

Consideraciones sobre el estudio micro-biológico del Rino-escleroma en El Salvador

Por el Dr. Alfredo REINA GUERRA. Remitido por su

autor, especialmente para Revista Médica Hondureña».

La enfermedad del rino-escleroma fue conocida desde un principio, hace muchos años, en las márgenes del Danubio (Europa) y enseguida en Centro América, especialmente en El Salvador, en donde actualmente se observan numerosos casos en distintas regiones del país.

Fuera de algunos trabajos de tesis de doctorado, sobre ensayos de tratamientos del rino-escleroma, muy poco se ha publicado entre nosotras en cuanto a estudios de investigación micro-biológica de la enfermedad.

La etiología del rino-escleroma es muy oscura. Se hubo creído antiguamente (Alvarez) en una contaminación accidental en los obrajes de la elaboración del añil, pero aún no ha sido comprobado. Actualmente en El Salvador casi ha desaparecido la industria del añil y sin embargo tenemos quizá, mayor número de casos que entonces. Ataca solamente al adulto, a ambos sexos y por lo general a individuos de poca higiene personal.

La enfermedad del rino-escleroma está caracterizada por tumoraciones de aspecto condroide que toman origen en la mucosa nasal e invaden progresivamente la boca y la laringe. Las tumoraciones se extienden enseguida a la piel del labio superior (exclusivamente) y contornos de las conchas de la nariz, con prominencias deformantes de la cara. Los tumores jóvenes son de consistencia dura, dolorosos a la presión, de superficies lisas y brillantes. Los contornos son blanquecinos y la porción central de un color rojizo-sangre. Las ulceraciones permanentes se observan únicamente en casos muy avanzados, o transitorias a consecuencia de tratamientos quirúrgicos. Los en-

Al informar de todo lo anterior nos sentimos orgullosos de pertenecer a una Asociación que tan valientemente está llevando a la práctica, algo cuya falta en nuestro medio se hacía sentir, pues ya es hora que nos preocupemos como se debe por la infancia desvalida, por esa infancia, médula futura de nuestro pueblo tan tristemente abandonada por todos aquellos que debían haberse preocupado por el porvenir de la Patria. Ojalá que los miembros de la Asociación radicados en otras ciudades del país o del exterior, puedan interesarse en esta obra de vereadero patriotismo, ya sea moral o económicamente, pues con esto demostrarán si poseen espíritu amplio y generoso y si realmente están interesados en hacer patria verdadera.



Grupo de casos de Rino-escleroma sobre los cuales se llevaron a cabo la experiencias relatadas en este trabajo

ferinos exhalan un olor desagradable que recuerda al de la ozena, probablemente debido a infecciones secundarias piógenas.

La evolución del rino-escleroma es muy lenta, y no compromete aparentemente en manera directa la salud de los enfermos. Con frecuencia suceden complicaciones de tuberculosis pulmonar, lupus y muerte por asfixia a consecuencia de obstrucción completa en la laringe. Parece no ser ni contagioso ni hereditario: excepcionalmente se ha observado dos casos en una misma familia. Ciertos enfermos que se hospitalizan con periodicidad para someterse a tratamientos, soportan perfectamente el rino-escleroma durante su vida, sin obstáculo alguno para PUS actividades de subsistencia. La enfermedad no ocasiona trastornos funcionales en general, ni fiebre.

Los exámenes radiológicos de la cara revelan únicamente un ligero ataque óseo superficial interno de los senos (maxilar, etmoidal) en casos de fuerte invasión tumoral generalizada en tales sitios.

El rino-escleroma no tiene ninguna relación causal con la sífilis ni con la tuberculosis, así tampoco carácter neo-plásico. El cuadro clínico-sintomático más bien aparenta una infección crónica microbiana a gérmenes avirulentos y atóxicos.

