

REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Volumen XIX

Bogotá, agosto de 1950

Número 2

Director, Profesor,
ALFREDO LUQUE B., Decano de la Facultad.
Jefe de Redacción, doctor Rafael Carrizosa Argáez

Comité de Redacción:

Prof. Alfonso Esguerra Gómez. Prof. Manuel José Luque. Prof Agr.
Gustavo Guerrero I.

Administrador, José R. Durán Porto

Dirección: Calle 10 N° 13-99 — Bogotá — Apartado Nacional N° 400

Talleres Editoriales de la Universidad Nacional

CONTENIDO:

	<i>Pág.</i>
I ANTAGONISMO DEL COLIBACILO Y EL BACILO DE KOCH EN PRESENCIA DEL ACIDO SULFOSALICILICO, por Leonor Martínez Cáceres y Gonzalo Montes Duque	49
II VALOR TERAPEUTICO DE LAS INCLUSIONES DE PLACENTA, EN EL TRATAMIENTO DE ALGUNAS AFECCIONES OCULARES, por el doctor Carlos G. Archila M.	85

Suplicamos a los profesores y médicos que actualmente estén recibiendo la Revista de la Facultad Nacional de Medicina y que hayan cambiado de domicilio, remitirnos a vuelta de correo el siguiente cupón.

Revista de la Facultad de Medicina
Apartado 400 — Bogotá, Colombia, S. A.

Estando interesado en continuar recibiendo la REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, sabría agradecerle a ustedes seguir remitiéndola a la siguiente dirección:

Dr.

Dirección

Ciudad Dpto.

REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Volumen XIX

Bogotá, agosto de 1950

Número 2

Director, Profesor,

ALFREDO LUQUE B. Decano de la Facultad.

Jefe de Redacción, Doctor Rafael Carrizosa Argáez.

Comité de Redacción:

Prof. Alfonso Esguerra Gómez. Prof. Manuel José Luque. Prof Agr.
Gustavo Guerrero I.

Administrador, José R. Durán Porto

Dirección: Calle 10 N° 13-99 — Bogotá — Apartado Nacional N° 400

Talleres Editoriales de la Universidad Nacional.

Antagonismo del Colibacilo y el Bacilo de Koch en Presencia de Acido Sulfosalicílico.

Por Leonor Martínez Cáceres y Gonzalo Montes Duque

Este trabajo fué realizado en el Laboratorio de Investigaciones Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional.

Desde 1947, varios investigadores suizos señalaron las propiedades antagonicas, in vitro, de ciertas cepas de bacilo coli contra el bacilo tuberculoso de los tipos: Humano, Bovino, Gallináceo y Piscinario.

Posteriormente Hesse y Jahnke (1) comunicaron sus experiencias clinicas de tratamiento de enfermos tuberculosos con suspensiones de bacilo coli y señalaron resultados muy alentadores en cuanto a signos radiológicos, cuadro hemático, sedimentación, baciloscopia, aumento de peso y curva térmica.

Con el objeto de comprobar el antagonismo que pudiera existir entre las cepas de bacilo Coli y bacilo Tuberculoso en nuestro medio

y además con el ánimo de hallar una cepa Coli activa, que sirviera para experiencias clínicas posteriores, se llevó a cabo una serie de experiencias *in vitro*, cuyos resultados son el objeto de esta publicación.

Simultáneamente se investigó la influencia del ácido sulfosalicílico sobre el desarrollo de los bacilos en cuestión.

CEPAS EMPLEADAS

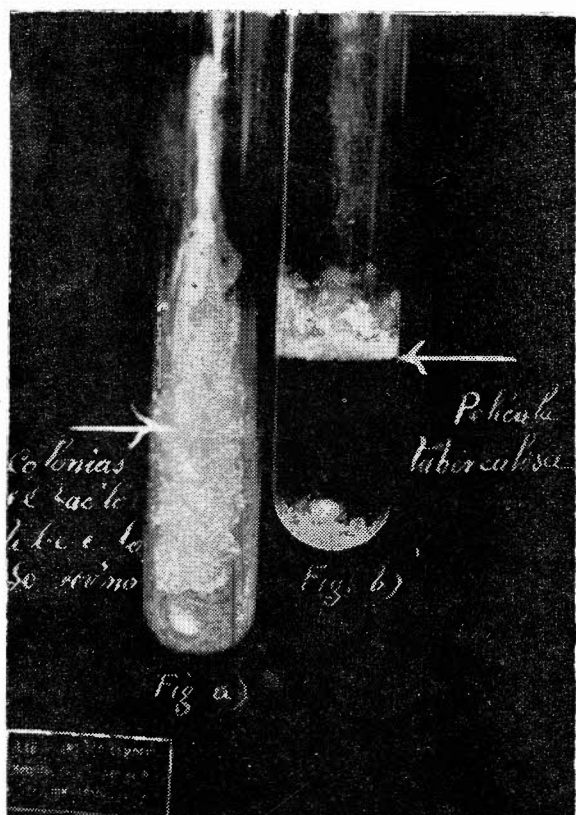
Las cepas de Bacilo de Koch fueron suministradas gentilmente por el doctor César Gómez V. del Instituto Nacional de Higiene Samper Martínez y corresponden a:

Bacilo Tuberculoso Humano (H37).

Bacilo Tuberculoso Bovino (HB) phi Bovine, cultivo IAR mayo 20 de 1947 from National Institute of Health of Washington.

Bacilo Tuberculoso Humano virulento (HV) 199 cultivo IBO Dic. 24 de 1947 from National Institute of Health of Washington.

En la fotografía siguiente puede apreciarse repiques de estas cepas, efectuados sobre los medios Lowenstein y Sauton.



Fotografía N° 1.

- a) Cepa tuberculosa HB (Medio Lowenstein).
- b) Cepa tuberculosa H57 (Medio Sauton).

CEPAS DE BACILOS COLI

CEPA A.

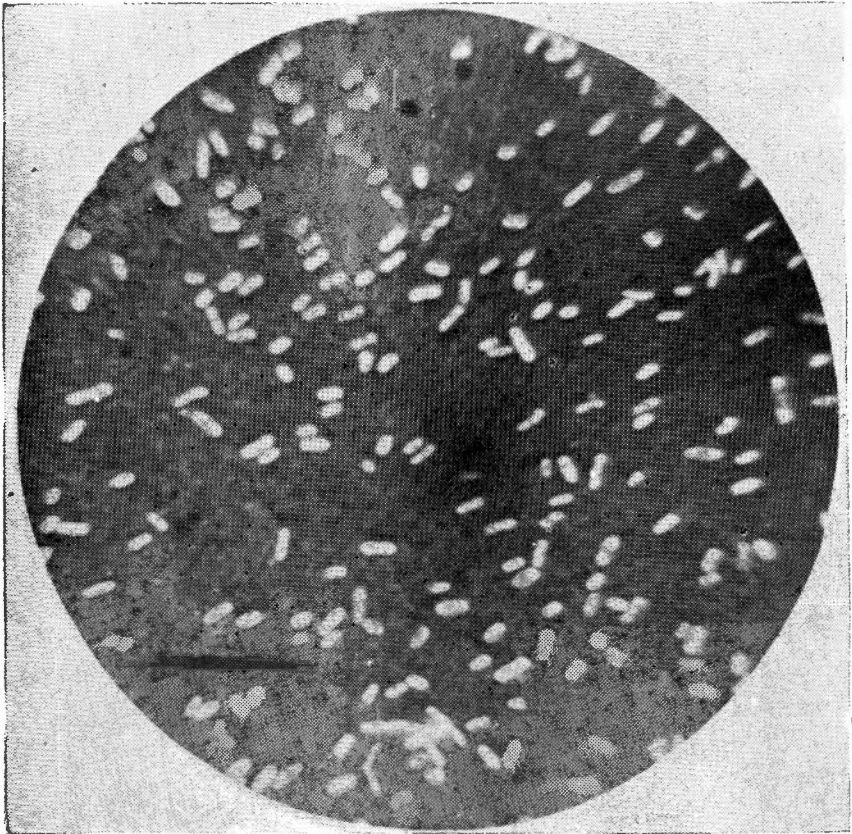
(Muestra tomada de las aguas del Río San Cristóbal. Octubre 30 de 1949).

Aspecto Macroscópico.

Sobre medio Agar Eosina Azul de Metileno, se obtuvieron colonias típicas de *Escherichia Coli*: planas, brillo metálico uniforme, ligera depresión central en algunas, poca tendencia a unirse, parte central oscura (0.5 m.m. aproximadamente).

Al examen en fresco se apreció movilidad positiva. —Es Gram-negativa.

Los tamaños de esta cepa, determinados sobre la adjunta fotografía, varían entre 7.5 y 3.5 micras, sobre 201 bacterias. —Tamaño promedio: 2.08 ± 0.12 micras.



Fotografía N° 2.

CEPA B.

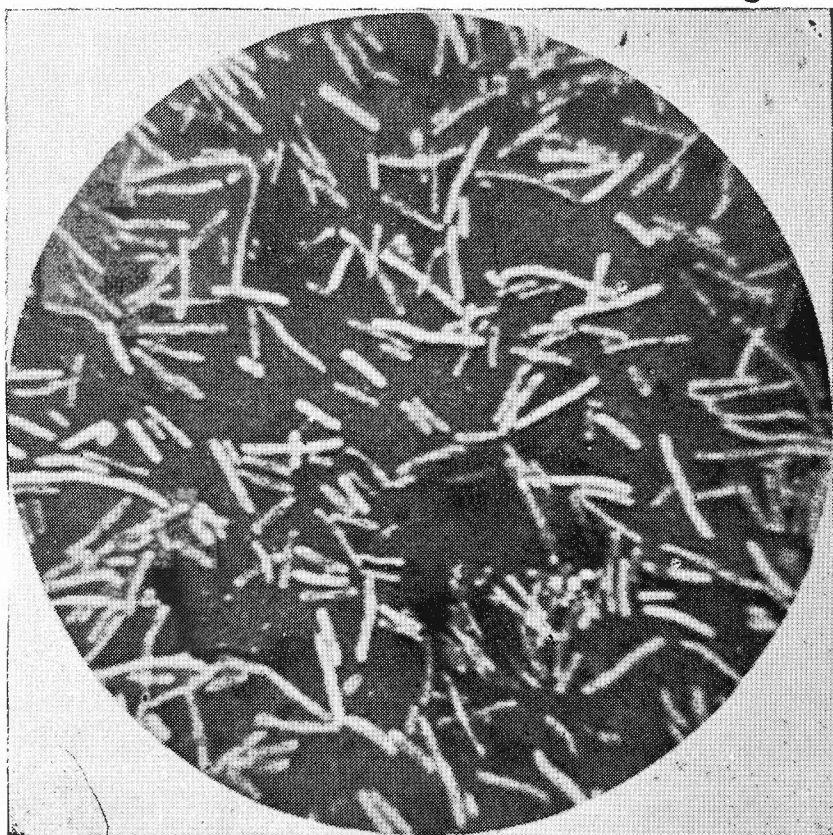
(Muestra tomada de las aguas del Río Tunjuelo. Octubre 30 de 1949)

Aspecto Macroscópico.

En medio de Agar Eosina Azul de Metileno se encontraron colonias planas, con ligera depresión central, brillo metálico intenso, bordes dentados y de estructura granulosa; núcleo central pequeño (aproximadamente un tercio de la colonia), en forma de estrella. El resto o sean dos tercios, se presenta claro, progresivo hasta los bordes. —Estructura fibrosa.

Aspecto Microscópico.

Movilidad positiva. Gram-negativo. El tamaño de esta cepa determinó sobre la siguiente microfotografía obteniendo el dato de 4.26 ± 0.72 micras. Se encontraron tamaños desde 1.5 a 8.5 micras, en 234 bacterias.



Fotografía N° 3.

CEPA C.

