

Estudios sobre difteria

4ta. Comunicación por los Dres.

A. SORDELLI, H. RUGIERO, A. MANZULLO, J. HERRAN y F. PENNIMPEDE

I

En varias comunicaciones anteriores hemos tratado algunos asuntos de importancia actual en el problema de la difteria, tales como el error diagnóstico, la virulencia de la bacteria de Loeffler, la asociación entre la difteria y la antitoxina, la difteria del lactante y la sueroterapia sin la enfermedad del suero. Constituyen etapas de un estudio sistemático para conocer mejor la patogenia, facilitar el diagnóstico, justificar la profilaxis por medio de la inmunidad antitóxica y para mejorar la terapéutica. Reflejan la preocupación principal de resolver problemas de orden práctico cosa que es propia de las funciones de los Institutos Bacteriológico Carlos G. Malbrán y José Penna (Cátedra de Patología y Clínica de las Enfermedades Infecciosas) donde han sido realizados principalmente dichos estudios.

CUADRO « A »

ERROR DE DIAGNÓSTICO EN ENFERMOS INGRESADOS EN EL HOSPITAL MUÑIZ
1939 - 1941

Diagnósticos de difteria ...	1340	
» correctos	885	
» errados	455	Error por exceso 33,90 %
Diagnósticos de angina común	95	
» correctos	32	
» errados	63	Error por defecto 66,3 %

En forma de resumen, lo anteriormente comunicado se puede exponer de la siguiente manera: El diagnóstico clínico de la difteria realizado en la práctica privada adolece de error por exceso y por defecto, cosa que por otra parte es común a los diagnósticos

practicados en otros países, de modo que no debe ser considerado como crítica a lo que sucede en nuestro país. Sin necesidad de analizar de nuevo las causas de ese error que figuran ya en un trabajo publicado ⁽³⁶⁾ diremos que en el transcurso de un año se ha afianzado nuestra opinión anterior y para prueba basta el examen de la tabla adjunta « A » en la que puede observarse que el error por exceso es aproximadamente de un tercio y que el error por defecto de dos tercios. Naturalmente este último hecho es muy grave, pues importa la omisión del tratamiento específico precoz que es siempre uno de los fundamentos principales del éxito de la sueroterapia.

En otra comunicación ⁽³⁷⁾ hemos expuesto la teoría de la patogenia no tóxica de la difteria del lactante, fundada provisoriamente en un número pequeño de observaciones pero utilizando la documentación copiosa que contiene la literatura. En un tercer estudio ⁽³⁸⁾ hemos demostrado la existencia de una particular acción agresiva específica, demostrada experimentalmente en dos cepas y que puede servir de similitud a lo que ocurre en el hombre. De modo que puede imaginarse a la bacteria de Loeffler poseyendo una capacidad de agresión particular diferente de la toxina y que puede ser paralizada por anticuerpos distintos de la antitoxina. Desgraciadamente este hallazgo no tiene por el momento proyección práctica. En otra memoria ⁽³⁹⁾ hemos confirmado por el estudio de un material constituido por numerosos casos, que la inmunidad antitóxica constituye un elemento fundamental en la inmunidad antidiftérica y que el umbral de 1/30 1/100 de unidad antitóxica tiene un significado práctico importante, pues muy rara vez se observan difterias en los sujetos que contienen más antitoxina que la correspondiente a ese umbral.

Por último ⁽⁴⁰⁾ hemos comprobado en 300 enfermos de difteria la reducción de la enfermedad del suero con el empleo del suero digerido y purificado por coagulación diferencial por el método de Pope. Esta diferencia es tan notable que no creemos ya justificado el empleo de los sueros corrientemente usados.

II

Esta Memoria trata de la comprobación de los trabajos de los autores de Leeds que consisten en el hallazgo de la asociación del tipo de bacteria con la forma clínica y la patología de la difteria.

a) La bacteria de Loeffler aislada de portadores y de enfermos, puede pertenecer a una de dos categorías, según tenga poder patógeno en el animal de prueba o carezca de esa propiedad. En-

	Gravis	Intermedio	Mitis	Atípicos	
				Fermenta almidón	No fermenta almidón
Morfología del desarrollo en agar sangre calentado («chocolate»)	Similar al Hofmann alargado e irregular. Gránulos metaeromáticos poco desarrollados.	Por lo menos el 80 % de formas segmentadas. A menudo formas de clava.	Generalmente largas. Se observan a menudo gránulos metaeromáticos. 5 a 20 % de formas segmentadas.	Variable.	Variable.
Colonia en agar telúrito chocolate 24 horas	Variante (a) colonia rugosa grande, periferia gris y centro negro con estrías radiales. Consistencia de margarina fría. Variante (b) más pequeña, más lisa que la anterior de consistencia más próxima a la manteca.	Colonias finas chatas con una papilla central fina, margen gris y centro negro. Consistencia intermedia entre Gravis y Mitis.	Colonias convexas levantadas con centro negro y periferia semi traslúcida gris. Consistencia de manteca blanda. Predominio de tinte negro en estos cultivos (en los cultivos de Gravis es gris).	Se aproxima al Mitis.	Gravis o aproximado al Gravis.
Colonia en agar chocolate 24 horas	Desarrollo más bien chato, superficie opaca. Tendencia a extenderse como película fina en el borde. Puede desarrollar en colonias finas y mucosas.	Colonias chatas uniformes, finas con vestigios de color verdoso.	Desarrollo traslúcido, liso y moderadamente levantado. Puede crecer en colonias finas y rugosas.	Idem.	Idem.
Desarrollo en caldo	(a) Película y depósito granuloso, permaneciendo el caldo relativamente claro. (b) Película menos visible, depósito granular común y turbidez general.	Turbidez granular fina que tiende a sedimentar dentro de las 48 horas nunca profusa.	Turbidez homogénea, difusa, generalmente profusa, a menudo aparición tardía de una película fina.	Como el Mitis, con depósito granular.	Como el Gravis.
Reacción en caldo	Acidez inicial seguida por una rápida regresión a reacción alcalina.	Muy poco cambio.	Acidez inicial con regresión lenta.	—	—
Actividad hemolítica	Algunas cepas.	Negativo.	Frecuente.	?	?
Fermentación de polisacarios	Positivo.	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Negativo.
Poder patógeno	Constante.	Positivo excepto en algunas pocas cepas.	Frecuente.	Poco.	Irregular.