V. Frisch, en 1882, describe en el rino-escleroma, un bacilo inmóvil, encapsulado, que considera como causante de la enfermedad. Este bacilo hasta la vez es aceptado por la mayor parte de los bacteriólogos como específico del rino-escleroma, pero aún no ha sido posible reproducir el rino-escleroma en los animales de experiencia inyectándolos con cultivos puros de los bacilos de Frisch. Los cortes anatomo-patológicos de los tumores del rino-escleroma, de reciente

formación, muestran al microscopio una predominancia de tejido embrionario, formado por pequeñas células granulosas e incrustado por haces conjuntivos hiperplasiados. Al comienzo del tejido embrionario y bajo la mucosa, aparecen al estado puro, gran número de bacilos de Frisch aislados, encapsulados y englobados-en grandes células (células de Mickuliz). No se observan bacilos aislados ni intracelulares más allá de 1 a 2 milímetros de profundidad de la superficie de los tumores.

El bacilo de Frisch es fácilmente cultivable en todos los medios usuales de laboratorio. Se logra aislarlo en condiciones de pureza, practicando siembras en gelosa-caldo, de la secreción sanguinolenta que se obtiene al pinchar con una pipeta Pasteur afilada y estéril, la superficie de los tumores jóvenes, previamente desinfectada. A las 24 horas de estufa a 37 g. c. aparecen sobre el medio gelosado, gruesas colonias de aspecto espermático, brillantes y por lo general confluentes. Las preparaciones al microscopio revelan bacilos cortos, inmóviles, encapsulados y Gram negativo.

La frecuencia y pureza del bacilo de Frisch en la intimidad de los tejidos patológicos del rino-escleroma, hace pensar en una especificidad condicional de dicho bacilo. Las localizaciones tumorales del rino-escleroma, exclusivas en las mucosas y piel de las vías respiratorias externas, podrían considerarse como consecuencia de una infección a gérmenes por excelencia aerobios, tal como el bacilo de Frisch

La vida intracelular del bacilo de Frisch en el tejido tumoral del rino-escleroma, constituyendo una adaptabilidad progresiva del bacilo, volverá crónica la afección y rebelde a todo tratamiento? El organismo, protegiéndose de la infección, pondrá barreras con la formación de prominencias tumorales, permitiendo únicamente la pululación del bacilo de Frisch en el tejido mucodérmico? Porqué esa tolerancia tumoral del organismo frente a un frágil bacilo y su localización exclusiva en las vías respiratorias externas? No podría considerarse el caso como una SIMBIOSIS de compensación por defectos de ciertos metabolismos respiratorios? A ese respecto me recuerda el proceso simbiótico utilitario de las necesidades de la leguminosas (bacilos radicales). O bien, podría compararse biológicamente el rino-escleroma como la lepra y tratarse entonces de una afección leproidea, por así decir específica, de las mucosas y piel buconasales a bacilos de Frisch? Casos de Leishmaniosis?

LOS fracasos en lograr la reproducción del riño escleroma en los animales de experiencias, inoculándoles bacilos puros de Frisch, se deberá a las condiciones exigentes del bacilo a una vida intracelular parasitaria, que habrá de verificarse muy lentamente y en organismos dotados de una receptividad especial simbitica?

Más de un observador ha tratado de considerar el rino-escleroma como una enfermedad micósica, pero en los cortes histológicos de los tumores y en cultivos, no se ha puesto en evidencia ningún hongo patógeno que pueda incriminarse como específico.

Distintos tratamientos se han ensayado entre nosotros en la cura del rino-escleroma y muy escasos éxitos se han obtenido. El **trata**

miento quirúrgico se emplea solamente como mecánico, para desobstruir los conductos nasales y procurarle libre respiración al enfermo; los tumores vuelven de nuevo a proliferar después de algún tiempo. Los tratamientos quimio-terápicos y serológicos, así como los vacunoterápicos han sido infructuosos. Únicamente al comienzo de la enfermedad ha dado excelentes resultados la radium-terapia local. Actualmente se han tratado por el radium varios casos de rinoscleroma, un tanto avanzados, con alagadores resultados (Dr. M. Fagoaga). Constituirá una curación radical?

