo de *bacillus coli* por 3 gotas de un cultivo de *bacilo de Eberth*. Se sembraron] 3 placas que se dejaron a 37°. Al examinarlas a las 18 horas existia un desarrollo de colonias tan numerosas de una especie como de la otra.

Núm. 5.—Se tomaren 5 litros de agua de la cañería i se sembraron una asa de un cultivo de bacilo de Eberth i una asa de un cultivo de *bacillus coli*.

De esta agua infectada tomamos una cantidad que colocamos en el tubo de la centrifugadora. Despues de centrifugarla se tomó el sedimento i se hicieron 3 placas Drigalski. Se dejaron a 37°. A las 18 horas existia desarrollo de colonias pequenísimas como gotas de rocío i colonias mas grandes de color rojo.

Se levantó una de las colonias pequenías i se sembró en caldo. Al caldo turbio se le agregaron 3 gotas de suero, A las pocas horas se hizo la aglutinacion bien manifiesta. Se sembraron despues los medios diferenciales. Se obtuvo resultado positivo en favor del tífus.

La diferencia esencial de este método con el de Chantemesse es que Drigalski no hace la pululacion de los jérmenes i en vez de emplear acido fénico en su jelosa usa el violeta-cristal.

#### MÉTODO DE VALLET, 1901

Este autor hace una concentracion de los microbios del modo siguiente: Obtiene un precipitado agregando por 20 cc<sup>3</sup> de agua, 4 gotas de una solucion saturada i esterilizada de hiposulfito de sodio i 4 gotas de una solucion saturada i esterilizada de nitrato de plomo. El precipitado arrastra los microbios.

Se centrifuga i se decanta. El depósito se redisuelve en hiposulfito de sodio.

El líquido así obtenido se reparte en cantidad de cuatro gotas o ménos, en tubos que contienen 10 cc<sup>3</sup> de jelatina de Elsner que se vacian en placas de Petri.

#### ESPERIMENTOS

Núm. 1.—Se tomaron 6 litros de agua i se infectaron con una asa de un cultivo de Eberth i una asa de un cultivo de coli. Se tomaron 20 cc<sup>3</sup> de este líquido, se le agregaron 4 gotas de solucion saturada i esterilizada de hiposulfito de sodio i 4 gotas de solucion saturada i esterilizada de nitrato de plomo. Se hizo la centrifugacion i decantacion; se redisolvió el sedimento con hiposulfito de sodio. De este líquido se hace la siembra en jelatina de Elsner segun el autor, pero no se hizo así; se sembraron placas de Drigalski i de Chantemesse. Se dejaron a 37°. A las 18 horas se examinaron las placas. En las Drigalski existia desarrollo numeroso de colonias rojizas que estaban en mayor abundancia que las que se presentaban como gotas de rocío. En las placas Chantemesse sucedia la inversa en el desarrollo de las colonias: mas numerosas eran las que tenian el aspecto de gotas de rocío.

Se tomó una de estas colonias pequenías i se sembró en caldo. A las 16 horas el caldo estaba turbio. Se le agregaron 3 gotas de suero. A las pocas horas apareció la aglutinacion. Se hizo siembra en los medios diferenciales. El resultado fué positivo para el bacilo de Eberth.





MÉTODO DE SCHÜDER

Modificación del método de Vallet

Para este procedimiento se necesita lo siguiente:

Solución de hiposulfito de sodio al 7,75 %.

Solución de nitrato de plomo al 10 %.

Solución de hiposulfito de sodio al 100 %.

Técnica del procedimiento:

1) Se colocan dos litros del agua sospechosa en uno o más cilindros graduados.

2) Para cada dos litros de agua se agregan 20 cc<sup>3</sup> de la solución de hiposulfito de sodio al 7,75 % i se ajita.

3) En seguida se agregan a los dos litros de agua 20 cc<sup>3</sup> de la solución de nitrato de plomo al 10 %.

4) Después de 20 a 24 horas de reposo, se decanta el líquido cuidadosamente. En caso de que el precipitado no esté bien reunido al sedimento, se vuelve a colocar en un cilindro pequeño i se deja reposar de nuevo.

5) Al sedimento se le agregan 14 cc<sup>3</sup> de la solución de hiposulfito de sodio al 100 % i se coloca en un tubo de ensaye en el cual luego se precipitan las materias insolubles.