NOTA. — La variante (a) es la que se describe originalmente en Leeds, y es la forma más común. La variante (b) es la que se describe en la mayoría de las muertes de difteria en Hull en 1933. Se encuentran formas entre estos dos extremos en la mayoría de las series.

tre las que forman el grupo de las patógenas se encuentran los tres tipos de Anderson Happold McLeod y Thomson, Mitis, Gravis e Intermedio; las no patógenas pertenecen prácticamente sólo al tipo Mitis.

La diferenciación en tipos patógenos y no patógenos se resuelve de una manera relativamente sencilla, pues la técnica y los resultados experimentales son simples y claros. Quedan sin embargo planteados los difíciles asuntos de saber si las formas no patógenas pertenecen a la especie *diphtheriae*, como pueden esas bacterias ser agentes de la enfermedad humana y que vínculos guardan con los tipos patógenos, problemas de verdadero interés práctico y no menor teórico.

En cuanto a la agrupación en tipos, como ya lo dijimos, predomina en el actual momento la clasificación de los investigadores de Leeds a la cual no se oponen sino objeciones de poca importancia.

Hammerschmidt (1924) y Parker (1928) pueden ser considerados precursores de la clasificación de Leeds como lo manifiestan Cooper, Happold, McLeod, Woodcock (1936). En cuanto a las descripciones originales de Anderson et al. (1, 2) (1931-1933) que han sido confirmados y extendidos, y sólo levemente modificados tienen expresión cabal en el cuadro que se transcribe a continuación de la memoria de Cooper et al. (3), (1936).

En el año 1932 Menton observa una tendencia a la variación de las formas de las colonias por causas externas y no encuentra la asociación entre la forma clínica y el tipo. Menton y Cooper (4), 1933 reconocen que la capacidad fermentativa puede permitir una diferenciación; las cepas estudiadas por estos autores son de Staffordshire donde la difteria es benigna.

Parish, Whitley y O'Brien, (1932) demuestran que los tres tipos producen la misma toxina y que el tipo Mitis, precisamente es el mejor productor de toxina «in vitro». Además en el examen de 235 casos no encuentran asociación de la forma clínica con el tipo de bacteria suponiendo que el hallazgo de Anderson et al. (1931-1933) sea una característica local de Leeds.

Wright y Rankin (5) (1932) no encuentran en 50 casos la asociación observada en Leeds y que el tipo Gravis no existe en Edimburgo o que la técnica puede haber influido sobre los resultados. Anderson et al. (6) (1933) atribuyen a defectos de la técnica los resultados de Wright y Rankin obtenidos en la fermentación del almidón.

Christison (7) (1933) encuentra una marcada tendencia a la variación «in vitro» de la forma de colonia de manera que cepas Mitis que sufren la variación R puedan ser clasificadas como Gravis. Esta propiedad «in vitro» le hace suponer que igual cosa ocurre

«in vivo», lo cual restaría todo valor a la diferenciación de los tipos si ocurriera con frecuencia. Reconoce sin embargo, que la fermentación del almidón es un carácter estable e independiente del tipo de colonia obtenido por variación. Las cepas de tipo Mitis e Intermedio no fermentan el almidón a pesar de las variaciones morfológicas.

Wright y Christison ⁽⁸⁾ (1935) publican los resultados de sus experiencias sobre 484 casos y portadores y reconocen ya la posibilidad de clasificar en los tres tipos de Leeds el 75 % de las cepas. El resto pertenece a tres nuevos tipos, creados por los autores por asociación diferente de atributos usados en la clasificación de los tres tipos principales, y por un 7,9 % no clasificable. Entre las cepas aisladas de casos de difteria encuentran 36 avirulentos y 298 virulentos; de los portadores aislan 40 avirulentos y 110 virulentos. Parecen encontrar una tendencia a la asociación de las formas benignas con el tipo Mitis y reconocen por el examen de las cifras obtenidas en Leeds, Hull, Manchester, Glasgow y Berlín que parece indudable la asociación de la forma clínica con el tipo.

Wright, Christison y Shearer ⁽⁹⁾ (1936) encuentran con mucha frecuencia el tipo 6 de su clasificación entre los portadores. Stuart ^(9 a) en cepas de Newcastle que fermentan almidón, encuentra dos tipos que se diferencian morfológicamente.

Robinson y Marshall ⁽¹⁰⁾ (1934) reconocen para Manchester la validez de la diferenciación en 542 casos.

Robinson ⁽¹¹⁾ (1934) reconoce la posibilidad de inducir la variación del tipo por cultivo en caldo, pero en las condiciones corrientes de conservación de las cepas los tipos son muy estables. El pasaje por animales no induce variación. La diferenciación es fácil en los lugares donde la enfermedad es grave o predomina un tipo en forma epidémica; el cambio del tipo en un mismo sujeto o el hallazgo de dos tipos deben ser atribuidos a sobre infección o a infección asociada. Robinson y Marshall ⁽¹²⁾ (1935) extienden y confirman sus resultados anteriores.

Carter ⁽¹³⁾ (1933) en la ciudad de Glasgow estudia 510 cepas que puede clasificar en los 3 tipos descritos por los autores de Leeds. Es más frecuente el tipo Intermedio y muy raro el Gravis y reconoce asociación de la gravedad con el tipo Intermedio. Admite que las propiedades de los tipos son características y estables.

Mair ⁽¹⁴⁾ (1936) reconoce en Londres la posibilidad de agrupar las cepas aisladas en 3 tipos que corresponden a los de Anderson et al. Su experiencia basada sobre el estudio de 5.000 cepas le permite distinguir al tipo Gravis por la fermentación del almidón; diferencia los tipos Mitis e Intermedio principalmente por la mor-

fología de la bacteria que es de apariencia estriada en el tipo Intermedio. Las cepas no patógenas pertenecen al tipo Mitis, 12,5 % del total. El autor reconoce la posibilidad de la variación del tipo « in vivo ».

Gundel y Tietz ⁽¹⁵⁾ (1935), reconocen 3 tipos que designan con los números 1, 2 y 3 que corresponden con los tipos hallados en Leeds.

