

Breves consideraciones acerca de la Parasitoscopia del treponema de Schaudinn

Por el Dr. JESUS ARROYO.

DESDE que el día 3 de marzo de 1905 descubrió Schaudinn el microorganismo de la sífilis, numerosos investigadores se dedicaron, tanto a confirmar el descubrimiento mencionado, como a buscar métodos de coloración que permitieran identificarlo fácilmente y que hicieran accesible a todos los médicos su reconocimiento.

No había trascurrido un año y ya se conocían en el mundo científico muy variados métodos de coloración, aplicables todos al treponema pálido, y debidos cada uno de ellos al esfuerzo personal de autores diversos que se habían propuesto resolver el problema de su investigación microscópica, difícil desde sus principios, en virtud de la escasísima afinidad del germen por los reactivos colorantes.

Posteriormente ha venido aumentando el número de métodos de investigación empleados para su busca, y en la actualidad disponemos de los siguientes, clasificados así:

2 métodos de examen en fresco, el primero con la iluminación microscópica comunmente usada, que sirvió a Schaudinn para el hallazgo del germen a que vengo refiriéndome, y el segundo mediante el empleo del condensador de fondo oscuro.

1 de coloración vital.

54 métodos diversos de coloración para el examen de frotis.

4 para la investigación del treponema en la sangre, y

14 para demostrar su presencia en los órganos y tejidos.

Disponemos por lo tanto de 75 procederes distintos para el examen del treponema de Schaudinn, y tal abundancia de ellos nos hace ver la dificultad de ese examen y el loable deseo de los sabios de hacerlo accesible a los experimentadores menos versados en las técnicas del condensador de fondo oscuro.

Quiero referirme en este trabajo, sólo a un escaso número de ellos, los más comunmente usados entre nosotros, procurando valorizarlos debidamente para determinar qué confianza pueden merecernos en el diagnóstico del treponema, y especialmente en su diferenciación de gérmenes semejantes a él.

Los siguientes son los métodos que más comunmente se usan en la actualidad:

El examen en fresco por medio del ultramicroscopio.

El método de Hecht y Wilenko.

Las diversas variantes del método de Romanowsky (principalmente el Giemsa, y menos comunmente el Marino, Leishman, Wright, etc., etc.)

El de Fontana-Tribondeau, últimamente modificado por Hollande.

El de Levaditi y Manouélian para su investigación en tejidos y órganos.

El de Trossarello, empleado igualmente para demostrar la presencia del treponema en los tejidos y, últimamente, la aplicación del ultramicroscopio a este examen, practicada por primera vez en Filadelfia, por Shmockler y Rubenstone.

Me referiré especialmente a cada uno de ellos:

El empleo de la iluminación en fondo oscuro, usada por primera vez en 1838 por Reade, que en 1856 inspiró a Wenham la construcción del primer condensador parabólico de que se tiene noticia, que más tarde fué abandonada en virtud del descubrimiento de Abbé que dió origen al condensador que lleva su nombre, para reaparecer en 1905 con el aparato construído por Zeiss, según las instrucciones de Siedentopf, que ha sido preconizada en 1906 por Landsteiner y Mucha y ha inspirado la construcción de los diversos modelos de ultramicroscopios de que disponemos en la actualidad, fué aplicada, un año después del hallazgo del treponema, a la investigación de este germen, y muy pronto generalizada a todos los laboratorios e investigadores por la facilidad de observación del parásito, que contrastaba con la enorme dificultad que hasta entonces se había tenido para su busca e identificación.

En efecto, bien sabido es que la investigación del treponema pálido por medio del ultramicroscopio es sencilla, aun para las personas que no están acostumbradas a ella; el parásito resalta por su refringencia, su forma característica y los movimientos que ostenta.

Ninguno de estos atributos es exclusivamente suyo, pero sí permiten a un ojo ejercitado, distinguirlo de las espiroquetas con que pudiera confundirse. En efecto, su refringencia, no muy acentuada, es diversa de la notable que presenta la espiroqueta refringens con la cual se encuentra muy a menudo asociado en las lesiones genitales, difiere igualmente de la de otros organismos espirilares con quienes puede coexistir en la cavidad bucal, en lesiones de la mucosa, especialmente la espiroqueta *buccalis*, la *dentium*, etc.

En cuanto a su morfología es característica, principalmente por la regularidad de sus espiras que contrasta notablemente con la irregularidad de otros parásitos semejantes, cuyas espiras, muy variables en cuanto a su forma y diámetro, no tienen un aspecto idéntico en todos los momentos, sino cambian constantemente haciendo muy irregulares los contornos del microorganismo; su espesor es sensiblemente el mismo en toda la longitud del treponema, lo que no ocurre en otras espiroquetas que ostentan marcado ensanchamiento en su porción central, pudiendo confundirse solamente por este carácter con la espiroqueta *dentium*, aun cuando bien sabemos que esta última es más fina que un treponema, y no fácilmente confundible para un observador acostumbrado a esta clase de exámenes.