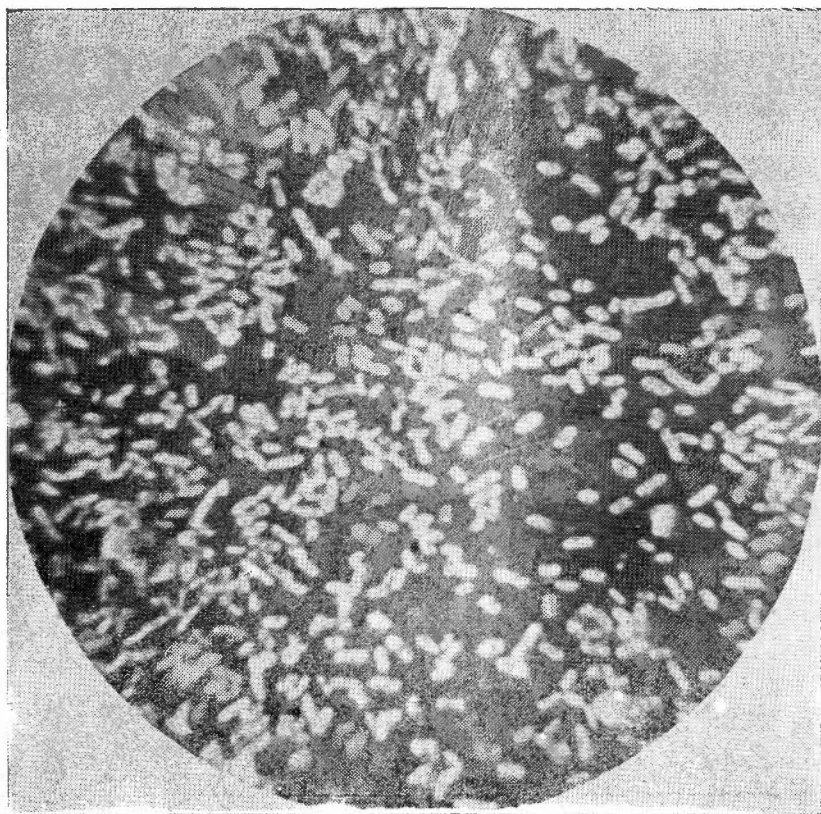
(Muestra tomada de las aguas del Río San Cristóbal. Noviembre 5 de 1949).

Aspecto Macroscópico.

Sobre Agar Eosina Azul de Metileno, se obtuvieron colonias pequeñas de 0.5 a 1 mm. de diámetro; de estructura granular; núcleo pardo oscuro que comprende la mitad de la colonia. Halo periférico claro, ligeramente ondulado. Algunas colonias tienen una forma ligeramente convexa definida. La tendencia a unirse es muy marcada. El brillo metálico es definido e intenso.

Aspecto Microscópico.

Movilidad positiva. Gram-negativo. El tamaño promedio de esta cepa, determinado en la fotografía adjunta sobre 512 bacterias es de 2.03 ± 0.97 micras, se encontraron cifras entre 1.5 y 4.5 micras.



Fotografía N° 4.

CEPA D.

(Muestra tomada de las aguas del Río Tunjuelo. Noviembre 7 de 1949).

Aspecto Macroscópica.

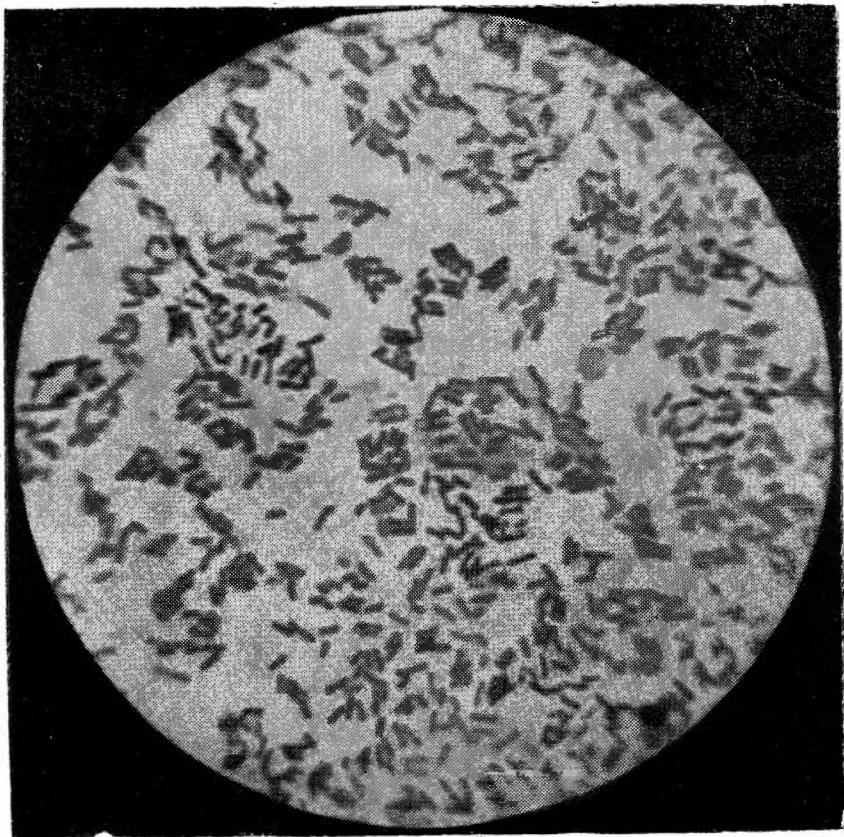
Sobre Agar Eosina Azul de Metileno se formaron colonias grandes de 1 a 2 mm. de diámetro.

Luz Transmítida: Núcleo Central granulado, bastante oscuro, tres cuartos de la colonia, borde ligeramente ondulado. Halo periférico pardo claro granulado.

Luz Reflejada: Colonias planas con ligera depresión central, brillo metálico únicamente en la depresión.

Aspecto Microscópico.

Movilidad positiva. Gram-negativo. El tamaño promedio de esta cepa sobre un recuento de 629 bacterias es de 1.87 ± 0.42 micras, se encontraron tamaños entre 1.5 y 3.5 micras. Las determinaciones se efectuaron sobre la siguiente fotografía.



Fotografía N° 5.

CEPA E₁.

(Muestra de Origen Lácteo).

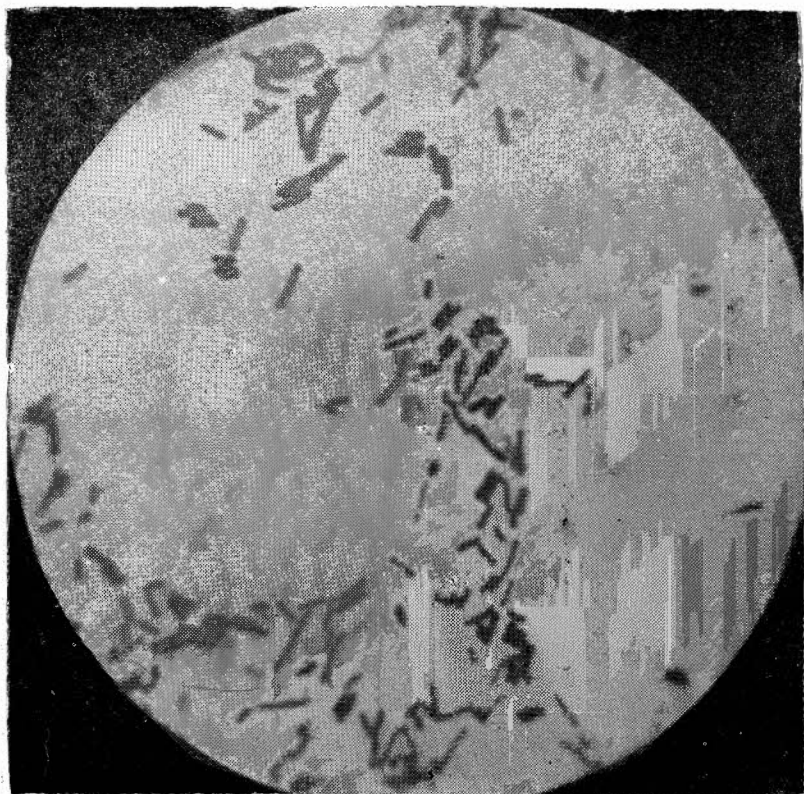
Aspecto Macroscópico.

Luz Transmitida: Sobre Agar Eosina Azul de Metileno, se obtuvieron colonias grandes de 2 mm. de diámetro como promedio. Bordes lobulados en el halo blanco, (mitad de la colonia). Estructura fibrosa. El núcleo es relativamente transparente con obscurecimiento gradual hacia el centro. La tendencia a unirse es muy definida.

Luz Reflejada: Colonias de forma plana sin depresión central. Brillo metálico periférico.

Aspecto Macroscópico.

Movilidad positiva. Gram-negativo. El tamaño promedio de esta cepa sobre un recuento de 185 bacterias y encontrando tamaños entre 1.5 y 6.5 micras, es de 2.39 ± 0.62 micras.



Fotografía N° 6.

CEPA E₂.

(Muestra de Origen Lácteo).

Aspecto Macroscópico.

Colonias grandes de 2 mm. de diámetro como promedio.

Luz Transmitida: Núcleo bastante oscuro, (tres cuartos de la colonia), granuloso, fibroso. Halo blanco ligeramente ondulado. Se presentan tres zonas en el núcleo.

a) Oscura, granulosa de igual espesor al halo blanco.

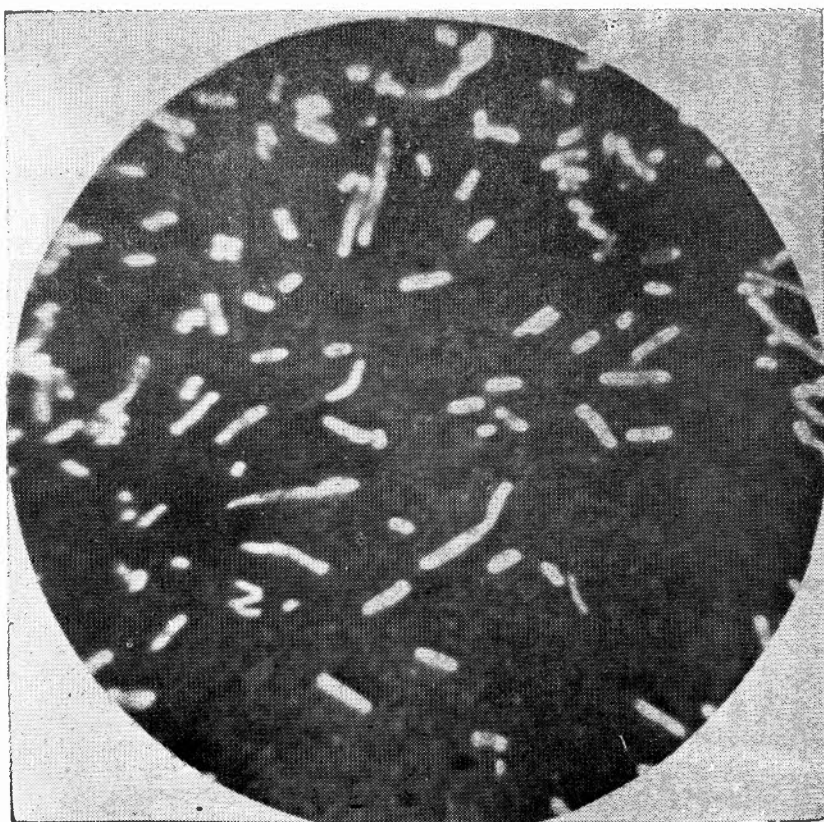
b) Clara, (menos oscura) mitad del núcleo fibrosa.

c) Central oscura.

Luz Reflejada: Brillo metálico muy tenue, prácticamente ausente.

Aspecto Microscópico.

Movilidad positiva. Gram-negativo. Tamaño promedio, sobre un recuento de 123 bacterias y habiendo encontrado elementos entre 1.5 y 9.5 micras, es de 3.02 ± 0.22 micras; determinaciones efectuadas sobre la adjunta fotografía.



Fotografía N° 7.

CEPA E₃.