Gundel ⁽¹⁶⁾ (1936), Clauberg, Helmreich y Vierthaler ⁽¹⁷⁾ (1936), Püschel ⁽¹⁸⁾ (1936), Preuner ⁽¹⁹⁾ (1936) y Pesch ⁽²⁰⁾ (1936) Henneberg y Pels Leusden ⁽²¹⁾ (1937), Steigler ⁽²²⁾ (1937) y Schlirf ⁽²³⁾ (1938), en Alemania reconocen la existencia de los 3 tipos de bacterias así como Perry, Whitley y Petran ⁽²⁴⁾ (1936) en Maryland y Gregory ^(24 a) en Australia.

Wright ⁽²⁵⁾ (1937) en Capetown y Welsch y Thibaut ⁽²⁶⁾ (1939) en Bélgica encuentran los tipos Gravis, Mitis e Intermedio pero reconocen la presencia de las bacterias de los tipos de Wright y Christison (1935). Wright ⁽²⁵⁾ (1937) añade un tipo más, el número 7, en un total de apenas 109 cepas provenientes de casos de difteria.

b) Los métodos utilizados para la diferenciación de los tipos han tendido en general a obtener información adecuada a la clasificación de los autores de Leeds y como tales deben ser considerados los trabajos de Glass ⁽²⁷⁾ (1937) que utiliza sangre de oveja citrada al 6 % en agar de Wright con telurito, y los de Gundel y Tietz ⁽¹⁵⁾, Clauberg, Helmreich y Vierthaler ⁽¹⁷⁾, Püschel ⁽¹⁸⁾, Preuner ⁽¹⁹⁾ y Schlirf ⁽²³⁾.

Knox ⁽²⁸⁾ (1937) investiga la acción de los sueros de distintas especies sobre la apariencia de las colonias de los distintos tipos y encuentra diferencias marcadas en la acción de los sueros de caballo, vaca y oveja que dificultan el diagnóstico de los tipos; por el contrario los sueros de conejo y de cobayo no tienen tal efecto.

Steigler ⁽²²⁾ (1937) emplea el extracto de hígado añadido al agar simple para obtener una diferenciación adecuada de los tipos de colonias. Wilson y Goldsworthy ⁽²⁹⁾ (1939) obtienen una diferenciación excelente por medio de la sangre de cobayo o de conejo agregada al agar de Wright.

Todos estos antecedentes prueban de manera inequívoca que donde se haya ensayado la diferenciación de los tipos de *C. diphtheriae* de acuerdo con las directivas de Anderson et al. ha sido posible encontrar que la mayor parte de los microbios aislados de lesiones diftéricas pertenecen a los 3 tipos Gravis, Mitis e Intermedio.

Parece también indudable que existe una proporción diferente de bacterias atípicas que no pertenecen a ninguno de los 3 tipos. Esta dificultad ha sido obviada por la adición de 3 ó 4 tipos más que

contienen las bacterias con atributos distintos de los pertenecientes a los tipos Gravis, Mitis e Intermedio. Es evidente por otra parte, que la dificultad de clasificar en los tipos ya clásicos, depende de la situación local, de modo que puede sólo juzgarse de la aplicabilidad del método una vez que se ha realizado el estudio de las cepas aisladas en cada sitio. Hay que tener en cuenta también que siendo la base principal de la diferenciación la morfología de la colonia puede suceder que pequeñas diferencias producidas por la constitución del medio de cultivo preparado en cada lugar pueden determinar variaciones de la apariencia morfológica; por otra parte es natural que haya dificultad de identificar las formas observadas con las descritas, pues en todas las cuestiones morfológicas existe el factor de apreciación personal que es muy difícil de eliminar.

III

Desde el año 1939 se practica en el Instituto Bacteriológico la clasificación de todas las cepas de *C. diphtheriae* que se aíslan tanto si provienen de portadores como de casos de difteria. La técnica que se sigue es la siguiente: El primer cultivo con objeto de diagnóstico se hace sobre el mismo hisopo en medio líquido o sólido por la técnica descrita por Manzullo. Con todos ellos, hayan o no revelado la presencia de *C. diphtheriae*, se hacen siembras en placas sobre el medio de Horgan y Marshall y a las 24 horas se aísla de una colonia, material que se siembra en *agar simple* y *caldo simple* de pH 7,8 con peptona Parke Davis al 2%. La siembra en este caldo sirve ya para reconocer características diferenciales, a saber:

Gravis: Película gruesa con depósito granular; por la agitación cae la película en trozos.

Mitis: Enturbamiento uniforme; algunas veces en el cultivo de más de 48 horas se observa un anillo en la pared del tubo.

Intermedio: Cultivo granuloso que deposita fácilmente y deja pequeña turbidez en el medio. Pocas veces se forma una película tenue; por agitación la película se desmenuza en gránulos que caen al fondo.

Del cultivo desarrollado en *agar simple* se toma nuevamente una colonia que se siembra en los medios de McLeod⁽¹⁾ (1931) y de Wilson y Goldsworthy⁽²⁹⁾ (1939). En estos medios el examen de las colonias se practica a las 24, a las 48 horas y más, para distinguir por la forma de cultivo lo que todavía consideramos característica

principal de los tipos. En forma resumida la siguiente descripción define lo que se considera representativo de cada uno de los tipos en el Centro de Diagnóstico Bacteriológico de la Difteria.

Gravis: En el medio de McLeod a las 24 horas colonia de uno y medio a dos milímetros que a las 48 horas se hacen de 3 mm. o más. Colonia chata de bordes ondulados; radiada, umbilicada, de superficie rugosa, opaca y de consistencia seca, color negruzco, adherentes al medio de cultivo. En el medio de Wilson y Goldsworthy, las colonias son a las 24 horas de 2 a 2,5 mm. y a las 48 horas de más de 3 mm. y más altas que en el medio de McLeod. Bordes y superficie semejantes a los observados en este medio. La superficie es más brillante y la consistencia menos seca y la adherencia al medio mucho menor; el color es blanco grisáceo. No hay hemólisis.