De acuerdo con algunos autores, he encontrado positiva la reacción de fijación de complemento en todos los enfermos rino-esclerosos, utilizando como antígeno una emulsión de bacilos puros de Frisch. He comprobado además, que la reacción de fijación de complemento es negativa en los mismos enfermos, empleando, antígenos con otras fuentes de bacilos vecinos al Frisch, tales como los de Ozena, mucosus encapsulatus banales de la saliva y neumo-bacilos de Friedlander. La auto-sero-aglutinación es constante negativa.

Como estudio biológico diferencial del bacilo de Frisch, anoto a continuación un resumen de mis observaciones, en que trato de caracterizarlo de los demás bacilos de su grupo.

IDENTIFICACIÓN DEL BACILO DE FRISCH

ASPECTO MICROSCÓPICO

El bacilo de Frisch se comporta microscópicamente como perteneciente al grupo de bacilos mucosus-encapsulatus. Mide de 1 a 3 micras de largo, por 0.5 de espesor. Se le encuentra en elementos aislados o reunidos en diplo-bacilos. Sus extremidades son arredondadas, es inmóvil y posee una cápsula muy visible en los productos patológicos y en los diferentes medios de cultivo. Toma todos los colorantes de anilina y se decolora por el método de Gram.

CARACTERES EN LOS MEDIOS DE CULTIVO

CALDO NUTRITIVO

131 cultivo del bacilo de Frisch en el caldo nutritivo corriente, preséntalos caracteres importantes siguientes: en primer término durante las primeras seis horas a la estufa a 37° C, se observa un ligero enturbamiento en la mitad superior del tubo (caracteres de marcada aerobiosis). Al cabo de 24 horas el enturbamiento es general en toda la altura del caldo, y su consistencia, antes fluida, se vuelve un poco densa. A las 48 horas se acentúa más el aspecto jaraboso del caldo formándose en la superficie una capa blanquecina viscosa, la cual al agitar el tubo, cae perezosamente al fondo, para luego disolverse uniformemente. Aún después de varios días de estufa no se aprecia depósito alguno en el fondo del tubo.

* NQTA—Nuestro consocio Dr. Juan A Mejía ha presentado a la Asociación Médica Hondureña, y publicado en números anteriores de esta Revista, casos de enfermedad halagadoramente tratados con **Fuadina**.—La Dirección.

Las preparaciones microscópicas de la película viscosa sobrenadante, revelan bacilos rodeados de cápsulas netamente diferenciadas por la coloración Gram.

Los cultivos no desprenden ni gas ni olor característico alguno. La vitalidad del bacilo de Frisch en el caldo nutritivo se conserve durante un mes a la temperatura ambiente.

Los filtrados del caldo en diferentes épocas del cultivo, están desposeídos de toda acción tóxica para los animales de experiencias: rata, cobayo y conejo.

Gelosa.-Caldo inclinado. —Las colonias del bacilo de Frisch en gelosa-caldo inclinado son de aspecto graso, en forma de cúpula lisa, brillantes de amplios diámetros, poco traslucidas y de bordes regulares. La consistencia es blanda e hilante al tocarlas con la hoz de platino. A consecuencia de la proliferación exuberante de las colonias, éstas deslizan a las 48 horas por la superficie del medio de cultivo, a manera de gruesas gotas de esperma, reuniéndose en el fondo del tubo y formando un abundante depósito viscoso. Este depósito llega a veces, en tres días, a ocupar en mitad la altura del medio de cultivo.

Los caracteres son idénticos en medios ácidos o alcalinos y persisten aún después de seis meses de resiembras consecutivas. No desprenden gas ni olor desagradable.

Al microscopio los bacilos coloreados al Gram se presentan aislados, cortos, bipolares y rodeados de una hermosa cápsula.