6) Se siembra con una espátula una serie de placas i se ponen éstas en la estufa a 37°. Pasadas 20 horas se examinan estas placas i se identifican las especies desarrolladas.

La siembra se hace a la dosis de 0,2 cc<sup>3</sup> en placas de Petri pequeñas i de 0,5 cc<sup>3</sup> en placas grandes, de la solución clara, que contienen el medio de Drigalski i Conradi.

Este método se basa en la concurrencia de una precipitación química i de una precipitación mecánica. El nitrato de plomo que es una sal soluble se transforma en presencia del hiposulfito de sodio en hiposulfito de plomo insoluble.

El precipitado arrastra consigo los microbios del agua. Este precipitado de hiposulfito de plomo es soluble en un exceso de

hiposulfito de sodio, de modo que el sedimento que engloba a los microbios del agua que analizamos, puede disolverse en un exceso de dicho reactivo. Se obtiene de este modo por concentración del líquido analizado un enriquecimiento de jermenes.

En resumen, las modificaciones de Schüder al método de Vallet son: empleo de mayor cantidad de líquido (2 litros); no hacer centrifugar, sino sedimentar i decantar; usar menor cantidad de reactivo, porque debe evitarse el exceso de nitrato de plomo; el exceso de hiposulfito de sodio no perjudica al bacilo tífico; por último usar el medio de Drigalski i Conradi en vez de la jielatina de Elsner empleada por Vallet.

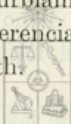
ESPERIMENTOS

Se tomaron 5 litros de agua i se infectaron con una asa de un cultivo de tifus i una asa de un cultivo de *bacillus coli*.

De este líquido infectado se tomaron dos litros que se colocaron en dos cilindros graduados en cantidad de un litro para cada uno. Se agregó a cada cilindro 10 cc<sup>3</sup> de la solución de hiposulfito de sodio al 7,75 %. Se ajitó. Se le agregaron 10 cc<sup>3</sup> de la solución de nitrato de plomo al 10 %. Se dejó la mezcla 22 horas. Se decantó el líquido con una pipeta. El sedimento se redisolvió con 7 cc<sup>3</sup> de la solución de hiposulfito de sodio al 100 %. Se colocó en un tubo de ensaye. De este líquido se tomaron 3 gotas i se hizo siembra en placas de Drigalski. Se dejaron las placas a 37°. A las 20 horas se encontraron en las placas: colonias pequeñas que se presentaban con el aspecto de gotas de rocío i colonias más grandes de 3 milímetros de diámetro más o menos; la coloración de ellas era de un rojo intenso. Se tomaron dos de las colonias pequeñas i se hizo siembra de ellas en caldo. A uno de los tubos así sembrados se le agregaron 3 gotas de suero. Se dejaron los tubos a 37°. A las



18 horas de estufa se encontró lo siguiente: En el tubo sembrado i que contenía además suero antitífico existía aglutinación típica. En el otro existía solo enturbiamiento. De este tubo se hizo siembra en los medios diferenciales i se obtuvo resultado positivo para el bacilo de Eberth.



IDENTIFICACION



Después de haber relatado los métodos antiguos i modernos sobre la investigación del bacilo de Eberth en el agua, nos queda por describir una parte bastante importante: la identificación.

Pasaremos en revista la serie de medios diferenciales que hemos usado al ejecutar nuestro trabajo.



CARACTERES DIFERENCIALES

*Bacillus coli*

*Bacilo de Eberth*

- |   |   |
|---|---|
| 1. Bastoncitos cilíndricos muy polimorfos.                                  | 1. Bastoncitos cilíndricos muy polimorfos.                  |
| 2. Seudo-esporas. Esporas desconocidas.                                     | 2. Seudo-esporas. Esporas desconocidas.                     |
| 3. Móvil. Pestañas menos numerosas, mas difíciles de colorear.              | 3. Mas móvil. Pestañas mas numerosas i fáciles de colorear. |
| 4. Se descolora por el Gram.  | 4. Se descolora por el Gram.                                |
| 5. Aerobio facultativo.   | 5. Aerobio facultativo.                                     |
| 6. Temperatura máxima para el cultivo, 46°.                                 | 6. Temperatura máxima para el cultivo, 45,5°.               |
| 7. Colonias sobre jela- tina opacas circulares o transparentes dentelladas. | 7. Colonias sobre jela- tina, transparentes, dentelladas.   |
| 8. No licua la jela- tina.  | 8. No licua la jela- tina.                                  |