Mitis: En el medio de McLeod: colonias que a las 24 horas son de 1,5 mm. y a las 48 horas llegan a 2 mm. y difícilmente sobrepasan esta medida. Colonia convexa, de borde entero, de superficie lisa y brillante. Consistencia de manteca y de color negro. En medio de Wilson aparecen colonias de 1,5 mm. en 24 horas que se hacen más grandes a las 48 horas, alcanzando hasta 2,5 mm. Color débilmente amarillo. La consistencia es de manteca y algo mucosa. Las demás características son las observadas en el medio de McLeod. En general hay hemólisis.

Intermedio: A las 24 horas colonias muy pequeñas de 0,30 a 0,40 milímetros de diámetro. A las 48 horas pasan a 0,50 y después de 5 ó 6 días pueden llegar hasta 1,5 mm.; colonia esférica, tendencia a cónica, esbozo de radiación, superficie poco rugosa, bordes ligeramente irregulares, algo brillante, color negruzco, consistencia de manteca. Medio de Wilson: A las 24 horas colonias de 0,5 mm. llegando a 0,75 mm. a las 48 horas. No se observa hemólisis. Los demás caracteres semejantes a los observados en el medio de McLeod.

Del mismo agar simple que sirvió para la siembra en medio líquido y en los medios de McLeod y Wilson, se toma material para la prueba de virulencia por el método de Eagleton y Baxter y para el ensayo de fermentación por siembra en los medios de Thiel y de Hiss con almidón y otros hidratos de carbono; como indicador se emplea tinte de tornasol. La fermentación del almidón se observa hasta los 5 días; después de este tiempo se las considera negativas. Los tipos *Mitis* o *Intermedio* no fermentan el almidón. El tipo *Gravis* lo fermenta. Los resultados obtenidos por este conjunto de observaciones son satisfactorios por la congruencia de los

resultados con las observaciones de los autores de Leeds, por su constancia y por no haber observado variación digna de importancia al repetir las pruebas. El número de cepas atípicas es pequeño, pues en un total de 778 cultivos aislados de enfermos, 2112 de portadores, las cepas atípicas alcanzan a 68 (« B ») de las cuales 33 fermentan almidón y tienen morfología de Mitis. Debemos hacer presente que al clasificar estas cepas hemos hecho prevalecer por el momento la morfología a la fermentación del almidón y así aparece en esta comunicación. No pretendemos que esta decisión sea la más conveniente, más bien por lo contrario entendemos que si se debiera clasificar en algún grupo ese tipo de bacterias debiera serlo en el Gravis.

CUADRO « B »

	Portadores	Difteria	Anginas no diftéricas	Total	% (*)	Virulencia (Bs. Aires)	Virulencia (Europa)
Mitis	1657	461	180	2298	79.5	100 %	86 %
Gravis	44	112	16	172	5.9	100 %	100 %
Intermedio ...	123	195	34	352	12.2	100 %	90 %
Mitis fermenta- dores de almi- don (atípico).	16(*)	10(*)	9(*)	35	1.2	100 %	} ± 50 %
Otros atípicos.	33(**)			33	1.1	100 %	

(*) Incluidos como Mitis en este trabajo.

(**) En su mayor parte proviene de material nasal.

Un hecho muy importante y que está en contradicción con toda la literatura Europea y Americana es que sólo han sido aisladas hasta este momento cepas con poder patógeno para el cobayo que es neutralizable por el suero antitóxico. La única excepción ya fué mencionada en un trabajo anterior; trátase de un solo caso de una afección pulmonar.

La distribución de los tipos revela una diferencia muy grande con la encontrada en la mayor parte de las investigaciones realizadas en Europa (1931-1939), donde la frecuencia del tipo Mitis es casi sin excepción mucho menor que en Buenos Aires (1939-1941). Como la frecuencia de cada tipo puede ser muy variable para cada localidad y diferente para distintas localidades en el mismo momento, sólo puede por ahora considerarse la distribución de los tipos, como un hecho de significado local y actual, pues falta conocer la epidemiología de cada tipo en cada región (3).

Precisamente nuestra experiencia que tiene sólo 2 años y medio nos demuestra ya que hay una variación de la frecuencia relativa de los tipos en Buenos Aires. En el Cuadro « C » se ve una reducción de *Gravis* y un aumento de *Intermedio* y una pequeña reducción del número de *Mitis*.

CUADRO « C »

VARIACIÓN DE LA FRECUENCIA DE LOS TIPOS MITIS, GRAVIS E INTERMEDIO EN EL TOTAL DE « CASOS » + « TRATADOS » PARA LOS PERÍODOS 1939-40-41

Tipo	1939-1940		1941	
	Casos	%	Casos	%
Mitis	336	65,3	141	54
Gravis	85	16,5	17	6,5
Intermedio	93	18,1	102	39

IV

Al terminar el año 1930 los médicos del Hospital de Infecciosos de Leeds comprobaron un aumento inusitado de la gravedad de la difteria, hecho observado ya en el año 1927 en Alemania y otras naciones de Europa (Deicher y Agulnik 1927, Feierabend y Schubert (1929, etc) que fué inmediatamente asociado con los diferentes tipos de cultivo aislados. De allí nació la idea de asociar la gravedad de la difteria con los tipos designados como *Gravis* y *Mitis*, los primeros, agentes de difterias más graves y los últimos de difterias más benignas. Desde entonces la evidencia de que existe la asociación ha sido afianzada en un número muy grande de observaciones. Aparte de las comunicaciones de Anderson et al. (1, 2) (1931-33), debemos mencionar las de Robinson y Marshall (10) (1934) (12) (1935) que en Manchester en 113 casos de *Mitis* no tienen ninguna muerte mientras en 518 *Gravis* encuentran el 12,7 %. Los mismos autores refieren que entre los casos ocurridos en sujetos Schick negativos la enfermedad era producida solamente por tipos *Gravis* e *Intermedio* (*).

Gundel (16) (1936) en más de 800 casos de difteria encuentra que el *Mitis* no es causa de muerte. Pesch (20) (1936) en la ciudad de Colonia confirma la asociación. Mair (14) (1936) encuentra la asociación de las formas graves con el tipo *Gravis* en Londres.

(*) Ver también UNDERWOOD Y GLASS, 1935, *The Lancet*, 288.

Kemkes y Steigler (³⁰) (1937) en Frankfurt en 534 casos encuentran asociación. Henneberg y Pels Leusden (²¹) (1937) en Kiel en 266 casos observan que las formas más graves se presentan en los enfermos por Intermedio y por Gravis y Gregory (^{24 a}) (1937) confirma la asociación en términos generales para los enfermos de difteria en Victoria, Australia.