Por lo que se refiere a sus movimientos, no ignoramos que los

treponemas pueden moverse fácilmente tanto hacia delante como hacia atrás mediante la rotación de su cuerpo alrededor de un eje longitudinal, y que presentan además ostensibles movimientos de flexión sobre sí mismos, que se diferencian fácilmente de los movimientos oscilatorios que se observan en otros espirilos.

Por lo tanto, la fisonomía del treponema es tal, que cuando ya se tiene alguna práctica en su observación, se identifica fácilmente por medio del ultramicroscopio, diferenciándole de otros espirilos con los que puede coexistir.

Para Dourmashkin constituye la investigación del treponema por medio de la iluminación en campo obscuro, el método mejor y más sencillo para el diagnóstico de la sífilis, insiste en que debe recurrirse a él no sólo en toda úlcera sospechosa, sino cuando ésta ha curado, sometiendo al examen el producto de una punción ganglionar. Estima indispensables los tres requisitos siguientes para tener éxito rápido y feliz: luz artificial suficientemente intensa, bastante aceite de cedro (probablemente para evitar la menor burbuja de aire), y gran cantidad de exudado por examinar. Afirma que la diferenciación del treponema y la espiroqueta *refrigens* es comunmente fácil (no menciona otros parásitos con los cuales pudiera confundirse el de la sífilis), y termina asegurando que no son de recomendarse las preparaciones coloridas.

Posteriormente me referiré a estas últimas.

En cuanto al método de Hecht y Wilenko, que consiste como es bien sabido, en la aplicación al examen del treponema, de la tinta de china, empleada por Burri para estudiar otros organismos espirilares, da resultados satisfactorios, pues merced a su empleo, muy sencillo por cierto los parásitos destacan en claro sobre el fondo moreno de la preparación. No es este método en mi sentir, digno de toda confianza para el diagnóstico del treponema, porque sólo hace aparente su morfología, perdiéndose sus otros atributos característicos, y mostrándolo con la misma facilidad y caracteres semejantes a otras espiroquetas; en cambio, sí es utilísimo para la observación del germen sin fines diagnósticos, por la sencillez de la técnica y por la facilidad muy notable de dicha observación.

Las diversas variantes del método de Romanowsky han sido preconizadas por distintos autores para la coloración del parásito que estudiamos, y así vemos que sucesivamente se han empleado las soluciones de Giemsa, Marino, May Grunwald, Leishmann, etc., mediante modificaciones adecuadas en su empleo, para obtener los mejores resultados.

De estas diversas soluciones ha preponderado notablemente la de Giemsa, usada primero por Schaudinn y Hoffman, y muy pronto ensayada y aceptada por muchos autores. Su técnica es sencilla, y sólo requiere el empleo de substancias colorantes de la mejor calidad (de la casa Grüber) si se quieren obtener éxitos satisfactorios; para mayor seguridad se ha dividido el método en dos, el lento y el rápido, este último por medio del calor.

Con el líquido de Giemsa los treponemas adquieren un tinte rosa-violado o rosa-azulado extremadamente pálido, que contrasta notablemente con el color azul más o menos intenso que toman otras espiroquetas. Esta diferencia de coloración llamó la atención, desde el primer momento, de todos los investigadores, quienes vieron en ella un medio seguro de diferenciar el parásito de la sífilis de sus congéneres, pero poco a poco las comunicaciones de los sabios quitaron mucho valor a esta presunción, por más que no llegaron a invalidarla por completo.

En efecto, el tinte extremadamente pálido de los treponemas teñidos por el Giemsa, es característico, y permite diferenciarlos de gérmenes más o menos afines.

Es cosa bien sabida en los laboratorios que una de las observaciones más difíciles es la de los treponemas coloreados por este método; es necesario tener una larga práctica en bacterioscopía y parasitoscopia para encontrar los gérmenes en una preparación semejante; se requiere mucha paciencia y un examen muy detenido de todos los campos microscópicos, para no dejar pasar inadvertido algún treponema, y ¿cuántas veces ocurre que lo que no ha visto un observador es advertido por otro, a pesar de que el primero posea cualidades evidentes de investigador?

Esta dificultad de observación, no común en los exámenes de laboratorio, constituye todavía hasta la fecha uno de los caracteres más constantes del treponema de Schaudinn, que unido a su morfología bastante regular y al tinte especial del parásito, permiten reconocerlo en los preparados por el Giemsa y evitan su confusión con otras espiroquetas.