*Bacillus coli*

*Bacilos de Eberth*

9. Colonias sobre papas, es- pesas amarillentas.

9. Colonias sobre papas, ca- si invisibles; tienen el aspecto de barniz.

10. En agar se desarrollan colonias de aspecto cremoso.

10. En agar se desarrollan colonias abundantes de aspec- to cremoso.

MÉTODOS DIFERENCIALES

*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth.*

En placas de jela- tina se pre- sentan las colonias con un tinte azulejo. A débil aumento tienen color amarilloso i son netamente granuladas.

En placas de jela- tina se pre- sentan las colonias circulares de tinte azulejo, nacaradas, transparentes. En poco tien- po las colonias se hacen si- nuosas; aparecen surcos i cres- tas que recorren la cononia de la periferia al centro; éste es mas denso que los bordes. Se las compara a montañas de hielo.



La serie de medios diferenciales está fundada en la propiedad que tiene el *Bacillus coli* de hacer fermentar las sustancias azucaradas. Estos medios son los siguientes:

- 1) SOLUCION DE CALDO CON 2% DE GLUCOSA

Esta se coloca en los tubos de Schmitz



*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth.*

Hace fermentar el líquido i por el desarrollo de gas hace bajar el nivel del líquido. Solo produce el enturbiamiento del líquido. No se desarrolla gas.



2) CALDO DE PERDRIX

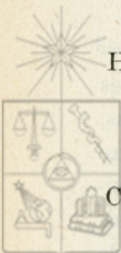


Este caldo contiene 2% de lactosa i un poco de carbonato de calcio.

*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth.*

Hace fermentar el líquido. Enturbia el caldo solamente.



3) AGAR-AGAR DE WÜRTZ

Contiene este agar 2% de lactosa i tintura de tornasol.

*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth.*

Hace jirar el color azul de tornasol, al rojo. Se desarrolla bien, pero se conserva inmutable el color azul de tornasol.

4) AGAR CON GLUCOSA (Germano i Mauren)

Es un agar que contiene 2% de glucosa.



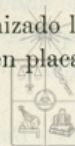
*Bacillus coli.* *Bacilo de Eberth.*

Por la fermentacion que produce, hace estallar el agar. No lo hace estallar.



5) AGAR DE CHANTEMESSE

Es un agar peptonizado lactosado, fenicado i tornasolado. Este agar se coloca en placas de Petri.



*Bacillus coli.*

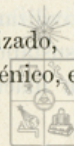
*Bacilo de Eberth.*

Las colonias de *bacillus coli* se presentan con un color rojo. Hace jirar el color azul del agar. Da colonias azulejas que se presentan con el aspecto de gotas de rocío. No hace jirar el color de la placa.



6) AGAR DE DRIGALSKI I CONRADI

Es un agar nutrosa, peptonizado, lactosado i tornasolado que contiene en vez de ácido fénico, el ácido de cristal.



*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth.*

Da colonias rojizas. Se presentan colonias como gotas de rocío.



7) LECHE



*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth.*

Produce la coagulacion de la leche. No la coagula.



8) REACCION DEL INDOL

Se necesita para esta reaccion: una solución de nitrito de potasio al 0,02 gramos por 100 i un poco de ácido sulfúrico puro. Se tienen dos cultivos: uno de *bacillus coli* i otro de bacilo de Eberth, los dos en caldo.





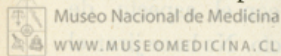
Se agrega a cada uno 1 cc<sup>3</sup> de la solución de nitrito de potasio. Se añaden algunas gotas de ácido sulfúrico puro. Cuando la reacción se presenta, toma el caldo un color rojo o bien rosado. Esta reacción es debida a que el ácido nitroso al combinarse con el indol da el color rojo.

*Bacillus coli.*

*Bacilo de Eberth*

Da reacción positiva.

Da reacción negativa.