Por el contrario otros investigadores no han podido demostrar que exista la asociación entre el tipo Gravis y las formas malignas, y el tipo Mitis y las formas benignas. Entre los autores que no encuentran la asociación debemos mencionar a Menton 1932, a Parish, Whitley y O'Brien (1932); Wright y Rankin (⁵) (1932) en Edimburgo, en muy pocos casos estudiados no encuentran asociación y tampoco Wright y Christison (⁸) en un mayor número de enfermos (1935) en la misma ciudad de Edimburgo. Perry, Whitley y Petran (²⁴) (1936) en Maryland no encuentran diferencia apreciable de la gravedad de la difteria producida por los tres tipos de bacterias.

Hilgers y Thoenes (³¹) (1936) en Magdeburgo no encuentran asociación, pues el Mitis produce formas graves y muerte y hay casos benignos producidos por Gravis. Otto y Mittag (³²) en Halie 1937, hacen hallazgo análogo al de Hilgers y Thoenes. Rangel Pestana, do Amaral y Pereira Barretto Neto (^{32 a}) (1939) encuentran en San Pablo asociación entre el tipo Mitis y los casos malignos, y del tipo Gravis con los benignos. El tipo más frecuente es el Intermedio; el menos frecuente el Gravis.

J. Wright (²⁵) (1937) en 96 casos estudiados en Capetown no encuentra tampoco asociación y lo mismo puede decirse de los hallazgos de Paschlau (³³) en 1937. Más recientemente, Shone, Tucker, Glass y Wright (³⁴) (1939) en un número muy grande de casos estudiados en Liverpool (2855) encuentran una manifiesta asociación entre la gravedad y el tipo Intermedio y el Gravis y una relativa benignidad en los tipos Mitis; las diferencias analizadas por el método estadístico le asignan significación. En el mismo trabajo los autores estudian la significación de las diferencias entre letalidad de los distintos tipos en nueve ciudades siendo evidente que el tipo Gravis es más patógeno que el tipo Mitis en cuatro ciudades mientras no da diferencias significativas en dos ciudades. Entre el tipo Intermedio y el Mitis la diferencia es significativa en dos casos y no lo es en siete y para los tipo Gravis e Intermedio la diferencia es significativa en dos casos y no lo es en siete.

En la suma de todos los casos analizados, que alcanzan aproximadamente a diez mil, las diferencias entre la letalidad de Gravis y Mitis es significativa y lo mismo es la que se observa entre Interme-

dio y Mitis; por el contrario no lo es para las diferencias observadas entre Gravis e Intermedio. Análogos son los resultados obtenidos antes por Cooper, Happold, McLeod y Woodcock (³) (1936) en el análisis de 6.000 casos de difteria ocurridos en Inglaterra y en Alemania durante los años 31-36. En la difteria por Gravis la letalidad es del 13,3 %; en la difteria por Intermedio es del 8,6 % y en la difteria por Mitis es de sólo 2,3 %. Es necesario sin embargo, considerar que a pesar de que la asociación entre las formas graves y las cepas Intermedio y Gravis está probada y que las formas Mitis producen difterias benignas, se observan en todas partes difterias benignas producidas por las cepas Gravis e Intermedio y difterias graves y malignas por la cepa Mitis y que no es posible hacer el diagnóstico del tipo por la forma y evolución clínica. Además de la asociación con la letalidad y la malignidad de la difteria McLeod, Orr y Woodcock (³⁵) (1939) encuentran una diferencia anatómica en las lesiones producidas por el tipo Gravis, comparados con la que se ven determinadas por los otros gérmenes, que consiste en una menor extensión de las membranas y menor tendencia a invadir el árbol respiratorio y una mayor penetración en los tejidos atacados que pueden conducir a la sustitución de la amígdala por un exudado hemorrágico fibrino purulento; el tipo Mitis produce de preferencia las difterias obstructivas por invasión del árbol respiratorio.

Nuestros estudios fueron realizados sobre tres grupos de enfermos ingresados al Hospital Muñiz según fueran internados: a) con diagnóstico correcto de difteria y tratados, b) de difterias sin tratamiento y c) de anginas no diftéricas. El total de procesos diftéricos es de 857 de los cuales 778 son anginas y el resto de otras formas; el número de anginas no diftéricas con bacterias de Loeffler en la lesión o en las fosas nasales es de 228.

Los procesos diftéricos pertenecen a dos categorías: 1º) la de los enfermos que entran sin tratamiento, 2º) la de los que son tratados previamente por un médico privado y luego enviados al hospital por causas muy diferentes. A pesar de que no tengamos ninguna prueba de la causa principal que haga internar a los enfermos después de haber iniciado su tratamiento en el domicilio, no debe desecharse la idea de que una causa principal puede ser el agravamiento de los enfermos o la lentitud de su mejoría, es decir, que puede muy bien este grupo de enfermos estar constituido por una proporción de casos más graves que el correspondiente al término medio de la ciudad. Además puede muy bien haberse deformado la constitución del grupo por la diferente evolución clínica de los casos producidos por los diferentes tipos, de modo que hemos conside-

rado conveniente separar para nuestro estudio los dos grupos. En los cuadros siguientes están expuestas las cifras del número de casos que ingresan al hospital sin tratamiento de suero (designados « casos ») el de los enfermos que ingresan tratados con suero (designados « tratados ») y la suma de los « casos » y « tratados ». (D. E. F.).