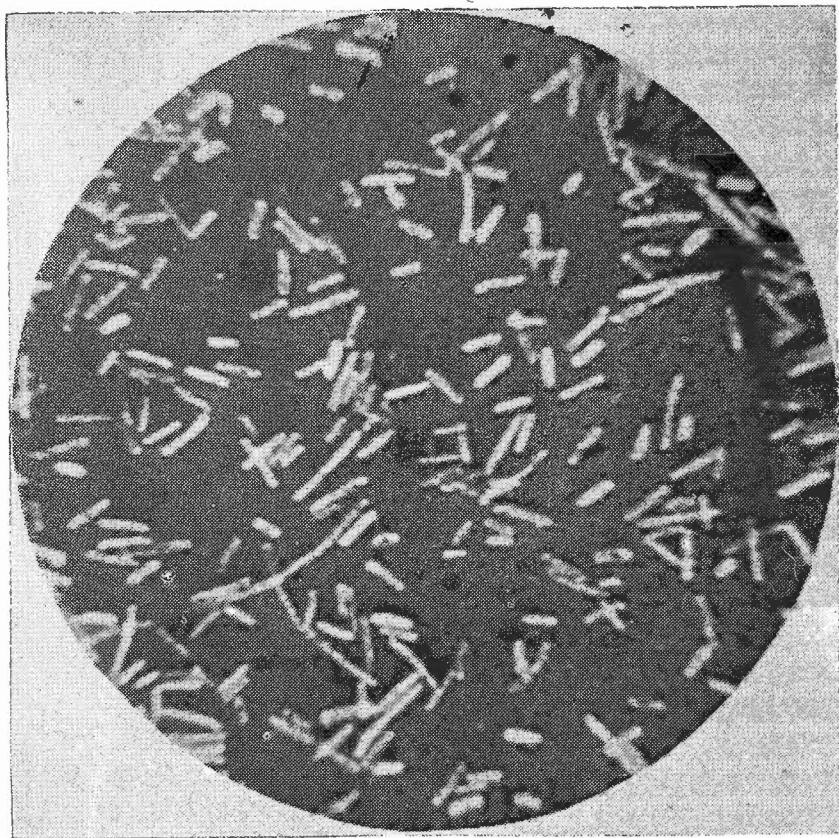
(Muestra tomada de las aguas del Río San Cristóbal)

Aspecto Macroscópico.

Sobre Agar Eosina Azul de Metileno se obtuvieron colonias grandes, algunas de dos o más mm. de diámetro. Núcleo casi negro con depresión central; halo dentado y de configuración irregular. Tendencia a unirse; brillo metálico periférico. (No hay brillo metálico en la parte central).

Aspecto Microscópico.

Campo oscuro: Algunas bacterias pueden considerarse gigantes. Todas son móviles y en las más grandes se puede ver un movimiento ondulante para lograr la traslación.



Fotografía N° 8.

La estructura interna parece granulada y se observan formas bipolares en la mayoría de las bacterias. Tendencia a formar cadenas, las cuales se encuentran completamente diferenciadas de las bacterias grandes en el punto de unión, como puede apreciarse claramente en la fotomicrografía anterior.

Por coloración son Gram-negativas, y se confirman las observaciones del campo oscuro.

El tamaño promedio de esta cepa es de 3.84 ± 0.48 micras, en un recuento de 209 bacterias.

CEPA F.

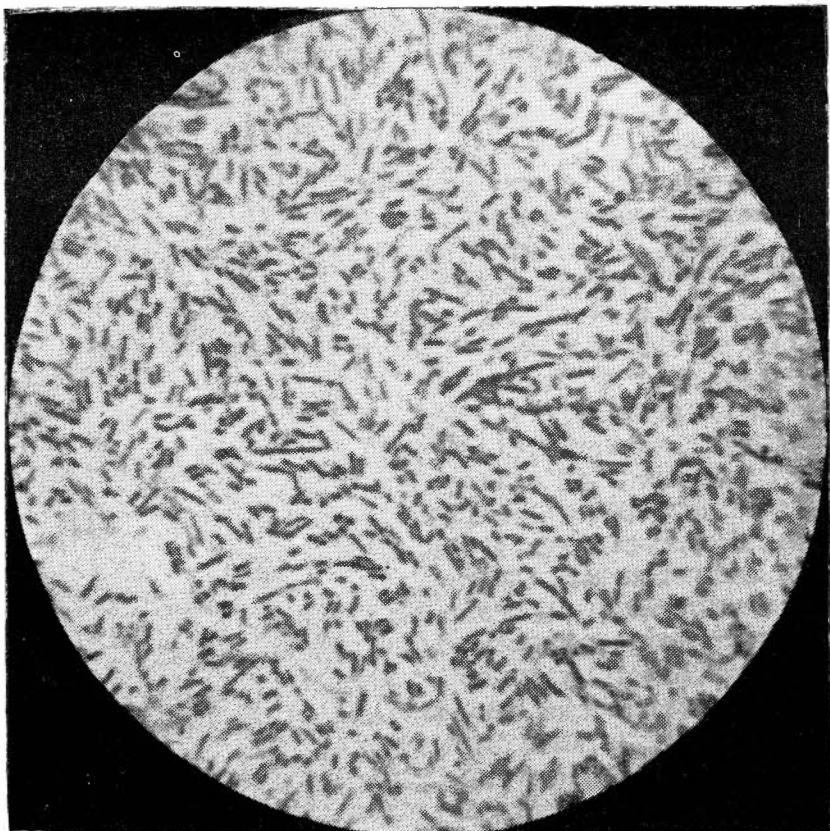
(Muestra de origen coprológico).

Aspecto Macroscópico.

Sobre Agar Eosina Azul de Metileno, se hallaron colonias pequeñas, de 0.5 mm. de diámetro.

Luz Transmitida: Núcleo oscuro, (tres cuartos de la colonia), fibroso. Halo blanco carmelita de borde regular.

Luz Reflejada: Colonias ligeramente levantadas en el centro. El brillo metálico es poco definido pero uniforme. Algunas colonias muestran una elevación punteada, central. La tendencia a unirse es muy marcada.



Fotografía N° 9.

Aspecto Microscópico.

Movilidad positiva. Gram-negativos. El tamaño promedio es de 1.38 ± 0.57 micras, sobre 885 elementos que encerraron cifras desde 0.5 hasta 5.5 micras.

Los resultados finales de las determinaciones concernientes a las pruebas de Voges-Proskauer; Rojo de Metilo; Indol; Citrato; Sacarosa; Salicina; Eijman y examen en fresco (movilidad); para efectuar la clasificación de cada una de las cepas, anteriormente descritas, están comprendidos en el cuadro siguiente:

CEPAS	C. P.	M. R.	INDOL	CITRATO	EIJM.	SAC.	SAL.	MOVIL.
A	(—)	x	x	(—)	x	x	x	x
B	(—)	x	x	(—)	x	x	(—)	x
C	(—)	x	x	(—)	x	(—)	(—)	x
D	(—)	x	x	(—)	x	x	x	x
E ₁	(—)	x	x	(—)	x	(—)	x	x
E ₂	(—)	x	x	(—)	x	(—)	x	x
E ₃	(—)	x	x	x	x	x	x	x
F	(—)	x	x	(—)	x	x	x	x

Eijman a una temperatura de 46.5 grados centígrados.

SIMBOLOS: (—) = Reacción negativa.

x = Reacción positiva.

Clasificación según las técnicas descritas por Bergey. (2)

Siguiendo la clasificación de este último autor, se concluye que las cepas utilizadas en este trabajo corresponden a las siguientes variedades del género *Escherichia*:

CEPAS ESTUDIADAS	Escherichia coli comunis	<div> <div></div> <div>A</div> <div>D</div> <div>E₁</div> <div>E₂</div> <div>F</div> </div>
	Escherichia coli acidilactici	C
	Escherichia coli comunior	B
	Escherichia coli intermedium	E ³

CAPITULO IV.

PRUEBA Nº 1.

a) *Observaciones sobre el desarrollo del colibacilo (cepa A) sembrado en medio de Sauton (selectivo para bacilo de Koch) en presencia de ácido sulfosalicílico y en ausencia del mismo:*

Se tomaron diez tubos de Durham, cada uno con 10 cc. de medio Sauton, adicionado de ácido sulfosalicílico en las concentraciones de 1 x 500; 1 x 660., hasta 1 x 20.000 y se sembraron con la cepa coli A (*Escherichia coli comunis*).

Se agregó un control de la misma, en medio Sauton, sin ácido sulfosalicílico y se controlaron sucesivamente.

Observaciones.

El colibacilo Cepa A presentó una fase de adaptación al medio, comprobada por la turbiedad total del mismo, observada al cabo de las 48 horas de sembrado; hecho que no ocurre en los medios de cultivo para el colibacilo, en los cuales manifiesta su crecimiento de las 12 a las 24 horas siguientes a la siembra. Además, hubo fermentación tardía pero creciente que se atribuye a la acción del colibacilo A sobre el glicerol del medio de cultivo.

Presentó la formación de una película sobrenadante, delgada, de aspecto grasoso, adherente a las paredes del tubo, fácilmente fragmentable y del mismo color del medio.

Se observó la presencia de sedimento en cantidad apreciable y variada. Este dato carece de valor por no haber sido determinada la

cantidad de colibacilo sembrada en los pases respectivos: 1.—Ver fotografía Nº 10. Fig. C.

Se hicieron repiques en caldo lactosado a partir de los tubos de experiencia y se obtuvo desarrollo del colibacilo A incluyendo los pases efectuados después de dos meses de prueba:

El control presentó turbiedad a las 48 horas de sembrado, fermentación en menor escala que la presentada por los tubos en prueba: presencia de escaso sedimento, y se mostró formación de película sobrenadante.

Los exámenes microscópicos efectuados, tanto de la cepa original, como de los cultivos en prueba, mostraron presencia de abundante colibacilo, completamente característico.

Posteriormente se comenzó otra experiencia similar a la anterior, variando únicamente la concentración del ácido sulfosalicílico. Los resultados obtenidos coincidieron con los expuestos anteriormente.

Se hicieron controles de cada tubo a los 24 días de cultivo, en caldo lactosado y en eosina azul de metileno agar, con resultados positivos para los cultivos cuya concentración en ácido no subió de 1×2.000 .

Al mes se volvieron a repetir repiques de control, y se obtuvieron los mismos resultados.

Los exámenes microscópicos mostraron abundante colibacilo, en las muestras tomadas de los cinco primeros tubos.

Se concluye de esta prueba:

1. El colibacilo cepa A prende lentamente en el medio de Sauton, selectivo para el bacilo de Koch; alcanza su mayor desarrollo, después de 48 horas de sembrado.

2. El colibacilo cepa A tiene mayor poder de fermentación sobre el glicerol en presencia del ácido sulfosalicílico, en concentraciones débiles, que en ausencia del mismo.

3. El colibacilo cepa A forma una película sobrenadante, fina, adherente a las paredes del tubo, de aspecto grasoso, fragmentada y del mismo color del medio, en presencia del ácido sulfosalicílico en mínimas cantidades, la cual no aparece en el mismo medio, sin el ácido mencionado.

4. El colibacilo cepa A sembrado sobre medio Sauton, en presencia de ácido sulfosalicílico, agregado en cantidades pequeñas, conserva la facultad de proliferar por espacio de más de dos meses.

5. El colibacilo cepa A conserva sus propiedades culturales en medio Sauton, en presencia de ácido sulfosalicílico en concentraciones menores del 1×2.500 .

b) *Desarrollo del bacilo tuberculoso sobre medio Sauton adicionado de ácido sulfosalicílico.*

Se tomaron diez tubos de prueba, cada uno con 10 cc. de medio Sauton, adicionado de ácido sulfosalicílico en concentraciones del 1 x 20.000 al 1 x 200.000. Se sembraron con bacilo tuberculoso, clasificado en las cepas H37 (bacilo tuberculoso humano) y HV (bacilo tuberculoso humano virulento). Se prepararon dos controles, uno para cada cepa empleada, en cada uno de los cuales se excluyó la presencia del ácido sulfosalicílico.

Observaciones.

Después de incubados estos tubos y de haber sido controlados diariamente, se comprobó que los correspondientes a la siembra de la cepa H37, presentaron formación de la película característica desarrollada en este medio por el *Mycobacterium Tuberculoso*. En este trabajo se observó rugosa, gruesa, cremosa, adherente a las paredes del tubo y de espesor variable.

El control presentó los caracteres propios a este bacilo.

Pasados dos meses se hicieron repiques de los primeros tubos (correspondientes a H37), en medio Sauton y se obtuvo un resultado positivo para el desarrollo del germen.

Los tubos correspondientes a la cepa HV y su respectivo control mostraron negatividad completa de crecimiento durante mes y medio.

Se concluye de esta prueba:

1. El bacilo tuberculoso humano, cepa H37, sembrado en medio Sauton, adicionado de ácido sulfosalicílico en concentraciones hasta del 1 x 20.000, prende bien y en poco tiempo (de ocho días en adelante).

2. El ácido sulfosalicílico suministrado en dosis bajas, no impide el crecimiento del *Mycobacterium tuberculoso*, cepa H37.

3. El bacilo tuberculoso, cepa H37, sembrado en medio Sauton y en presencia de ácido sulfosalicílico adicionado en cantidades pequeñas, conserva su actividad por más de dos meses.

4. La cepa HV (bacilo tuberculoso humano virulento), empleado en esta experiencia, no se desarrolló en los tubos de prueba, ni en el control, por consiguiente esa cepa se consideró muerta y fué eliminada.

PRUEBA N° 2.