El bacilo de Frisch es muy frágil en los medios gelosados. Las resiembras se vuelven imposibles al término de ocho a quince días a la temperatura ambiente. El aspecto microscópico de los bacilos se modifica después de los quince días del cultivo. Los bacilos aparecen degenerados, de contornos difícil de precisar y toman mal los colorantes.

En general, los caracteres macro-microscópicos de los cultivos del bacilo de Frisch, tanto en el caldo nutritivo líquido como en el gelosado, son muy similares a los del bacilo de la Ozena y demás de su grupo. Únicamente he de anotar, que el bacilo de Frisch es mucho más proliferante que el bacilo de la Ozena en el caldo nutritivo.

Gelosa lactosa tornasolada. —En este medio de cultivo, el bacilo de Frisch no ataca la lactosa. El tinte azul característico del medio permanece inalterado después de muchos días a la estufa. Ninguna fermentación gaseosa.

Gelosa Veillon. —El medio de cultivo de Veillon lo constituye un caldo nutritivo glosado, adicionado de glucosa y nitrato de potasio. Se solidifica verticalmente a una altura de dos tercios del tubo. Es un medio de cultivo especial para el aislamiento de los gérmenes anaerobios, permitiendo a la vez dar un indicio de la aerobiosis o no de las bacterias.

El bacilo de Frisch emulsionado uniformemente en la gelosa Veillon, cultiva en finas colonias lenticulares en toda la altura del medio. Se observa, sin embargo, que a dos centímetros de la superficie las colonias son mas numerosas que en el resto del tubo; lo cual demuestra que el bacilo de Frisch posee una notable predilección por el oxígeno del aire. No desprende gas ni olor particular.

Gelosa al rojo neutro.—Practicando siembras de bacilos de Frisch por picadura central en el medio de cultivo al rojo neutro, sufre al tercer día un ligero ataque al amarillo naranja, sin desprendimiento de gas. Los bacilos de Ozena y demás de su grupo, atacan igualmente el rojo neutro, pero con formación de burbujas de gas.

Agua peptonada simple.—El aspecto del cultivo del bacilo de Frisch en agua peptonada simple es similar al del caldo nutritivo, antes descrito.

Enturbamiento uniforme, velo denso en la superficie y bacilos encapsulados al microscopio. Ausencia de Indol y de Escatol.

Leche tornasolada.—El bacilo de Frisch no coagula la leche. Vira el color azulado al tono lila en 24 horas. El bacilo de la Ozena y otros de su grupo, coagulan la leche en término medio de 3 a 4 días. Al microscopio, bacilos encapsulados.

Medio de cultivo de Besson (Tubo «B»), Este medio de cultivo ha sido preparado con la fórmula clásica siguiente:

Maseración de carne 1 litro
Glucosa 4 Grs.
Sol. rojo neutro al 1,100 ___ 3 c. c.

La solución es distribuida en tubos grandes de ensayo contenidos en el fondo un pequeño tubito a manera de campana, como índice de fermentación.

El bacilo de Frisch cultiva en este medio (tubo «B») con los caracteres siguientes: a la estufa a 37 c. se aprecia a las 24 horas un tinte rojo maravilla fluorescente, comparado con el color normal del medio, casi no es modificado. El tubito-campana toma un color ligero amarillo-naranja. No hay en absoluto desprendimiento de gas. Igual aspecto después de tres días a la estufa.

Al comparar estos caracteres del bacilo de Frisch en el tubo "B" con los del bacilo de la Ozena y otros bacilos Mucosus Encapsulatus, se nota una importante diferencia que podría utilizarse en la identificación del bacilo de Frisch. A continuación expongo un cuadro comparativo entre ambos bacilos.