CUADRO « D »

FRECUENCIA DE LOS TIPOS MITIS, GRAVIS E INTERMEDIO, FORMA CLÍNICA.
MORTALIDAD, LETALIDAD EN « CASOS » (1939-1941)

	(*) Menores (121)				Mayores (57)			
	Mal.	S. M.	C. G.	C. L.	Mal.	S. M.	C. G.	C. L.
Mitis	2	11	42	11	5	11	12	6
%	3,0	16,6	63,6	16,6	14,7	32,3	35,2	17,6
Gravis	1	6	4	0	0	2	1	0
%	9,0	54,5	36,4	0	0	66,6	33,3	0
Intermedio	5	11	18	10	2	10	7	1
%	11,4	25,0	40,9	22,7	10	50	35	5
Total	6,6	23,1	52,9	17,3	12,2	40,3	35,0	12,2
Muertes	5	2	1	0	2	0	0	0
Letalidad %	62,5	7,1	1,6	0	28	0	0	0

MORTALIDAD Y LETALIDAD PARA CADA TIPO EN « CASOS » (1939-1941)

	Menores			Mayores		
	Casos	Muertes	Letalidad %	Casos	Muertes	Letalidad %
Mitis	66	3	4,5	34	2	5,8
Gravis	11	1	9,09	3	0	0
Intermedio	44	4	9,09	20	0	0

Para que el examen resulte más adecuado hemos clasificado a cada uno de ellos en dos grupos, el de los menores de 15 años que incluye todos los niños hasta la edad escolar y el de los mayores de 15 años. El análisis de las cifras está hecho en los cuadros siguientes: « G », « H », « I », por comparación de la diferente gravedad para los pares Mitis-Gravis, Mitis-Intermedio y Gravis-Intermedio. Se ha elegido la suma de los casos de difteria común grave y común leve por una parte y maligna y submaligna que tienen una letalidad grande mientras no la tienen las formas común grave y común leve. Esta diferencia es todavía más marcada en los mayores que no tienen casos de muerte en las formas submalignas (« casos ») o tienen sólo el 2,8 % en los « tratados ».

(*) Mal. = Maligna. S. M. = Sub-maligna. C. G. = Común grave. C. L. = Común leve.

CUADRO « E »

FRECUENCIA DE LOS TIPOS MITIS, GRAVIS E INTERMEDIO, FORMA CLÍNICA.
MORTALIDAD, LETALIDAD EN « TRATADOS » (1939-1941)

	Menores (407)				Mayores (193)			
	Mal.	S. M.	C. G.	C. L.	Mal.	S. M.	C. G.	C. L.
Mitis	31	65	101	51	17	46	37	23
%	12,5	26,2	40,7	20,5	13,8	37,4	30,1	18,6
Gravis	16	19	19	5	4	18	12	5
%	27,1	32,2	32,2	8,5	10,2	46,1	30,7	12,8
Intermedio	16	27	38	19	6	7	10	8
%	16	27	38	19	19,3	22,5	32,2	25,8
Total	15,4	27,2	38,8	18,4	13,9	36,8	30,5	18,6
Muertes	28	12	3	0	4	2	0	0
Letalidad %	44	10,9	1,9	0	14,8	2,8	0	0

MORTALIDAD Y LETALIDAD PARA CADA TIPO EN « TRATADOS » (1939-1941)

	Menores			Mayores		
	Casos	Muertes	Letalidad %	Casos	Muertes	Letalidad %
Mitis	248	25	10,1	123	2	1,6
Gravis	59	9	15,2	39	1	2,5
Intermedio ...	100	9	9,0	31	3	9,6

CUADRO « F »

FRECUENCIA DE LOS TIPOS MITIS, GRAVIS E INTERMEDIO, FORMA CLÍNICA.
MORTALIDAD, LETALIDAD EN « CASOS » + « TRATADOS » (1939-1941)

	Menores (528)					Mayores (250)				
	Mal.	S. M.	C. G.	C. L.	Muertes	Mal.	S. M.	C. G.	C. L.	Muertes
Mitis	33	76	143	62	28	22	57	49	29	4
%	10,5	24,2	45,5	19,7		14	36,3	31,2	18,5	
Gravis	17	25	23	5	10	4	20	13	5	1
%	24,2	35,7	32,8	7,14		9,5	47,6	30,9	11,9	
Intermedio ...	21	38	56	29	13	8	17	17	9	3
%	14,6	26,4	38,8	20,1		15,7	33,3	33,3	17,6	
Total %	13,4	26,3	43,0	18,2		13,6	37,6	31,6	17,2	
Muertes	33	14	4	0		6	2	0	0	
Letalidad %	46,4	10,0	1,8	0		17,6	2,1	0	0	

MORTALIDAD Y LETALIDAD PARA CADA TIPO EN « CASOS » + « TRATADOS »
(1939-1941)

	Menores			Mayores		
	Casos	Muertes	Letalidad %	Casos	Muertes	Letalidad %
Mitis	314	28	8,8	157	4	2,5
Gravis	70	10	14,3	42	1	2,3
Intermedio	144	13	9,9	51	3	5,8

CUADRO « G »

ASOCIACIÓN DE LA FORMA CLÍNICA CON EL TIPO DE BACTERIA EN LOS PARES
MITIS GRAVIS, MITIS INTERMEDIO, GRAVIS INTERMEDIO
(Casos 1939-1941)

	MENORES			MAYORES		
	C.G.+C.L.	M.+S.M.		C.G.+C.L.	M.+S.M.	
Mitis.....	53	13	$\chi^2 = 9,5$	18	16	$\chi^2 = 0,41$
Gravis....	4	7	$P = 0,002$	1	2	$P = 0,50$
Mitis.....	53	13	$\chi^2 = 3,7$	18	16	$\chi^2 = 1,18$
Intermedio	28	16	$P = 0,05$	8	12	$P = 0,27$
Gravis....	4	7	$\chi^2 = 4,1$	1	2	$\chi^2 = 0,04$
Intermedio	28	16	$P = 0,04$	8	12	$P = 0,48$

LETALIDAD Y TIPO DE BACTERIA
(Menores de « Casos » 1939-1941)

	Viven	Mueren	
Mitis	63	3	$\chi^2 = 0,39$
Gravis	10	1	$P = 0,52$
Mitis	63	3	$\chi^2 = 0,91$
Intermedio	40	4	$P = 0,34$
Gravis	10	1	$\chi^2 = 0$
Intermedio	40	4	$P = 1$

CUADRO « H »

ASOCIACIÓN DE LA FORMA CLÍNICA CON EL TIPO DE BACTERIA EN LOS PARES
MITIS GRAVIS, MITIS INTERMEDIO, GRAVIS INTERMEDIO
(Tratados 1939-1941)