Acción simultánea del colibacilo y del ácido sulfosalicílico sobre bacilo tuberculoso humano en medio Sauton.

a) *Cepas H37 y A en presencia de ácido sulfosalicílico al 0.1%.*

Se hicieron siembras simultáneas de las cepas H37 y A en presencia de ácido sulfosalicílico, en concentraciones crecientes sobre medio Sauton, 10 cc. para cada tubo.

Fecha 1949	Tubos	Medio Sauton	S. S al 0,1%	Concentración	Cepa Coli	Cepa Tub.
Dic. 22	1	10 cc.	0.05	1 x 200.000	A	H37
" "	2	10 cc.	0.10	1 x 100.000	A	H37
" "	3	10 cc.	0.15	1 x 66.000	A	H37
" "	4	10 cc.	—	—	A	H37
" "	5	10 cc.	—	—	A	H37

Observaciones.

En los tres primeros tubos en prueba, se presentó turbiedad del medio, sedimento y formación de una película sobrenadante, delgada, fragmentada, de aspecto grasoso y del mismo color del medio. Macroscópicamente muy semejante a la formada por el colibacilo cepa A., sobre medio Sauton, en presencia de ácido sulfosalicílico.

El control N° 4 presentó las características culturales del colibacilo, y el N° 5 las correspondientes al bacilo de Koch.

Se verificaron repiques de cada uno de los tres primeros tubos, sobre caldo lactosado, eosina azul de metileno agar, Sauton, comprobándose la negatividad de crecimiento de cada uno de los gérmenes en prueba, en los medios selectivos para cada uno de ellos, a partir de los 20 días de comenzada la experiencia.

Se observó que al cabo de mes y medio de efectuadas las siembras simultáneas, los tubos mencionados mostraron la desaparición del velo sobrenadante formado y anotado en las primeras semanas de cultivo. El aspecto microscópico de cada uno de estos tubos, puede verse aunque no completamente nítido, en la fotografía N° 10, primer tubo señalado con la letra α), porque la película anteriormente descrita,

se aprecia perfectamente a simple vista, pero nó en los sistemas fotográficos corrientes.

Se efectuaron exámenes microscópicos en distintos tiempos de cada cultivo; se hicieron coloraciones de Ziehl Neelsen y Gram. Se observó que durante los 15 primeros días aparecieron bacilos ácido alcohol resistentes, característicos de la cepa H37; algunos gérmenes más grandes que los anteriores, pero aparentemente vacíos en el centro en donde presentan un tinte amarillento, refringente, de bordes y extremidades netos. Otros bacilos de la longitud del mycobacterium tuberculoso, pero más gruesos: de extremidades redondas, con una ácido-resistencia poco marcada en el cuerpo bacilar y acentuada en la periferia. Bacilos coli característicos bien teñidos.

Después de más de un mes de control microscópico, se observó que las formas bacilares, ácido-alcohol-resistentes, correspondientes a la concentración de 1×66.000 de ácido sulfosalicílico, no volvieron a aparecer. En cambio abundaron las formas bacilares gigantes, refringentes y decreció la frecuencia del colibacilo.

Cabría preguntar si las modificaciones anteriormente expuestas podrían deberse a la acción combinada del colibacilo y del ácido sulfosalicílico, sobre el bacilo tuberculoso.

Se concluye de esta prueba:

1. El bacilo tuberculoso, cepa H37 (bacilo tuberculoso humano), no se desarrolla en presencia del colibacilo cepa A, (*Escherichia coli* comunis) sembrados simultáneamente en 10 cc. de medio Sauton, adicionado de ácido sulfosalicílico al 1×200.000 ; 1×10.000 y 66.000 para cada tubo.

a) Por ausencia de formación de la película característica del *Mycobacterium tuberculoso*.

b) Por su inactividad en los repiques efectuados en medio Sauton.

2. El colibacilo cepa A (*Escherichia coli* comunis), se desarrolla en presencia del bacilo tuberculoso, cepa H37 (bacilo tuberculoso humano), en medio Sauton adicionado de ácido sulfosalicílico.

3. El colibacilo demuestra desarrollarse en estos cultivos:

a) Por enturbiamiento del medio.

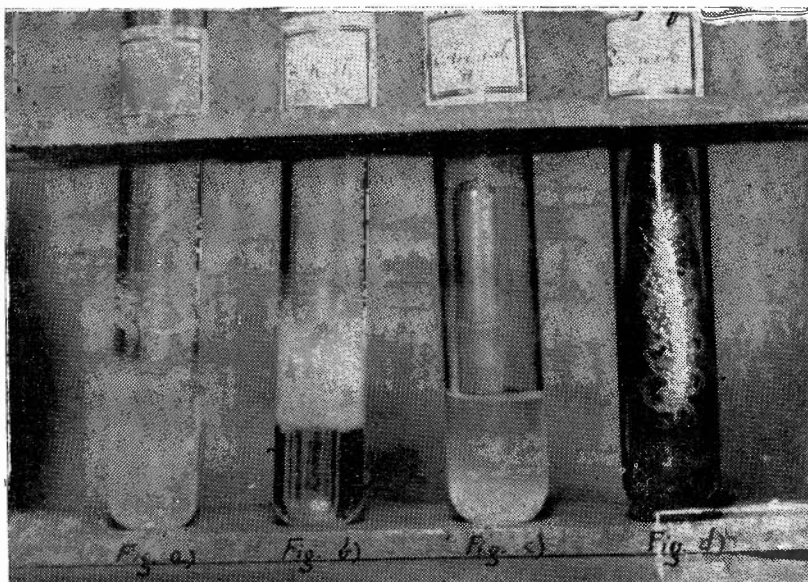
b) Por la formación de la película característica originada por este bacilo en presencia del ácido sulfosalicílico, sobre medio Sauton.

c) Por la presencia de la bacteria coliforme abundante en los cultivos, manifestada por los exámenes microscópicos efectuados.

4. Después de 20 días de efectuada la siembra simultánea del bacilo tuberculoso y del bacilo coli, tanto el primero como el segundo,

pierden sus propiedades de actividad germinativa puesto que no se desarrollan en los repiques efectuados.

5. En los cultivos anteriormente controlados se notó disminución en la incidencia del bacilo coli (cepa A) y especialmente del bacilo tuberculoso humano.



Fotografía Nº 10.

Figuras:

- a). Colibacilo Cepa A (*Escherichia coli* comunis). Bacilo tuberculoso (Medio Sauton).
- b) Bacilo tuberculoso bovino Cepa HB (Medio Sauton).
- c) Colibacilo Cepa A (*Escherichia coli* comunis). (Medio Sauton).
- d) Colibacilo Cepa A (*Escherichia coli* comunis). (Medio Eosina azul de metileno agar).

b) *Acción del bacilo coli sobre el bacilo tuberculoso cultivado en medio Sauton en presencia del ácido sulfosalicílico.*

Se tomaron 4 cultivos de bacilo tuberculoso humano (H37) sembrados, sobre medio Sauton, adicionado de ácido sulfosalicílico. De estos 4 tubos, se tomaron dos, en los cuales el cultivo aparecía muy abundante Nos. 2 y 4; un tercero en que estaba muy escaso Nº 1 y

finalmente, un cuarto tubo que presentaba un cultivo medianamente desarrollado (Nº 3). Todos fueron adicionados de colibacilo cepa A, a partir de un cultivo en medio Sauton, adicionado de ácido sulfosalicílico.

Los tubos 5 y 6, corresponden a los controles:

Fecha 1950	Tubos	Medio Sauton	Ac. S. S. 0.1%	Concentración	Cepa Tub.	Cepa colibacilar
Ene. 22	1	10 cc.	0.20 cc.	1 x 50.000	H37	A una asa Cul
Ene. 22	1	10 cc.	0.35 cc.	1 x 28.000	H37	A una asa Cul
" "	3	10 cc.	0.50 cc.	1 x 10.000	H37	A " " "
" "	4	10 cc.	0.30 cc.	1 x 33.000	H37	A 1 cc.
" "	5	10 cc.	—	—	—	A " " "
" "	6	10 cc.	—	—	—	A " " "

Observaciones.

A los diez días de esta adición se notó en cada tubo lo siguiente: turbiedad, sedimento blanco proporcional a la película preformada del H37 y finalmente ocasionales fragmentos de película sobrenadante, algunos prendidos a las paredes del tubo y otros en suspensión. Se constató que el sedimento correspondía al velo característico del H37 que lentamente fue cayendo al fondo del tubo desde la superficie del medio.

Se efectuaron repiques en los medios de caldo lactosado, eosina azul de metileno agar, Sauton, a partir de los tres primeros tubos, los cuales recibieron respectivamente otra muestra del colibacilo A anteriormente usada. Se verificaron dos traspases más de esta cepa con intervalo de tres días cada una.

A los 20 días de prueba se encontró disminución de películas sobrenadantes, las cuales desaparecieron al mes.

Los repiques efectuados a los 10 días de prueba, mostraron en eosina azul de metileno Agar, la formación de colonias redondas, grandes, oscuras y opacas, bordes lisos sin brillo metálico.

El tubo correspondiente al Nº 4 en el cuadro anterior, en que había prendido exhuberantemente el bacilo tuberculoso y que fue sembrado con 1 cc. de cepa coli A cultivada en medio Sauton en presencia del ácido sulfosalicílico al uno por diez mil, para 10 cc.

de medio, se hizo turbio, disminuyó lentamente su película característica y aumentó su sedimento.

Al mes pudo comprobarse la ausencia del velo característico del bacilo tuberculoso y la aparición de una película sobrenadante delgada, homogénea y de aspecto grasoso, además de la turbiedad y aumento de sedimento ya anotados.

Se hicieron repiques sobre los medios empleados, a partir de los 20 días y un mes de controlado el cultivo.

En los primeros se notó lo siguiente: sobre medio de eosina azul de metileno agar, abundante presencia de colibacilo con sus características peculiares en este medio. En caldo lactosado, turbiedad y fermentación en 10% y presencia de escasa película grasosa. Finalmente en medio de Sauton: turbiedad, formación de una película delgada, homogénea y de aspecto grasoso. No se halló indicio de desarrollo del bacilo tuberculoso. No obstante, estos cultivos se controlaron por espacio de dos meses.

El repique efectuado sobre medio Sauton, a partir de mes y diez días, no presentó muestras de crecimiento bacteriano. Los controles correspondientes a los tubos 5 y 6 presentaron las características propias de cada cepa. El primero tiene la misma presencia de la cepa coli A, sembrada en cada tubo de esta prueba; y el segundo la de uno de los tubos empleados antes de la operación.

Se concluye de esta prueba:

1. Que la adición sucesiva en diferentes tiempos de bacilo coli A (cultivo de 15 días) a cultivo de bacilo tuberculoso (H37), adicionado de cantidades variables, de ácido sulfosalicílico, inhibió el desarrollo del bacilo tuberculoso en medio selectivo, puesto que este último germen no prendió en el medio Sauton.

2. Que se repitió el experimento anterior, agregando el bacilo coli una sola vez, en cantidad de un cc. de cultivo de 15 días y que el resultado cultural para el bacilo tuberculoso fué el mismo.

3. Que en el primer experimento se obtuvieron colonias de bacilo coli, a las cuales les faltaba únicamente como elemento característico el brillo metálico, y que sí se encontró en el segundo.

c) *Variaciones de estas mismas cepas cultivadas en presencia de ácido sulfosalicílico en concentraciones mayores.*

Esta experiencia se comenzó empleando medio Sauton adicionado de ácido sulfosalicílico en concentraciones de 1 por 1.300; 1 por

1.400; 1 por 1.450 etc... hasta 1 por 40.000, y se efectuaron siembras simultáneas de las cepas H37 y A.

Se adicionaron dos tubos más, como controles del bacilo coli y del mycobacterium respectivamente.

Observaciones.

Se apreció turbiedad después de 48 horas de cultivo, además formación de película sobrenadante, delgada y adherente a las paredes del tubo; exceptuando el tubo control del bacilo de Koch. A los 8 y 10 días de cultivo, se efectuaron exámenes microscópicos encontrando a partir del cuarto tubo, inclusive, presencia de bacilos tuberculosos, algunos con granulaciones, pero en general relativamente escasos, formas bacilares refrigerantes, colibacilo característico y polimorfo, unas veces muy pequeño y otras agrandado, (rechoncho) coloreados heterogéneamente, es decir, algunos teñidos completamente que son los que caracterizan el colibacilo normal; otros hacia la periferia, o hacia las extremidades, o hacia el cuerpo bacilar. Además se encontraron elementos completamente carentes de color, que en ocasiones en contacto con el aceite de cedro, usado para el examen, asumen un aspecto refringente. No se pudo apreciar si estos elementos pertenecen al bacilo de Koch o al colibacilo: probablemente este fenómeno se deba a plasmolisis efectuada en los cuerpos bacterianos.