9) SUERO ANTI-TÍFICO

Esta reacción es la más importante de todas, es verdaderamente específica. Reposa en la propiedad que tiene la sangre de los tifoideos de inmovilizar i de reunir en colecciones los bacilos de Eberth. Esta sustancia que se presenta en la sangre de los tíficos se muestra inactiva en presencia de otros bacterios.

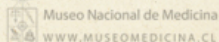
Para ejecutar esta reacción se necesita un suero obtenido de algunas gotas de sangre estraidas a un enfermo de fiebre tifoidea o se obtiene estrayendo la sangre de un animal de experimentación, al cual se le ha hecho una serie de inoculaciones con bacilo de Eberth.

Nosotros lo hemos obtenido inyectando a un cui 1 cc<sup>3</sup> de cultivo puro de tífus, cada 8 días. La inyección se ha hecho subcutánea. Después de 4 inyecciones se sangró el cui por la carótida. Se empleó para esto un pipeta especial. Se guardó el tubo con la sangre en un sitio fresco.

Una vez formado el coágulo i separado de éste el suero, se extrae este líquido con una pipeta i se procede a ejecutar la reacción. El suero se puede guardar en pipetas, cerrándolas a la lámpara.

Existen dos métodos principales para ejecutar la sero-reacción:

1) *Método estemporáneo.*



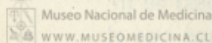
Consiste en lo siguiente: Se toma con una pipeta Pasteur una gota de suero i se mezcla con 10, 20, 30 o más gotas de un cultivo de bacilo de Eberth de 18 a 24 horas de tiempo.

Con esta mezcla se prepara una gota colgante. Si la reacción es positiva se verán los bacilos de Eberth agrupados en colecciones.

2) *Método de cultivo macroscópico.*

A un cultivo de Eberth se le agregan unas 2 o 3 gotas de suero anti-tífico. Al cabo de pocas horas se forman grumos que se depositan en el fondo del tubo. Este sedimento está compuesto de bacilos conglomerados.

Se puede ejecutar de otro modo este experimento. En un tubo pequeño se colocan 20 gotas de caldo estéril; se siembra con un cultivo de Eberth i se le agrega una gota de suero. A las pocas horas aparece la aglutinación.





### CONCLUSIONES



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

1) Los procedimientos modernos de investigación del bacilo del tífus en el agua, son mui superiores a los métodos antiguos, porque descansan sobre bases científicas mas sólidas i añaden a una ejecución fácil, mas exactitud i rapidez en la indagación.

2) El jelo-diagnóstico de las aguas que transmiten la fiebre tifoidea o sea el último procedimiento que se debe a Chantemesse, lo consideramos a nuestro juicio el mas recomendable. Es exacto, rápido i de técnica relativamente mucho mas fácil.

3) El método de Drigalski i Conradi es un procedimiento que no aventaja en nada al Chantemesse. Lo consideramos inferior. Emplea este autor para su método un agar que es de difícil preparación. La jela de Chantemesse es mucho mas fácil de preparar.

A esto debemos agregar que el agar-agar de Drigalski se infecta en pocos dias con mucédineas del aire, mientras que el de Chantemesse permanece estéril en el mismo período de tiempo i en las mismas condiciones.

4) El método de Cambier nos ha dado mui buenos resultados i lo consideramos mui recomendable en la práctica.

5) Los métodos de Vallet i el Vallet modificado por Schüder son bastante buenos. Sobre todo este último que es mui exacto i de fácil ejecución.



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



### BIBLIOGRAFIA (1)



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

*Zeitschrift für Hygiene.*—Tomo XXXIX, páj. 292 a 294.

*La Presse Médical.*—Procedimiento de Chantemesse, 1901, N.º 45, pájs. 261 a 263.

COURMONT.—*Collection Testut*, 1903, pájs. 410 a 412.

*La Presse Médical.*—1901, 29 de Junio, páj. 264.

L. MOURGUES.—1895, *Revista de Higiene*.

E. MACÉ.—*Traité de Bacteriologie*, 1901, páj. 719 a 728.

*La Presse Médical.*—1902, pájs. 675, N.º 57.

(1) La mayor parte de los datos contenidos en este trabajo han sido tomados de las esplicaciones verbales i de las lecciones del profesor de Bacteriología Dr. M.CÁDIZ.



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Museo Nacional de Medicina  
WWW.MUSEOMEDICINA.CL