	MENORES			MAYORES		
	C.G.+C.L.	M.+S.M.		C.G.+C.L.	M.+S.M.	
Mitis.....	152	96	$\chi^2 = 8,2$	60	63	$\chi^2 = 0,15$
Gravis....	24	35	$P = 0,004$	17	22	$P = 0,69$
Mitis.....	152	96	$\chi^2 = 0,6$	60	63	$\chi^2 = 0,9$
Intermedio	57	43	$P = 0,43$	18	13	$P = 0,34$
Gravis....	24	35	$\chi^2 = 3,6$	17	22	$\chi^2 = 1,3$
Intermedio	57	43	$P = 0,05$	18	13	$P = 0,25$

LETALIDAD Y TIPO DE BACTERIA
(Menores de « Tratados » 1939-1941)

	Viven	Mueren	
Mitis	223	25	$\chi^2 = 1,3$
Gravis	50	9	$P = 0,25$
Mitis	223	25	$\chi^2 = 0,09$
Intermedio	91	9	$P = 0,76$
Gravis	50	9	$\chi^2 = 1,4$
Intermedio	91	9	$P = 0,23$

CUADRO « I »

ASOCIACIÓN DE LA FORMA CLÍNICA CON EL TIPO DE BACTERIA EN LOS PARES
MITIS GRAVIS, MITIS INTERMEDIO, GRAVIS INTERMEDIO
(Casos + tratados 1939-1941)

MENORES			MAYORES			
	C.G.+C.L.	M.+S.M.		C.G.+C.L.	M.+S.M.	
Mitis.....	205	109	$\chi^2 = 15,3$	78	79	$\chi^2 = 6,1$
Gravis....	28	42	$P = 0,0001$	18	24	$P = 0,013$
Intermedio	85	59	$\chi^2 = 1,6$	78	79	$\chi^2 = 0,23$
Intermedio	85	59	$P = 0,20$	26	25	$P = 0,63$
Mitis.....	205	109	$\chi^2 = 6,1$	18	24	$\chi^2 = 0,61$
Gravis....	28	42	$P = 0,013$	26	25	$P = 0,43$

LETALIDAD Y TIPO DE BACTERIA
(Menores de « Casos » + « Tratados » 1939-1941)

	Viven	Mueren	
Mitis	286	28	$\chi^2 = 1,8$
Gravis	60	10	$P = 0,17$
Mitis	286	28	$\chi^2 = 0,001$
Intermedio	131	13	$P = 0,90$
Gravis	60	10	$\chi^2 = 0,13$
Intermedio	131	13	$P = 0,71$

Entre los tipos Mitis y Gravis aparece una diferencia marcada de proporción de casos malignos y de casos leves tanto en el grupo de los « casos » como en el de los « tratados » y en ambos tiene significado, desde que el valor de P es de 1/500 para los primeros (« G ») y 1/250 en los segundos (« H »); valores que exceden de mucho el umbral de asociación. En la suma de los « casos » más los « tratados » (« I ») el valor de P alcanza a ser inferior a 1/10.000, de modo que existe sin lugar a duda asociación entre malignidad y el tipo Gravis y benignidad y tipo Mitis.

La misma comparación hecha en adultos no alcanza significado de modo que pueden considerarse por el momento de igual capacidad de agresión a los tipos Gravis y Mitis cuando se trata de adultos. En lo que respecta a los otros dos pares de comparación Mitis-Intermedio y Gravis-Intermedio, en ningún caso se ha obtenido una cifra para el valor de P que le asigne importancia al tipo de bacteria para determinar una mayor gravedad de la enfermedad. Parecería más

bien que el tipo Mitis y el tipo Intermedio tienen una virulencia semejante a pesar de que hay una cierta tendencia a parecer más grave la difteria producida por el tipo Intermedio que por el tipo Mitis. («D», «E», «F»).

En cuanto a la letalidad puede verse que las cifras más bajas se obtienen en los «casos», y que el mínimo se observa para el tipo Mitis y el máximo para el Gravis en los «tratados». El análisis de la significación de la diferencia de la letalidad según el tipo no permite encontrar ninguna asociación ni en los «casos» ni en los «tratados» ni en la suma de ambos.

Si se reflexiona que las formas malignas y submalignas tienen mayor letalidad y que el tipo Gravis tiene una mayor capacidad de producir formas malignas que el tipo Mitis (68 % contra 34 %) la conclusión lógica es que las difterias producidas por el tipo Gravis deben tener una mayor letalidad que las producidas por el tipo Mitis. En efecto, así sucede, pues en los «casos» la letalidad es del 4,5 % y 9,09 %, respectivamente, y en los «tratados» del 10,1 % y 15,2 % y en la suma del 8,8 % y 14,3 % de modo que las cifras satisfacen la exigencia lógica, pero como el número de sucesos es muy pequeño, las diferencias pueden ser debidas al azar. Para el análisis de este caso sin embargo, no nos consideramos capacitados y sólo podemos decir lo expresado más arriba, esto es que la diferencia de letalidad no es significativa, pero añadiremos que tenemos la certeza de que la difteria por Gravis siendo más maligna debe ser más letal que la producida por Mitis y que la certeza se obtendrá prosiguiendo las observaciones.

La asociación entre malignidad y el tipo Gravis deducida de nuestros datos no es sin embargo el hecho más importante por su significado práctico, si se lo compara con la elevada capacidad patógena del tipo Mitis y la gran frecuencia de la difteria producida por este tipo. Esta nos parece la característica principal que debe distinguir a la difteria que hemos estudiado y seguramente constituye la mayor diferencia que se observa con las cifras comunicadas de otras partes del mundo.