Este pleomorfismo se acentúa más en las muestras de los cultivos que llevan concentraciones de ácido sulfosalicílico mayores de 1×5.000 no sin aparecer colibacilo característico pero en menor escala.

En los tres primeros tubos se hallaron abundantes formas colibacilares uniformes y bien teñidas.

A los 15 días se hicieron repiques de cada tubo, en caldo lactosado y Sauton adicionado en algunos tubos de ácido sulfosalicílico, y se obtuvieron los resultados que anotamos a continuación:

Los repiques correspondientes a los tubos cuyas concentraciones de ácido sulfosalicílico fueron 1 por 40.000; 1 por 20.000; 1 por 13.000 y 1 por 5.700 formaron en la superficie del medio una película viscosa, gruesa, blancuzca, sin presentar las características propias del bacilo tuberculoso. Esta formación se apreció con nitidez a los cinco días de cultivo; poco después fué perdiendo lentamente el aspecto mucilaginoso, tornándose en una película también sobrenadante pero seca, delgada y blanca.

Se efectuaron exámenes microscópicos tanto de la primera como

segunda fase, observándose abundantísimo colibacilo y ausencia total de bacilo de Koch.

Se hicieron nuevamente repiques a partir de los tubos originales, después de un mes de incubación, sobre caldo lactosado y Sauton, obteniendo en el primero: turbiedad y desprendimiento de gas en un 30% únicamente en los tubos cuyas concentraciones de ácido sulfosalicílico fueron de 1 por 10.000 y 1 por 5.700 y 1 por 4.500; y en el segundo, negatividad total de desarrollo del bacilo de Koch, en cada uno de los tubos sembrados.

Los exámenes microscópicos correspondientes a los tubos originales, efectuados después de un mes de cultivo, mostraron ausencia de bacilo tuberculoso y presencia de colibacilo; la mayoría de coloración desigual, agrupada hacia los extremos de cada bacilo.

También se hallaron formas colibacilares bien teñidas pero escasas. La película grasosa desapareció.

Después de dos meses se hicieron exámenes en fresco y se encontraron bacterias móviles en todos los tubos.

De esta prueba se concluye:

Que la adición de una cantidad variable de ácido sulfosalicílico, solamente influyó en establecer, modificaciones macro y microscópicas del colibacilo, tales como la formación de la película mucilaginosa y abundantes formas de plasmolisis que se supone sean del colibacilo.

PRUEBA Nº 3.

Acción simultánea de las cepas A (Escherichia coli comunis) y H37 (Tuberculosis Humana) en medio Sauton, excluyendo la presencia del Acido Sulfosalicílico.

La experiencia se inició así: se tomaron 7 tubos de prueba, cada uno de los cuales contenía 10 cc. de medio Sauton. 5 de estos tubos se sembraron simultáneamente con las cepas H37 y A; el 6º tubo fué sembrado con colibacilo y el 7º tubo con bacilo tuberculoso.

Observaciones.

A las 48 horas de efectuadas las siembras, se encontró completa turbiedad en cada tubo, excluyendo el control para la cepa tuberculosa H37, indicio del desarrollo del colibacilo. Lentamente fué apareciendo la formación de un velo flotante, delgado, fragmentado y grasoso en

los cuatro primeros tubos. En el quinto tubo se observó a partir del cuarto día de incubación, la aparición de una película muy semejante a la formada por el *Mycobacterium tuberculosis*, que aumentó notoriamente alcanzando su mayor desarrollo después de 20 días de prueba. Luego fue disminuyendo hasta quedar una ligera muestra de ella y huellas de una película grasosa fina.

En todos los tubos se encontró sedimento. El tubo Nº 7 correspondiente al control del bacilo tuberculoso presentó las características propias del *Mycobacterium*.

Se hicieron repiques de cada tubo en los medios Caldo Lactosado, Eosina Azul de Meileno Agar y Sauton, comprobándose que los efectuados a los 8 días de cultivo, mostraron desarrollo del colibacilo en los medios selectivos para éste y en medio Sauton turbiedad. Únicamente el repique del quinto tubo, en Sauton, tubo formación de una película fina, grasosa, semejante a la mencionada en las pruebas anteriores.

Los repiques correspondientes a los 15 días de incubación de los tubos originales, manifestaron crecimiento del colibacilo, con fermentación de la lactosa y desprendimiento de gas en 30% pero no se halló indicio de desarrollo del bacilo de Koch.

Los pases hechos a los 25 días enseñaron crecimiento del colibacilo en caldo lactosado; ausencia de enturbiamiento sobre medio Sauton y carencia de desarrollo del H37. Los exámenes efectuados en fresco tanto a los cultivos originales como a los repiques prendidos, después de dos meses de prueba, mostraron movilidad bacteriana.

Finalmente los repiques efectuados al mes no mostraron indicio de desarrollo del colibacilo, ni del bacilo de Koch. Estos tubos repicados se controlaron por espacio de un mes.

Se sembraron muestras de los primeros repiques, sobre caldo lactosado y Sauton con resultado positivo para el crecimiento del colibacilo. Uno de estos, examinado microscópicamente, después de 10 días de sembrado, mostró por coloración de Gram, abundantísimo colibacilo, bien teñido, excluyendo algunos bacilos de coloración débil y desigual un poco alargados y ensanchados. Por la coloración de Ziehl Neelsen, ausencia total de bacilos ácido-alcohol-resistentes.

Los exámenes microscópicos efectuados a los 10 y 15 días y un mes de incubación de los cultivos originales, revelaron la presencia de bacilos ácido-alcohol-resistentes, y los correspondientes al mes y medio de cultivo, mostraron colibacilo característico relativamente escaso, formas colibacilares polimorfas, algunas alargadas y débilmente o no

teñidas, en una de sus extremidades. Finalmente ausencia del bacilo de Koch.

Se concluye de esta prueba:

1. El colibacilo cepa A (*Escherichia coli* comunis) sembrado simultáneamente con el bacilo tuberculoso, cepa H37 (tuberculoso humano), sobre medio Sauton, enturbia completamente el medio, después de 48 horas de incubado, manifestando su desarrollo en los repiques efectuados sobre medios selectivos; y en los exámenes microscópicos de los cultivos originales y pases respectivos. Mantiene su actividad germinativa por espacio de 25 días después de efectuada la prueba, y la pierde totalmente después de un mes.

2. Que al examen microscópico efectuado al comenzar la experiencia, se encontró el bacilo tuberculoso asociado con el colibacilo en los velos formados, pero que no se pudo obtener crecimiento del bacilo de Koch en los repiques hechos sobre medio selectivo para el mismo, —hecho que puede interpretarse como causado por la muerte del germen—.

PRUEBA N° 4.

Acción simultánea de las cepas A (Escherichia coli comunis) y HB (Bacilo Tuberculoso bovino) en presencia de ácido sulfosalicílico.

Se empleó medio Sauton adicionado de Acido Sulfosalicílico en las concentraciones de 1 por 100; 1 por 200 etc., hasta 1 por 20.000 y se hizo la siembra simultánea de las cepas HB y A. Además se pusieron dos controles para cada una de las cepas en cuestión.

Observaciones.

A las 24 horas de incubación se notó ligera opalescencia en los tubos cuyas concentraciones de ácido sulfosalicílico oscilaban entre 1 por 20.000 y 1 por 1.000. También en el tubo correspondiente al control del colibacilo. De las 48 horas en adelante se apreció franca turbiedad en los mismos. A las 96 horas se presentó formación de película sobrenadante, delgada, adherente, de aspecto grasoso y del color del medio; sedimento escaso. La película mencionada desapareció después de un mes de incubación.

Los tubos correspondientes a las concentraciones de 1 por 100

y 1 por 200 de ácido sulfosalicílico no mostraron señal de crecimiento bacteriano.

Los tubos controles presentaron las características propias de cada bacilo.

Después de 20 días de incubación se efectuaron repiques sobre medios Sauton y Eosina Azul de Metileno Agar, y se obtuvo en el primero: turbiedad sin formación de película grasosa y sin sedimento, a partir de los pases correspondientes a los tubos cuyas concentraciones de ácido sulfosalicílico comprendían desde 1 por 20.000 hasta 1 por 2.500. Tales cultivos se controlaron por 15 días sin notar variación alguna. En el segundo se hallaron colonias típicas de bacilo coli, también en los pases correspondientes a las concentraciones anteriores.

La falta de desarrollo bacteriano en los otros tubos se atribuye a la elevada concentración de ácido sulfosalicílico adicionada.

Los exámenes microscópicos efectuados en los primeros días de cultivo, señalaron la presencia de bacilo tuberculoso, poco abundante, de colibacilo polimorfo y de bacilos completamente vacíos, de contornos y tamaño muy similares al colibacilo. En algunos campos tienen aspecto refringente.

Los exámenes microscópicos efectuados después de mes y medio de cultivo de cada tubo original, mostraron bacilo tuberculoso en cantidad apreciable. Colibacilo en su mayoría polimorfo y de desigual coloración, con predominio del tamaño pequeño.

Se concluye:

1. Que el hecho de haber encontrado bacilos ácido-alcohol-resistentes en todos los cultivos después de mes y medio de observación, se deba probablemente a elementos muertos, puesto que los repiques efectuados en medios selectivos, no prendieron.

2. También se puede anotar que las concentraciones de 1 por 200 y 1 por 100 de ácido sulfosalicílico impiden completamente el desarrollo de ambos gérmenes.

3. Que las concentraciones menores de 1 por 1.000 de ácido sulfosalicílico se comportan igualmente frente al bacilo tuberculoso en presencia del colibacilo.

Después se efectuó otra experiencia similar a la anterior, variando únicamente la concentración del ácido sulfosalicílico desde 1 por 40.000 hasta 1 por 1.500.

Los cultivos se observaron y controlaron por repiques y exámenes microscópicos, por espacio de dos meses y se pudieron comprobar los resultados anotados en el ensayo anterior.

PRUEBA Nº 5.

Generalizaciones sobre la acción recíproca de las cepas clasificadas: B (Escherichia coli comunior); C (Escherichia coli acidilactici); E₃ (Escherichia coli intermedium); y F (Escherichia coli comunis), con las cepas H37 (bacilo tuberculoso humano) y HB (bacilo tuberculoso bovino), en presencia del ácido sulfosalicílico.

Para cada cepa coli clasificada se tomaron dos grupos de tubos de ensayo, con medio Sauton, cada uno designado para una distinta cepa tuberculosa y formado por tres tubos, a cada uno de los cuales se les adicionó ácido sulfosalicílico en las concentraciones de: 1 x 1.500; 1 por 4.000 y 1 por 20.000. Además se agregaron dos tubos controles, uno para la cepa colibacilar y otro para la respectiva cepa tuberculosa. Las siembras se efectuaron simultáneamente.

Observaciones.

Los cultivos fueron observados diariamente y controlados cada ocho, quince, veinte, treinta y cuarenta y cinco días, por exámenes microscópicos y repiques efectuados sobre caldo lactosado; eosina azul de metileno agar y Sauton; con lo cual pudo comprobarse:

1. Desarrollo de las cepas coli.
2. Ausencia de desarrollo del bacilo tuberculoso.
3. Desarrollo normal del bacilo tuberculoso en los controles correspondientes.
4. Pérdida de la actividad germinativa de las cepas Coli:
 - B. (Escherichia coli comunior);
 - C. (Escherichia coli acidilactici);
 - F. (Escherichia coli comunis); excluyendo la cepa E₃ (Escherichia coli intermedium), que sí se mostró activa, después de mes y medio de control, en las condiciones de la experiencia.

PRUEBA Nº 6.

Determinación, comparación y relación de Ph de los medios de cultivo empleados y de los mismos, después de haber sido sembrados.

La reacción del medio de cultivo para el desarrollo bacteriano es de importancia vital, puesto que pasando de ciertos límites lo impide completamente.

La concentración de hidrogeniones más favorable para la germinación del bacilo tuberculoso, varía de acuerdo con el tipo de mycobacterium de que se trate, así por ejemplo para el bacilo tuberculoso tipo humano, está comprendida entre un Ph 7, 4 a 8; y para el bacilo tuberculoso tipo bovino Ph de 5.8 a 6.9. (Ishimori 1924).

El bacilo tuberculoso humano, alcalinizado primero el medio y luego lo acidifica, en cambio, el bacilo tuberculoso bovino, jamás lo acidifica. (7).