Entiéndase bien, no es uno solo de los caracteres antes mencionados el que nos da la clave de su identificación, cada uno de ellos, aisladamente considerado, puede coexistir en dos o más gérmenes semejantes, pero todos reunidos, sólo existen en los parásitos de la sífilis y permiten su reconocimiento.

No estoy, por lo mismo, de acuerdo con la afirmación ya mencionada de Dourmashkin, que dice no son recomendables las preparaciones coloreadas de treponemas. Sí que lo son por el método de Giemsa, pues cuando en algunas ocasiones nos quedase alguna duda acerca de la identidad de un treponema examinado al ultramicroscopio, la coloración de los frottis con el líquido citado y su examen subsecuente, nos resolverían el problema, ya que contaríamos en tal caso con las luces suministradas por dos métodos diversos, cada uno de ellos excelente, y susceptible por sí solo de dilucidar la cuestión en la gran mayoría de los casos.

De las otras variantes del método de Romanowsky no puede afirmarse lo mismo que de la ya estudiada, porque aun cuando permiten una coloración correcta del parásito, no nos dan grandes datos para su diagnóstico diferencial.

Otro tanto cabe afirmar de los métodos de impregnación argéntica, el de Fontana-Tribondeau, y la modificación de éste, pro-

puesta el año antepasado por Hollande. Ambos son excelentes cuando se desea tener una preparación fácilmente legible aun para ojos no ejercitados, ambos son de fácil ejecución y requieren un tiempo muy corto para ponerlos en práctica, merced a ellos pueden obtenerse preparaciones muy bellas y demostrativas, pero no poseen, a mi entender, cualidades que los hagan muy estimables para el diagnóstico diferencial de que vengo ocupándome.

Sí nos demuestran una cosa, acerca de la cual no había antes acuerdo absoluto, a saber, que muy fácilmente pierden los treponemas su forma regular, que se creía inalterable. pues no es raro verlos con espiras irregulares y aun convertidos en línea recta.

Cabe además afirmar de estos métodos, que sin proporcionarnos medios suficientes para el diagnóstico diferencial de los gérmenes de Schaudinn, sí nos permiten ventajosamente el examen de preparaciones que los contengan, y cuando se ha tenido larga práctica en su empleo, un ojo habituado puede reconocer entre espirilos diversos cuáles son treponemas, lo cual no sería posible sin este requisito.

Entre los diversos métodos que se han propuesto para el reconocimiento de la espiroqueta pálida en los órganos y tejidos, tres han preponderado sobre los demás, el de Levaditi y Manouélian, el que recientemente ha sido propuesto por Trossarello, de Turín, y la aplicación, más reciente aún a estos exámenes, del ultramicroscopio.

El primero, como es bien sabido, no es más que una modificación feliz del que Levaditi propuso primeramente, y la cual modificación ha consistido en el empleo de la piridina asociada al nitrato de plata para facilitar la penetración de éste en los tejidos, y lograr la impregnación del mayor número posible de treponemas.

En cuanto al segundo consiste fundamentalmente en obtener una papilla lo más fina posible, del tejido que se desea examinar, previamente fijado en formol al 10 %, extenderla en un porta-objetos dejándola secar al aire ambiente, e impregnarla después por el método de Fontana-Tribondeau. Con este proceder, que requiere para su ejecución a lo sumo una hora, resulta facilísima la investigación de que tratamos, y no tiene los inconvenientes del anterior, en que hay que esperar cuando menos tres días, antes de obtener preparaciones útiles para ser examinadas.

En cuanto a la aplicación del ultramicroscopio para esta investigación, se realiza sometiendo al examen la papilla obtenida raspando la superficie de sección de un órgano sospechoso de treponemosis (cerebro, meninges, protuberancia, etc.) previamente diluida en una gota de suero fisiológico esterilizado.

Es condición indispensable de éxito satisfactorio, que este examen se realice lo más pronto posible después de la extracción del órgano o tejido sospechoso (que puede ser producto de una biopsia o de una necropsia), pues se ha comprobado que cuando han transcurrido cuatro horas después de dicha extracción en vivo, o de la muerte, los resultados son infructuosos.

Quizá por esta última circunstancia no haya prosperado mu-

cho este procedimiento, que es racional, sencillo y de resultados satisfactorios en los casos en que está correctamente indicado.

Los tres métodos de investigación mencionados son dignos de toda confianza para el fin propuesto, porque no pueden confundirse los parásitos de la sífilis con ningún otro microorganismo semejante, ya que han pasado afortunadamente los tiempos en que esa confusión ocurría a menudo ya con fibras nerviosas o conjuntivas, bien con el contorno de los capilares, etc.