	COLOR DEL MEDIO	TUBITO CAMPANA
Bacilo de Frisch..	Casi no modifica el color.	Tinte ligeramente naranja. Ausencia de gas.
Bacilo de la Ozena y otros encapsulados.....	Cambio notable al fuerte tinte amarillo-naranja o al amarillo-cetrino.	Tinte amarillo-cetrino. Constante presencia de Ras.

Hidratos de carbono.—El bacilo de Frisch fermenta algunos Hidratos de Carbono, pero sin desprendimiento de gas. La fermentación gaseosa es constante en casi todos los azúcares con los otros bacilos del Grupo Mucosus encapsulatus y de Freidalander. El bacilo de Frisch ataca francamente a las veinte y cuatro horas la Glucosa, la Maltosa, la Levulosa y la Mannita. El ataque de la Sacarosa es

muy ligero y tardío (a los 5 días). Ninguna fermentación sobre la Lactosa, Glicerina y Pulcita. Un camaleonage inconstante se observa solamente en la Manita.

Esta experiencia en los Hidratos de Carbono la ha practicado con ocho fuentes distintas de bacilos de Frisch, obteniendo uniformidad de caracteres entre sí. Queda por consiguiente, caracterizado el bacilo de Frisch. como no gasógeno y desprovisto de acción fermentativa de la Lactosa, Glicerina, y Dulcita.

Cuadro diferencial en los azúcares:

HIDRATOS DE CARBONO	B. DE FRISCH	MUCOSUS	B. FRIEDLANDER
Glucosa	0	0	0
Maltosa	0	0	0
Levulosa	0	0	0
Mannita	0	0	0
Sacarosa	(0 -)	0	0
Lactosa	-	0	0
Glicerina	-	0	0
Dulcita	-	0	0
Gas	-	0	0
Camaleonage	-	0	0

Patata simple. —Cultivo abundante, muy notable a las 24 horas. Colonias viscosas. La patata toma un tinte moreno a las 48 horas a 37°C.

Gelatina. —El bacilo de Frisch no ataca la gelatina. Cultiva en pequeñas colonias lenticulares en toda la altura de la picadura, con desarrollo abundante en la superficie (Aerobiosis). Ningún desprendimiento de gas.

Suero de leche tornasolado. —Virage al rosa ligero. No coaula.

Suero sanguíneo coagulado. —Cultivos similares a los practicados sobre gelosa inclinada y sin acción proteica.

Gelosa sub-acetato de plomo. —El bacilo de Frisch ataca el sub-acetato de plomo. La estrilla profunda lateral vira al negro en su mitad superior. Estos caracteres son idénticos para los bacilos Mucosus Encapsulatus y Neumo-bacilos Friedlander. No produce gas.

Caldo-sangre de conejo. —El bacilo de Frisch, como los demás bacilos de su Grupo, no posee propiedades hemolíticas. Los caracteres macro-microscópico se comportan como los en caldo corriente.

Virulencia. —Experiencias en los animales de laboratorio. —El bacilo de Frisch puede considerarse en términos generales como casi desposeído de acción patógena característica para los diferentes animales de laboratorio. Únicamente puede lograrse la muerte al cobayo en 24-48 horas inoculándole intraperitoneal 1 c. c. de cultivo en Acaldo nutritivo de 24 horas. El cobayo muere por septicemia simple, encontrándose el bacilo generalizado en todo el organismo. Lis características de patogenidad del bacilo de Frisch coinciden estrechamente con los que describen los autores respecto al neumo bacilo de Friedlander. Nunca se ha obtenido, como ya lo he dicho en mis pá-

rrafos anteriores, la reproducción de la enfermedad del rino-escleroma en los animales de laboratorio, inoculándoles bacilos puros de Friesch. Con el objeto de lograr la experiencia en condiciones más apropiadas, hebe inyectado cultivos puros de bacilos Frisch hajo la mucosa nasal de conejos y carneros. Los resultados fueron siempre negativos, aún después de seis meses de observados los animales. Con la transplatación en las fosas nasales de tumores de rino-escleroma a conejos y carneros, tampoco he logrado éxito alguno.