Las cifras de Ph señaladas en este trabajo fueron determinadas en potenciómetro para los medios de cultivo empleados y para los mismos, adicionados de concentraciones diferentes de ácido sulfosalicílico y en colorímetro para los cultivos propiamente dichos.

El cuadro siguiente encierra los datos obtenidos en las determinaciones efectuadas a los medios de cultivo:

Caldo lactosado	Ph...6.97	Indicador Universal Recién preparada.
Medio Lowestein	Ph...7.20	
Medio Petraghiani	Ph...7.40	
Medio Sauton	Ph...7.50	

Medio Sauton adicionado de ácido sulfosalicílico en la siguiente proporción.

Sauton	A. Sulfosalicílico 1%	Concentración	PH.
10 cc.	0.05 cc.	1 por 20.000	7.46
10 cc.	0.10 cc.	1 por 10.000	7.31
10 cc.	0.20 cc.	1 por 5.000	7.14
10 cc.	0.30 cc.	1 por 3.300	6.92
10 cc.	0.40 cc.	1 por 2.500	6.70
10 cc.	0.50 cc.	1 por 2.000	6.50
10 cc.	1.00 cc.	1 por 1.000	5.95
10 cc.	1.50 cc.	1 por 660	5.25
10 cc.	2.00 cc.	1 por 500	4.80
10 cc.	5.00 cc.	1 por 100	3.00

A. Sulfosalicílico 0.5%

10 cc.	0.05 cc.	1 por 40.000	7.42
10 cc.	0.10 cc.	1 por 20.000	7.40
10 cc.	0.15 cc.	1 por 15.000	7.36
10 cc.	0.20 cc.	1 por 10.000	7.31
10 cc.	0.25 cc.	1 por 8.000	7.25

A. Sulfosalicílico 0.5%

10 cc.	0.30 cc.	1 por	7.500	7.20
10 cc.	0.35 cc.	1 por	5.600	7.15
10 cc.	0.40 cc.	1 por	5.000	7.06
10 cc.	0.45 cc.	1 por	4.500	7.01
10 cc.	0.50 cc.	1 por	4.000	6.98
10 cc.	1.00 cc.	1 por	2.000	6.60
10 cc.	1.50 cc.	1 por	1.500	6.10
10 cc.	2.00 cc.	1 por	1.000	5.82
10 cc.	5.00 cc.	1 por	400	4.20

A. Sulfosalicílico 0.1%

10 cc.	0.05 cc.	1 por	200.000	7.45
10 cc.	0.10 cc.	1 por	100.000	7.45
10 cc.	0.15 cc.	1 por	66.000	7.45
10 cc.	0.20 cc.	1 por	50.000	7.42
10 cc.	0.25 cc.	1 por	40.000	7.42
10 cc.	0.30 cc.	1 por	33.000	7.42
10 cc.	0.35 cc.	1 por	28.000	7.41
10 cc.	0.40 cc.	1 por	25.000	7.41
10 cc.	0.45 cc.	1 por	22.000	7.40
10 cc.	0.50 cc.	1 por	20.000	7.40
10 cc.	1.00 cc.	1 por	10.000	7.30
10 cc.	1.50 cc.	1 por	6.000	7.20

Observaciones.

En la prueba Nº 4 puede demostrarse que las siembras efectuadas en medio Sauton adicionado de ácido sulfosalicílico en concentración al 1 por 100, no mostraron indicio de desarrollo y teniendo en cuenta el pH inicial del medio (4.2) se puede deducir que el exceso de caidez, marcado con la cifra anterior es inducir que el exceso de acidez, marcado con la cifra anterior es incompatible con la germinación bacteriana.

El esquema adjunto presenta los datos de Ph tomados, primero de cultivos de las cepas H37 y A sobre medio Sauton; segundo, de la cepa A, sobre el mismo medio, adicionado de ácido sulfosalicílico al 0.1%; tercero, de las cepas H37 y A sobre Sauton con ácido sulfosalicílico al 0.1%; cuarto, sobre los cultivos de las cepas anteriores y HB

en presencia de ácido sulfosalicílico al 0.5%; y quinto, de cultivos de las cepas H37 y HB más cepas coli B. C.E₃. y F, en presencia del mismo ácido al 0.5%.

Medio Sauton	Cepa Coli	Cepa Tuberculosa	Acido Sulfosalicílico		Concentración	Pb
10 cc.	A	H37	0.1%	0.05 cc.		5.5
10 cc.	A	H37				5.6
10 cc.	A	—	0.1%	0.05 cc.	1 x 200.000	5.7
10 cc.	A	—	0.1%	0.15 cc.	1 x 66.000	5.7
10 cc.	A	—	0.1%	0.20 cc.	1 x 50.000	5.7
10 cc.	A	—	0.1%	0.30 cc.	1 x 33.000	5.4
10 cc.	A	—	1.1%	0.40 cc.	1 x 25.000	5.5
10 cc.	A	—	0.1%	0.50 cc.	1 x 10.000	5.4
10 cc.	A	H37	0.1%	0.05 cc.	1 x 200.000	5.9
10 cc.	A	H37	0.1%	0.15 cc.	1 x 66.000	5.8
10 cc.	A	H37	0.1%	0.20 cc.	1 x 50.000	5.6
10 cc.	A	H37	0.1%	0.30 cc.	1 x 33.000	5.4
10 cc.	A	H37	0.1%	0.35 cc.	1 x 28.000	5.5
10 cc.	A	H37	0.1%	0.50 cc.	1 x 10.000	5.5
10 cc.	A	H37	0.5%	0.1 cc.	1 x 20.000	5.4
10 cc.	A	H37	0.5%	0.5 cc.	1 x 4.000	5.4
10 cc.	A	H37	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.2
10 cc.	A	H37	0.5%	0.1 cc.	1 x 20.000	5.4
10 cc.	A	H37	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.4
10 cc.	B	—	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.4
10 cc.	B	H37	0.5%	0.1 cc.	1 x 20.000	5.4
10 cc.	B	H37	0.5%	0.5 cc.	1 x 1.500	5.6
10 cc.	B	HB	0.5%	0.5 cc.	1 x 4.000	5.2
10 cc.	C	—	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.6
10 cc.	C	H37	0.5%	0.1 cc.	1 x 20.000	5.8
10 cc.	C	H37	0.5%	0.5 cc.	1 x 4.000	5.6
10 cc.	C	H37	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.8
10 cc.	C	HB	0.5%	0.5 cc.	1 x 4.000	5.6
10 cc.	C	HB	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.6
10 cc.	E ₃	—	0.5%	0.1 cc.	1 x 20.000	5.5
10 cc.	E ₃	HB	0.5%	0.1 cc.	1 x 20.000	5.4
10 cc.	E ₃	HB	0.5%	1.5 cc.	1 x 1.500	5.5

10 cc.	F	H37	0.5%	0.1 cc.	1 x	20.000	6.1
10 cc.	F	H37	0.5%	1.5 cc.	1 x	1.500	5.4
10 cc.	F	HB	0.5%	0.1 cc.	1 x	20.000	5.8
10 cc.	F	HB	0.5%	1.5 cc.	1 x	1.500	5.7

NOTA:

Estas determinaciones fueron hechas después de uno y medio y dos meses de efectuadas las siembras de los respectivos cultivos.

Por los resultados anteriores puede deducirse que el Ph de los medios de cultivo se va haciendo ácido desde el comienzo de la incubación, hasta llegar a un Ph no menor de 5.2 tanto en los cultivos adicionados de ácido sulfosalicílico como en los no añadidos del mismo.

Además, por los controles de los cultivos llevados a cabo y ampliamente demostrados en las pruebas anteriores, resalta que los cultivos de la cepa coli A (*escherichia coli* comunis) en medio Sauton en presencia de ácido sulfosalicílico mostraron desarrollo bacteriano en los repiques efectuados a partir de los mismos, después de mes y medio de incubación y cuyos cultivos originales tenían Ph no inferior a 5.4; y que los cultivos de bacilo tuberculoso y coli en sus distintas cepas en Sauton en presencia de ácido sulfosalicílico con Ph similar a los anteriores, no dieron indicio de desarrollo bacteriano, después del mismo tiempo de incubación, es decir, después de mes y medio de control.

PRUEBA Nº 7.

a) Observaciones sobre cultivos de Colibacilo en medio Petrag-nani adicionado de verde de malaquita en la concentración del 1 por 10.000.

b) Observaciones sobre el desarrollo simultáneo del Colibacilo y del Bacilo de Koch, en cajas de petri sobre medio Petrag-nani, adicio-nado de verde de malaquita en concentración del 1 por 10.000.

a) El color inicial del medio empleado es amarillo limón. Al ser sembrado de Colibacilo vira el color hacia uno verde intenso; en una extensión variable unas veces y otras en la totalidad del medio.

Esto pudo observarse en repetidos cultivos y en aquellos cuya concentración de indicador fué mayor, alcanzando en ellos un tono bastante subido y fácil de diferenciar.

El Colibacilo forma colonias grandes, redondas o en masas extendidas, de aspecto brillante. Sus bordes pueden ser lisos o ligeramente ondulados.

El bacilo de Koch cultivado en el mismo medio no vira el color inicial.

b) Se tomaron tres cajas de petri con medio Petraghani y se sembraron de la siguiente manera:

Caja N° 1:

Se colocó un penicilindro en el centro de la caja y se llenó de suspensión de cultivo coli en caldo lactosado (1 cc.) cepa A, cuya procedencia está ampliamente descrita en la primera parte de este trabajo. A su alrededor y a una distancia radial no menor de 3 cms. se sembró bacilo tuberculoso de origen humano.

Observaciones.

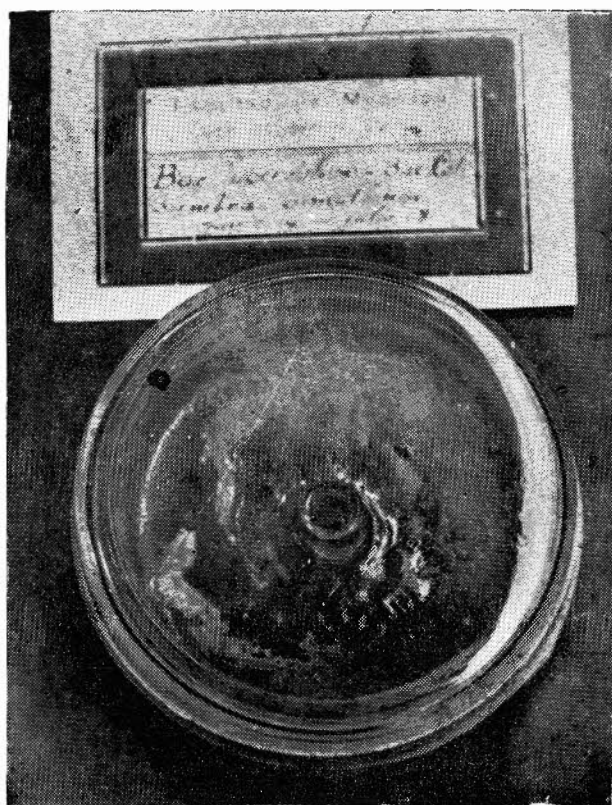
Desde el tercer día de incubación comenzó a formarse una zona de color verde intenso, alrededor del penicilindro, que se extendió sin cubrir todo el medio. El bacilo de Koch comenzó a manifestar su desarrollo desde el décimo día de cultivo y fué progresando lentamente sin hacer virar el color del medio en la zona correspondiente.

Al cabo de un mes pudo apreciarse claramente la extensión de la zona de mayor inteisidad de color; colonias características del colibacilo extendidas en masa y adyacentes al penicilindro. El bacilo de Koch manifestó su crecimiento en una banda circular, amarillenta, que nó penetró la zona hasta donde se extendió el viraje del medio, debido probablemente a una difusión de productos de metabolismo del colibacilo.

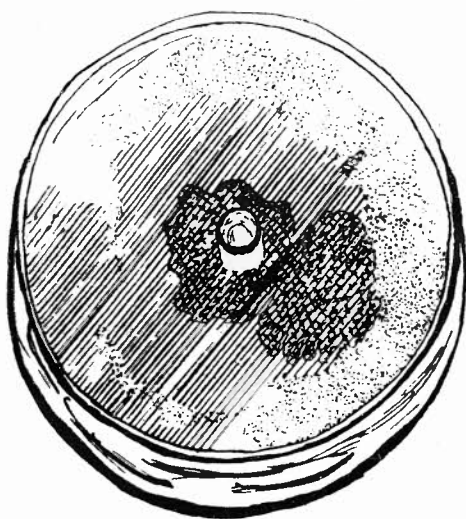
Esto puede apreciarse bien en la fotografía N° 11 y en el esquema adjunto.