El único microorganismo con que tal confusión sería posible, es la espiroqueta *pertenuis* de Castellani o treponema *palidullum* de algunos autores, agente etiológico del pian, que en alguna ocasión ha sido identificado como treponema pálido por Schaudinn y Hoffmann. Pero afortunadamente el pian no existe entre nosotros, y no hay por lo mismo, hasta ahora, motivo para la confusión mencionada. Esto por supuesto, sin tener en cuenta la creencia sostenida por algunos autores, de que el pian no es otra cosa que la sífilis de los negros, creencia no compartida por todos los sabios, y refutada con acopio de razones por quienes no están de acuerdo con ella.

Podemos, por lo tanto, resumir las consideraciones anteriores en los párrafos siguientes.

I.—El ultramicroscopio nos permite una observación correcta y fácil del treponema de Schaudinn; para un ojo ejercitado puede ser suficiente para hacer el diagnóstico diferencial de este parásito.

II.—El método de Giemsa ofrece las mejores condiciones posibles para este diagnóstico diferencial, siempre que se base en los tres caracteres siguientes, asociados: tinte especial de los parásitos, morfología de ellos y extrema palidez de la coloración. Requiere, para emplearlo con fruto, mucha práctica en la observación microscópica y un examen bastante detenido de las preparaciones.

III.—El método de Hecht y Wilenko, y los de impregnación argéntica aplicados a los frotis realizan cumplidamente el desideratum largo tiempo perseguido, la observación fácil y correcta de los treponemas. Estimo que no son métodos apropiados para un diagnóstico diferencial.

IV.—Los métodos de investigación del treponema en los tejidos y órganos, satisfacen completamente el objeto para que fueron propuestos, no existiendo entre nosotros, hasta ahora, otro microorganismo semejante con el cual pudiera confundirse.

México, 26 de noviembre de 1919.

JESÚS ARROYO.

BIBLIOGRAFIA.

AGASSE-LAFONT.—*Les applications pratiques du Laboratoire a la Clinique.*—(Deuxieme edition.)—París, 1915.

BESSON.—*Technique microbiologique et serotherapie.*—(Cinquieme edition.)—París. 1911.

COMANDON.—*De l'usage en clinique de l'ultramicroscope en particulier pour la recherche et l'étude des Spirochetes.*—Paris, 1909.

HOLLANDE.—*Impregnation argentique, sans précipité, du Treponema pallidum dans les frotits.*—(Citado en el Boletín del Instituto Pasteur).—Paris, 30 de junio de 1917.

LEVADITI & ROCHE.—*La Syphilis.*—Paris, 1909.

LEVI-BING.—*Le microorganisme de la syphilis.*—Paris, 1917.

CAJAL-TELLO.—*Manual técnico de Anatomía Patológica.*—Madrid, 1918.

DOPTER Y SACQUEPEE.—*Manual de Bacteriología.*—Barcelona, 1916.

GUIART.—*Manual de Parasitología.*—Barcelona, 1917.

MULZER.—*Diagnóstico de la sífilis por el método biológico*—1910.—(Traducido del alemán por el doctor Eduardo García del Real)—Madrid.

PERRÍN.—*El treponema pálido.*—(Tesis de doctorado).—Madrid, 1908.

PERRÍN.—*¿Es conveniente el empleo del Ultramicroscopio para la investigación del treponema de Schaudinn?*—México, 1911.

TROSSARELLO.—*Sull'impregnazione rapida del treponema pallidum nei tessuti.*—(Citado en *Pattologica*, rivista quindicinale).—Génova, 15 de agosto de 1919.

DOURMASHKIN.—*The Dark field illumination method in early diagnosis of syphilis.*—(Citado en *The American journal of Syphilis*).—St. Louis, october 1919.

SHMOOKLER AND RUBENSTONE.—*Demonstration of Spirochete pallida in Nerve tissue by dark field illumination.*—(Citado en *The American journal of Syphilis*).—St. Louis, october 1919.

MALLORY AND WRIGHT.—*Pathological technique.*—Philadelphia and London, 1911.

La morfina en el parto

Por el Dr. F. BULMAN.

EL deseo de evadir la eterna sentencia: «de paries liberos in dolore»; ha llevado a los tocólogos a ensayar la serie de analgésicos y a realizar el inmortal suceso, a un tiempo ideal y real, del feliz alumbramiento, sin servidumbre de dolor, sin quejas estridentes, cuyo desenlace no cueste ni sufrimiento a la madre ni lágrimas a los espectadores; mas para lograrlo se han fijado en la morfina, materia fundamental en la manufactura de variados analgésicos,