CARACTERES DE AUTOPSIA DE COBAYO MUERTO A LAS 24 HORAS POR INYECCIÓN INTRA-PERITONAL DE 1 C. C. DE CULTIVO PURO DE BACILOS DE FRISCH EN CALDO NUTRITIVO CORRIENTE.

Cavidad abdominal.—Al nivel de la picadura, ligero hematoma en las capas profundas de la piel, líquido peritoneal no hemorrágico, de consistencia jarabosa, hilante y muy escasa reacción leucocitaria. Fuerte congestión de las cápsulas suprarrenales. Hígado, bazo y riñones moderadamente congestionados. Estómago, epiplón e intestinos, normales. Cavidad torácica. Corazón normal. Pulmones fuertemente congestionados. Algunas veces se encuentran derrames pleurales. Examen microscópico. Presencia abundante de bacilos de Frisch al estado puro en el líquido peritoneal, en los frotis de todos los órganos y en la sangre del corazón. Los bacilos aparecen al microscopio: cortos, inmóviles. Gram negativos, y netamente encapsulados. Los cortes anatómo-patológicos de los órganos no revelan bacilos endo-celulares.

Los cobayos no mueren con una dosis intraperitoneal inferior a 1 c. c. de cultivos de bacilos de Frisch en caldo nutritivo. La inoculación intramuscular es inofensiva, aún a fuertes dosis de 10 a 20 c. c. de cultivos líquidos.

REACCIÓN DE FIJACIÓN DE COMPLEMENTO

He utilizado para esta experiencia, suero sanguíneo de los enfermos atacados de rino-escleroma, obtenido por punción venenosa; como antígeno, una emulsión en suero fisiológico de cultivos puros de bacilos de Frisch sobre gelosa inclinada; como grupo hemolítico, glóbulos sensibilizados de carnero; alexina, -suero sanguíneo de cobayo. He empleado la técnica de Calmette y Massol, la cual permite una dosificación de intensidad de reacción por unidades de alexina fijadas. Para la preparación del antígeno, hebe cultivado el bacilo de Frisch en un tubo de gelosa inclinada durante 24 horas. Emulsionado enseguida el cultivo en total con 10 c. c. de suero fisiológico al 8 por mil y rediluido posteriormente conforme a la dosis máxima anti-complementaria, por lo general al 10 o al 5%

La alexina ha sido diluida de tal manera que 0.1 de c. c. encierra la dosis mínima activa para la hemólisis de 1 c. c. de emulsión de glóbulos sensibilizados de carnero al 5%. Unidad el c. c.

CUADRO FINAL DE LA EXPERIENCIA				
ANTÍGENO	SUERO INACTIVADO DEL ENFERMO.	ALEXINA	SUERO FIS.	GLÓBULOS ROJOS CARNERO.
0.2	0.2	0.1	1.5	1.
0.2	0.2	0.2	1.4	1.
0.2	0.2	0.3	1.3	1.
0.2	0.2	0.4	1.2	1.
0.2	0.2	0.5	1.1	1.
	0.2	0.1	1.7	Una h. a 1.
	0.2	0.2	1.6	la estufa 1.
	0.2	0.3	1.5	a 37 grad. 1.
0.2		0.1	1.7	C. 1.
0.2		0.6		1.
0.2		0.3	1.5	1.

En distintos casos de rino-escleroma he comprobado en todos ellos una sero-reacción de fijación de complemento positiva con bacilo de Frisch. El 50% de sueros sanguíneos de rino-esclerosos fijan hasta 20 unidades de Alexina. Esta experiencia la he repetido en los mismos diez enfermos empleando como antígeno bacilos diversos de la Ozena, Mucosos encapsulados banales de la boca, neumo-bacilos de Friedlander, con resultados totalmente negativos.

San Salvador.

República de El Salvador, C. A.