Caja N° 2.

Se tomó otro penicilindro y se colocó en el centro de la caja, se llenó de suspensión colibacilar (Cepa A). Se hace notar que en la operación, casualmente se regó sobre el medio una pequeña cantidad del líquido sembrado. No obstante se sembró el bacilo tuberculoso a una distancia prudencial no menor de 3 cms.



Fotografía N° 11.



SIMBOLOS:

- }

Zona amarillo limón
- Colonias de bacilo Celi
- Zona verde intenso.
- Colonias de bacilo Tuberculoso.

Fotografía N° 12.

Observaciones.

Desde el tercer día de incubación el medio viró completamente de color. El bacilo de Koch no manifestó crecimiento aún después de un mes de cultivo.

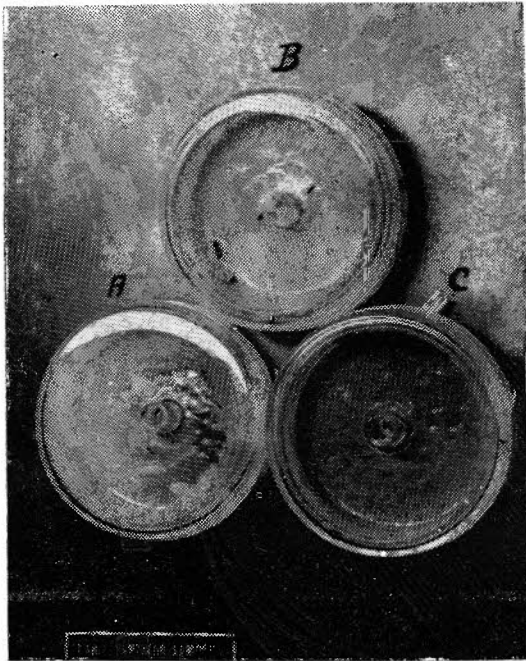
Caja N° 3.

Se repitió la prueba de la caja N° 2 variando únicamente la cepa tuberculosa por bacilo tuberculoso bovino

Observaciones.

Hubo viraje total del color del medio. Después de veinte días de incubación se notó formación de un anillo nítido, delgado y de color verde lechoso, completamente circunscrito al penicilindro. No hubo desarrollo del *Mycobacterium tuberculosis*.

Ver fotografía adjunta.



Fotografía N° 13.

A = Caja N° 1. B = Caja N° 2. C = Caja N° 3.

CONCLUSIONES GENERALES

1. El colibacilo se desarrolla sobre medios de cultivo sólidos y líquidos, específicos para el bacilo de Koch, y en presencia de ácido sulfosalicílico en concentraciones menores de uno por mil (1 por 1.000), exalta un poco su actividad de fermentación.

2. El ácido sulfosalicílico en concentraciones que no hagan variar notoriamente el Ph del medio de cultivo, no impide el crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis*, tipos humano y bovino. (1).

3. El bacilo tuberculoso tipo humano (H37) y el bacilo tuberculoso bovino (HB) cultivados sobre los medios de cultivo Petrof, Petragnani, Lowestein, Caldo glicerinado y Sauton, empleados en este trabajo, desarrollaron sus características peculiares.

4. El bacilo tuberculoso en los tipos humano y bovino, cultivado en presencia del *Escherichia coli* por siembras simultáneas o por pases sucesivos del Colibacilo sobre el Bacilo de Koch, no desarrolla sus caracteres culturales propios en los medios de cultivo empleados.

5. Todas las cepas colibacilares experimentadas: A (*Escherichia coli* comunis); B (*Escherichia coli* comunior); C (*Escherichia acidilactici*); E₃ (*Escherichia coli* intermedium) y F (*Escherichia coli* comunis), son más o menos activas contra el bacilo tuberculoso y se presume que la determinación de la cepa, "1.000" señalada en el trabajo de Von E. Hesse y K. Heinz, se refiere a una de las cepas más virulentas contra el bacilo de Koch.

7. El Colibacilo sembrado en medio Petragnani adicionado de indicador en mínima cantidad (verde de malaquita en concentración final del 1 por 10.000) hace virar el medio de un color amarillo limón hacia un color verde intenso, en una extensión variable.

El bacilo tuberculoso no hace virar el color del medio ni se desarrolla en las zonas hasta donde alcanzan los productos de metabolismo del bacilo coli.

8. Las observaciones anteriores dan lugar a considerar las posibles relaciones entre la flora bacteriana colibacilar y la incidencia y curso de procesos tuberculosos en los pacientes de T. B. C.

También permite especular sobre los riesgos potenciales de una medicación bacteriostática intestinal prolongada en relación con la infección tuberculosa.

Los puntos anteriores son el tema de próximas investigaciones.

(1) NOTA:

En la publicación de J. Lehman sobre "Patogenicidad del Bacilo-Tuberculoso, por determinación de su metabolismo intermedio", consultado con posterioridad a esta investigación, se pudo confirmar la coincidencia con los resultados anotados sobre la inactividad del ácido-sulfosalicílico sobre el bacilo de Koch.

BIBLIOGRAFIA

1. Hesse E. Heinz Jahnke, Karl. — Frühergebnisse einer Colibehandlung der Tuberkulose. — Therapeutische Umschau Nº 9, 139 der 1948.
2. Bergey. — Manual of determinative Bacteriology". 1948.
3. Lehmann Jorgen. — "Determination of Pathogenicity of Tubercle Bacilli by their intermediate metabolism". — "Para aminosalicylie in the treatment of Tuberculosis". The Lancet, Vol. 250 1-15-16. Ene. 1946.
4. Waksman Selman A. — "Microbial antagonisms and antibiotic substances". 1945.
5. Stitt Clough Branham. — "Practical Bacteriology, Hematology and Parasitology". 1948.
6. W. Topley. G. S. Wilson. — "Bacteriología e Inmunidad". 1949.
7. A. Calmette. — "L'infección bacillaire et la Tuberculose chez l'Homme et chez les animaux". 1928. Págs. 37 etc.

Valor Terapéutico de las Inclusiones de Placenta, en el Tratamiento de Algunas Afecciones Oculares.

Por el doctor Carlos G. Archila M.

Los primeros ensayos sobre la terapéutica tisular los efectuó Filatov, Director del Instituto de Odessa, quien con su escuela viene trabajando desde hace varios años, sobre este nuevo tratamiento y actualmente son muchos los Centros Oftalmológicos del mundo que se ocupan de él y que ha alcanzado gran resonancia entre los hombres de ciencia y cada día son más los Oculistas que ensayan, investigan, y tratan de sacar conclusiones prácticas sobre sus ensayos de Oftalmología, tratando de establecer, una verdadera clasificación de las enfermedades en las cuales la terapéutica tisular, tiene una acción favorable, modificando en todo o en parte el cuadro patológico determinando por consiguiente buenas condiciones para que el organo de la visión pueda cumplir su misión.

Entre nosotros el doctor Francisco Arango Jaramillo en su trabajo sobre la terapéutica tisular en Oftalmología, fué el primero que escribió sobre este tema tan importante y lo presentó a la Sociedad de Oftalmología en agosto del año 1949, habiendo sido publicado en el primer número de la Revista de esta Sociedad.

Allí hace él una reseña de los distintos métodos empleados con los injertos de piel y de mucosa, con extractos acuosos de hojas de aloe, con el aceite de hígado de bacalao y finalmente con los extractos de placenta, empleados en dosis crecientes, en solución en suero fisiológico, para lavados oculares.

También enumera muchas de las afecciones que en concepto de Filatov, pueden ser modificadas por la aplicación de estos productos, pero sin que entre nosotros, se hubiera hecho un ensayo ni se hubiera experimentado de una manera precisa. Más tarde el doctor José I. Barraquer dictó en la Facultad de Medicina de Bogotá, una conferencia

hablando detenidamente de la bondad del método, y de los resultados obtenidos por ellos, en los numerosos casos tratados en el Instituto Barraquer de Barcelona. Entre nosotros ha despertado gran entusiasmo este nuevo método terapéutico, y se está trabajando activamente en todos los hospitales, advirtiéndose que es muy laudable esta labor pues es muy difícil obtener la placenta preparada en las condiciones requeridas, para que pueda ser injertada, pues aquí no contamos con Laboratorios que preparen permanentemente el producto y no existía hasta hace poco tiempo, un banco de placenta o de cualquier otro producto tisular con el cual se deseara trabajar. Ultimamente el doctor Arango Jaramillo ha organizado, en el Hospital San José, la preparación de placenta, y de vez en cuando se pueden hacer algunos ensayos. En el Hospital de San Juan de Dios, también he podido conseguir una que otra vez, placenta preparada de un modo distinto, debido a la generosidad del interno doctor Aponte, quien me ha ayudado en mis aplicaciones, efectuadas en la sala de cirugía del Servicio de Organos de los Sentidos.

Como se vé, la placenta se puede preparar de distintos modos según la técnica de cada Laboratorio, pero en todos los casos este producto, debe pertenecer a una persona que reúna las mejores condiciones biológicas posibles, es decir cuyo estado de salud sea completo con reacciones serológicas negativas, y sin antecedentes específicos o tuberculosos de ninguna clase.

Esta placenta después de ser lavada cuidadosamente con suero fisiológico se coloca en porciones no muy grandes, en una caja de Petrí la cual se mete a la nevera, durante ocho días, (en algunos Laboratorios para asegurarse más de la esterilidad del producto se inyectan unas cuantas unidades de penicilina). La permanencia de la placenta en la nevera, determina la formación de estimulinas que tienen propiedades cicatrizantes especiales, y de las cuales hablaremos adelante.

Después de su permanencia en la nevera, se acostumbra a someterla a un calor que en ningún caso debe exceder de 120 grados lo cual se consigue fácilmente en la estufa de Poupinel.

Las estimulinas que se producen durante la permanencia en la nevera, no son ni albúminas ni fermentos, pues soportan la temperatura anotada antes, durante una hora, Filatov llama productos de conservación, o de supervivencia, a las sustancias activas, que aparecen en los tejidos conservados, y dice que estimulan la cicatrización de la parte enferma, determinando un proceso bioquímico, de transformación de los tejidos.

Hace poco principié, en el Hospital San José a hacer injertos de placenta, y al efecto escojí, en el Servicio Médico Escolar, en el cual trabajo desde hace cuatro años unos cuantos enfermitos, que consideraba pudieran ser influenciados por el tratamiento y cuya historia relataré brevemente.

El procedimiento que he empleado en los niños de las escuelas es el siguiente: colocados en serie se les instilaba sendas gotas de cocaína al 5% después se hacía pasar uno a uno a la mesa de cirugía, en donde se procedía a verificar la desinfección de las pestañas, cejas, párpados, etc., por medio del alcohol a 36 grados. Hecho esto se procedía a aislar el campo operatorio con compresas, como si se tratara de cualquier intervención delicada. Un ayudante, por medio de una porción de gasa o con una compresa, invierte el párpado inferior haciendo mirar el enfermo hacia arriba. Con una aguja muy fina de un centímetro y medio de larga a dos centímetros le inyecta dos centímetros cúbicos de novocaína, al 2 por ciento, en el tejido sub-conjuntival, con lo cual se consigue una anestesia perfecta. Hecho esto preparo los instrumentos que voy a emplear, en esta pequeña intervención, y que son los siguientes: tijeras de ramas no muy agudas, de las que acostumbramos en la sección del colgajo conjuntival en la operación de catarata, espátula de iris de hoja bastante ancha, pinza de curación nasal fina, cuyas ramas terminan en una expansión plena ligeramente rugosa, pinzas de garra corneana, cigarrillos de algodón humedecidos en suero fisiológico. El ayudante teniendo el párpado invertido como se dijo anteriormente, lo mantiene en esta posición para poder hacer la maniobra. Tomo la pinza de garritas en la mano izquierda y con ella fijo un pliegue de la conjuntiva palpebral hacia el ángulo externo del párpado, y en este pliegue doy un tijeretazo, que deja una incisión de cuatro o cinco milímetros, entonces introduzco la punta de mi tijera por esta botonera y voy abriendo las dos ramas, de modo de ir desprendiendo la conjuntiva la cual dejará un túnel que impido se cierre, por la pronta introducción de la espátula, que lleve hasta el fondo del túnel, recomendando al ayudante, que la sostenga en este sitio, hasta que se introduzca el injerto; éste previamente seccionado en trocitos en forma de cubos, y de un tamaño que oscila entre cuatro a ocho milímetros lo tomo con la pincita de curación nasal o simplemente con una pinza de conjuntiva sin garras, y lo introduzco en el túnel siguiendo la cara inferior de la espátula, que el ayudante sostiene levantando la pared superior del túnel, en seguida retiro la pinza dejando su carga en el fondo de este túnel, retiro mi espátula y por medio de la tijera o con la espátula misma introduzco los pequeños

fragmentos de placenta que se hayan escapado de la pinza, después enjugo con el cigarrillo de algodón, los coágulos de sangre que puedan quedar en el fondo del saco conjuntival y dejo el ojo sin vendar. Pasados tres días se citan los pacientes para observar el efecto del injerto o las reacciones locales que se hayan producido. Algunas veces se presenta una ligera conjuntivitis y algunas equimosis que se hacen visibles bajo la piel del párpado. Casi nunca se presentan fenómenos inflamatorios.

La operación tal como la he descrito, dura más o menos un cuarto de hora, y se puede considerar como una operación inocua.

El primer caso corresponde al niño Azael Munévar, cuya historia está marcada con el número 10404 del Servicio Médico Escolar. El cuadro clínico de este enfermito es el siguiente: hace tres años o menos empezó a concurrir al Servicio Médico Escolar, con una erupción de la piel, generalizada, y consistente en pequeñas prominencias cutáneas que le producían gran rasquiña y que desesperaban enormemente al niño el cual se rascaba sin cesar, determinando pequeñas hemorragias, que formaban costras sanguinolentas, sobre los levantamientos de la piel. Se le hizo el diagnóstico de un prúrigo; esta erupción se fue extendiendo por último a la cara, en donde debido a infecciones secundarias, se formaron verdaderas costras impetiginosas, que se localizaron en los labios y en el cuello; al mismo tiempo la conjuntiva de ambos ojos se congestionó, se hizo proliferante, y el límite esclerocorneal, desapareció, infiltrándose igualmente la córnea, que presentaba un aspecto blancuzco en su zona periférica, acompañado todo esto de comezón en los ojos, y que hacía que él se frotara insistentemente haciendo con esto que la infección se hiciera más aparente, pues se hizo más visible la infiltración corneana, aumentando al mismo tiempo la fotofobia y en algunas ocasiones produciendo un gran lagrimeo. Se le hizo el diagnóstico de una kerato conjuntivitis primaveral. Se le trató largo tiempo con Gadusán, morruato, pomadas de óxido amarillo, vitaminas, penicilina para combatir la infección secundaria impetiginosa, todo lo cual fué inútil y el muchacho se debilitaba más y más. El día seis de febrero se le hizo la primera inclusión de placenta, comenzando por el ojo derecho, y con gran sorpresa observé que al 3º o 4º día que se le citó a consulta la piel del cuerpo había cambiado de aspecto, los levantamientos se hicieron menos prominentes, y las costras desaparecieron casi por completo, haciéndose la piel lisa y tersa en algunas partes del cuerpo, al mismo tiempo, la conjuntivitis cedió de una manera notable, la córnea se puso más brillante y la visión mejoró un tanto; desgraciadamente no

pude repetir el tratamiento a los ocho días como lo aconseja Filatov, pues no fué posible conseguir placenta preparada, y noté que los síntomas alarmantes del principio, se hicieron nuevamente aparentes, por lo cual procedí a hacerle nuevas inclusiones pero esta vez en ambos ojos; así se le repitieron sistemáticamente cada ocho días y hoy después de seis inclusiones la mejoría ha sido tan admirable que casi puedo decir está curador de su afección cutánea y su afección ocular.

Segundo caso. Marina Rodríguez. Ficha 10948. 10 años de edad. Diagnóstico. Keratitis intersticial, localizada en el ojo derecho, con bastante infiltración de la córnea acompañada de fotofobia y lagrimeo intenso que le impedía abrir los ojos. Se le hizo la primera inclusión el 28 de febrero y se observó a los seis días que los síntomas mejoraban considerablemente, aclarándose la córnea y disminuyendo la fotofobia y el lagrimeo. A los ocho días se repitió la operación, y después de tres inclusiones, la visión fué completamente normal.

Tercer caso. Daniel García. Historia 763. Edad 8 años. En el mes de mayo del año 48 concurrió al consultorio del doctor Arenas Archila quien le hizo el diagnóstico de una retinitis pigmentaria con una visión de cuatro décimos, se le trató con Thioby, vitaminas, etc. dejando dos semanas de descanso entre cada tratamiento, y sin que se hubiera observado después de año y medio alguna mejoría de su visión. En febrero se le hizo la primera inclusión de placenta, primero en un ojo y a los ocho días en el otro, observándose que su visión mejoró en dos décimos, y el niño manifestó que su visión era más nítida y clara.

Cuarto Caso. Antonio Hernández. Ficha 9856. En marzo 26 del año 1949 concurrió al consultorio y después de un examen detenido del fondo del ojo se observaban exudados de color blanco en la vecindad de la pupila, la cual a su vez parecía un poco borrosa en sus bordes, y con una visión de tres décimos en ambos ojos. Se le trató con Thioby, Bimertán, Jarabe de Gilbert, sin que la visión hubiese mejorado manifestamente. El diagnóstico fué de una neuro-retinitis; se le hizo la primera inclusión de placenta en marzo de este año, y después de cinco aplicaciones la visión ha aumentado en tres décimos.

Quinto caso. Blanca Elena Gómez. Ficha 9870. Consultó el 17 de mayo del año 1949. Diagnóstico Keratitis esclerosante. Se le trató igualmente con Thioby, Bimertán y Vitaminas. El 5 de abril de este

año se le hizo la primera inclusión de placenta y se ha venido repitiendo cada ocho días y hoy se observa que la córnea se ha aclarado considerablemente, y la sensación de molestia y el enrojecimiento de la conjuntiva ha cedido de una manera notable.

Sexto caso. Acevedo Luis Epifanio. Historia 10766. Edad 13 años. Diagnóstico. Keratitis marginal esclerosante. Desde noviembre del año 1949 se viene tratando con Thioby, pomadas, vitaminas, etc. En marzo 22 de este año, se le hizo la primera inclusión de placenta, la cual se ha repetido sistemáticamente cada ocho días, observándose una gran mejoría, pues la córnea se ha hecho más transparente, y la visión ha mejorado notablemente.

Séptimo caso. José Cuéllar. Edad 8 años. Ficha 10791. Consultó en noviembre 21 del 48., para una úlcera de la córnea, se le trató con leche Cup, pomada dorada y Vitaminas. En enero 23 de 1950 volvió con una nueva úlcera en el ojo derecho. Se le volvió a tratar con leche y morruato. En febrero de este año, se observó una gran infiltración de la córnea, en el antiguo sitio de la úlcera. Se le hizo el diagnóstico de una kerato-conjuntivitis cicatricial. Se le hizo una inclusión de placenta, y se repitió la maniobra por tres veces, observando una gran mejoría.

Caso octavo. Pedro Gamba. Ficha 10.963. Diagnóstico Kerato-conjuntivitis. Se le trató igual que los anteriores y se observó después de dos inclusiones de placenta que la córnea se hacía más clara y más brillante.

Caso noveno. Ana Mora. Ficha 9463. Edad 10 años. En noviembre del 48 le hice el diagnóstico de nubécula de la córnea. Se le han hecho dos aplicaciones de placenta y la córnea ha aclarado considerablemente.

Caso décimo. Poveda Burbano Francisco. Ficha 8129. Consultó el 31 de octubre del 47, para una epiescleritis. Se le trató con bacalao, vitaminas, etc. En febrero de este año volvió a aparecer la afección y se le hizo una inclusión de placenta observándose una notable mejoría.

Caso undécimo. Manuel Hernández. Joven de unos 18 años, afiliado a los Seguros Sociales. Este enfermo dice haber sufrido en su niñez un fuerte ataque de sarampión o viruela, él no sabe precisar

si fué la una o la otra la que dejó como secuela una opacidad central de la córnea que le impedía ver claramente, hasta que un especialista de la localidad le practicó sendas iridectomías que le mejoraron notablemente su visión; hace más o menos tres meses, con motivo de la penetración de un cuerpo extraño que se incrustó en la opacidad de la córnea, del ojo izquierdo, el Seguro Social, lo envió a mi consulta, y después de la extracción del cuerpo extraño, previa anestesia de la córnea, y teniendo en cuenta, que la visión del enfermo, a pesar de su operación de iridectomía continuaba siendo muy deficiente, resolví previa consulta con el Seguro, hacerle unas inclusiones de placenta, las que se efectuaron con un intervalo de ocho días y observé, con gran sorpresa que la opacificación de la córnea derecha se hacía cada día más tenue, hasta no quedar, si no una ligera nubecita, que le permitía ver con mayor claridad. En la córnea izquierda se observó igualmente una gran clarificación de la córnea pero en menor escala que en la derecha.

Caso duodécimo. Señor Alejandro Torres. Edad 60 años. Natural de Palmira. Vino a mi consulta con una catarata patológica, con reclusión pupilar determinada por un ciclitis, que a su vez, opacificaba la córnea en su parte inferior debido a precipitados en forma de puntos blancos, síntomas característicos de la ciclitis o irido-ciclitis serosa; principié a tratarlo con atropina a alta dosis en inyecciones de Gadusán, pero en vista de que la afección no cedía ni se conseguía dilatar la pupila en ninguna forma para poder operar la catarata, resolví hacerle inclusiones de placenta sub-conjuntivales en el párpado inferior y con gran sorpresa observé que los exudados o puntos blancos de la cara posterior de la córnea se reabsorbían rápidamente y la córnea se hacía más transparente, al mismo tiempo que se dilataba la pupila, en forma de trebol, permitiendo ver nítidamente la catarata; esta dilatación, fué haciéndose más visible con las nuevas inclusiones y en vista del enfriamiento y descongestión del ojo, resolví operarlo, por medio de la micro-ventosa, obteniéndose un gran resultado.

No quiero decir al comentar este último caso, que la placenta hubiera ejercido una acción única, sobre la cesación de los fenómenos inflamatorios y dolorosos del ojo, pero sí se vió claramente que ayudó a la reabsorción de los exudados, y a la dilatación de la pupila con lo cual se pudo operar la catarata.

En el servicio del doctor Gaitán Nieto, en asocio del practicante doctor Aponte, practicamos dos inclusiones de placenta en enfermos

con leucomas centrales de la córnea pero a estos no los seguí de cerca y no pude saber cuál fué el resultado definitivo. ¿

No pretendo en este trabajo establecer una verdadera clasificación sobre las enfermedades, que pueden ser influenciadas positiva y sistemáticamente, por la terapéutica placentaria, pero sí se puede afirmar y está a la vista el resultado benéfico que se observa principalmente, en las keratitis intersticiales, kerato-conjuntivitis y afecciones cicatriciales en general de la córnea, en las otras afecciones principalmente en las neuroretinitis pigmentarias, el resultado no es quizá tan bueno, pero sí se observa mejoría considerable.

Sin embargo algunos autores, como Max Neuenschwander dice que según sus trabajos en la Clínica Oftalmológica del Profesor Amsler de la Universidad de Zurich, obtuvo resultados apreciables en la retinitis pigmentaria.

Saint Martín obtuvo igualmente importantes mejorías en casos de miopías avanzadas; Cottaneo Profesor de la Universidad de Milán, obtuvo resultados apreciables en retinitis pigmentaria, así como Paufigue, Profesor de Oftalmología de Lyon, y otros muchos.

Naturalmente un tratamiento terapéutico moderno y que aún tiene muchos puntos oscuros ha suscitado controversias y polémicas, entre los oculistas de distintos países, y así se encuentran impugnadores que poco creen en la terapéutica tisular, como le sucede a Dan Gordon de New York. Arruga, de Barcelona dice, que no puede hablar sobre la bondad o nó, del procedimiento pues él no ha obtenido muchas ventajas, y que nó creerá en él si no cuando Oftalmólogos de reconocida solvencia científica le demuestren lo contrario. En cambio, Barraquer y su escuela que han experimentado en grande escala, sostiene que es magnífico el procedimiento.

Considero, que los que se dediquen a experimentar, en los servicios hospitalarios, pueden establecer qué diferencia existe en el tratamiento efectuado con la placenta dejada en la nevera durante los ocho días, prescritos por Filatov y las placentas frescas, que reúnan condiciones biológicas, que permitan su inclusión rápidamente, sin pasar por estas fases de preparación. Quizá también con el tiempo se logre aislar, sustancias activas de la placenta, que puedan obrar directamente, sobre las mismas afecciones tratadas.