El cuadro siguiente, («J»), contiene la diferente frecuencia de los distintos tipos y su letalidad en varias ciudades de Inglaterra, en Berlín y en la ciudad de Buenos Aires y es evidente que en la mayor parte de los casos la letalidad determinada por el tipo Mitis es relativamente baja, pues va del 0 % en Berlín al 3,6 % en Edimburgo. En cuanto a las cifras de letalidad por Gravis, Buenos Aires ocupa un lugar no muy alejado del observado en Leeds, en Manchester, y en Berlín y es superior al de las

CUADRO « J »

FRECUENCIA DE LOS TIPOS MITIS GRAVIS E INTERMEDIO Y LETALIDAD
EN VARIAS CIUDADES

Localidad	Año	Mitis %	Gravis %	Intermedio %	Total	Letalidad		I.
						M.	G.	
Bs. Aires ...	39-41	61,6	13,1	25,2	7,7	6,7	10,7	8,2
Berlín	34-35	8,8	81,3	9,9	11,6	0	13	9
Manchester .	33-34	21,4	43,2	35,4	11,1	1,1	14,9	12,7
Leeds	31-35	12,8	76,7	11,5	5,5	1,7	11,1	3,7
Edimburgo .	32-35	34,0	2,8	63,2	4,8	3,6	0	5,8
Liverpool ..	36-37	37,5	35,6	26,9	6,1	2,4	6,6	10,7
Stafford ...	32-35	76,5	8,9	14,5	2,2	1,4	5,5	4,2

otras cuatro ciudades del cuadro. Igual lugar ocupa también la letalidad por el tipo Intermedio que está sólo después de la de otras 3 ciudades. Si se debiera juzgar de la difteria de la ciudad de Buenos Aires por lo que ocurre en el Hospital Muñiz en comparación con otros lugares del mundo, debiéramos decir que la gravedad de la difteria es grande a pesar de la frecuencia de infección por el tipo Mitis que es mucho mayor que en todas las ciudades de letalidad elevada y apenas inferior a la frecuencia de la ciudad de Stafford (76,5 %) donde la letalidad alcanza apenas al 2,2 %. Podría decirse que a pesar de la elevada letalidad del tipo Mitis en Buenos Aires su sustitución por el tipo Gravis entrañaría un aumento considerable de la letalidad en la difteria, sobre todo si se conservara la letalidad actual por el Mitis.

A los efectos solamente de información hemos dispuesto en la tabla « K » la proporción de los portadores de difteria en las anginas no diftéricas y en sujetos sanos. Si consideramos la proporción de portadores faríngeos en sujetos con angina no diftérica se observa una pequeña diferencia en la distribución de los tipos con un pequeño predominio de Mitis en los portadores de Gravis y de Intermedio en los casos de difteria. Diferencia que está todavía más exagerada si se considera la distribución de los portadores sanos faríngeos.

Por último figuran en la tabla « L » los datos de las formas extrafaríngeas de la difteria que incluyen 27 casos de crup comprendidos en el total constituido por otras localizaciones nasales y naso-faríngeas. Es evidente un predominio mayor aún del tipo Mitis entre las bac-

CUADRO « K »

FRECUENCIA COMPARADA DE LOS TIPOS MITIS GRAVIS E INTERMEDIO EN ANGINAS
NO DIFTÉRICAS, ANGINAS DIFTÉRICAS Y PORTADORES SANOS
(1939-1941)

	Anginas no diftéricas				Casos tratados	Portadores sanos	
	F.	% (*)	N.	%		F.	N.
Menores:							
Mitis	42	68,8	29	96,6	59,4	72,3	95,50
Gravis	6	9,8	0	0	13,2	8,8	0,43
Intermedio	13	21,3	1	3,3	27,3	18,8	4,0
Mayores:							
Mitis	57	68,6	52	92,8	62,8	85,0	89,8
Gravis	8	9,6	2	3,5	16,8	2,9	4,2
Intermedio	18	21,6	2	3,5	20,4	14,2	6,0

(F. = faringe; N. = Fosas nasales).

CUADRO « L »

DIFTERIA EXTRAFARÍNGEA

	Total	Crup	%	Muertes	Letalidad
Menores:					
Mitis	57	(21)	79,0	8	14 %
Gravis	6	(1)	8,3	0	0
Intermedio	9	(5)	12,5	1	11,1
Mayores:					
Mitis	5	—	71,4	0	0
Gravis	0	—	0	0	0
Intermedio	2	—	28,5	0	0

terias aisladas y que en cierto modo se aproxima a la distribución de los tipos entre los portadores nasales de anginas no diftéricas y también de los portadores nasales sanos. Su pequeño número no nos induce a considerar si la diferencia de distribución de las bacterias de estas formas es significativa cuando se la compara con las formas faríngeas de la difteria.

CONCLUSIONES

1) Del examen de 2112 cepas aisladas de portadores y de 778 de casos de difteria faríngea se ha podido identificar el 79,5 % perteneciente al tipo Mitis, el 5,9 % al Gravis y el 12,2 % al Intermedio. El 1,2 % fermenta el almidón y tienen caracteres de cultivo de Mitis. Sólo el 1,1 % es atípico. Todas las cepas aisladas son patógenas para el cobayo.

2) La asociación entre malignidad de la difteria y el tipo Gravis y la benignidad con el tipo Mitis es evidente en los menores de 15 años (518 casos). El valor de P es menor de 1/10.000. En los mayores de 15 años (250 casos) el valor de P es de 1/80, de modo que sólo existe verosimilitud de asociación.

3) No existe diferencia en la gravedad cuando se comparan los pares Mitis-Intermedio, y Gravis-Intermedio.

4) Las diferencias de letalidad no permiten afirmar que la difteria por Gravis sea más letal que la producida por los tipos Mitis o Intermedio.

5) La difteria en el Hospital Muñiz se caracteriza por una letalidad media alta. El tipo Mitis es causa de muerte en el 6,7 % de los casos, lo que constituye una cifra muy elevada.

6) La frecuencia relativa de cada tipo en los casos de difteria (61,6 % Mitis, 13,1 % de Gravis y 25,2 % de Intermedio) no difiere mucho de la observada en los portadores.

BIBLIOGRAFIA

1. J. S. ANDERSON, F. C. HAPFOLD, J. W. MCLEOD y J. G. THOMSON: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1931, tomo 34, 2, pág. 667.
2. J. S. ANDERSON, K. E. COOPER, F. C. HAPFOLD y J. W. MCLEOD: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1933, tomo 36, pág. 169.
3. K. E. COOPER, F. C. HAPFOLD, J. W. MCLEOD y H. E. DE C. WOODCOCK: *Proc. Royal Soc. Med.*, año 1936, tomo 29, pág. 1029.
4. J. MENTON, T. V. COOPER, F. W. DUKE y H. W. FUSSELL: *The Journal of Hygiene*, año 1933, tomo 33, pág. 414.
5. H. WRIGHT y A. RANKIN: *The Lancet*, año 1932, tomo 223, pág. 884.
6. J. C. ANDERSON, F. C. HAPFOLD y J. W. MCLEOD: *The Lancet*, año 1933, tomo 224, pág. 293.
7. M. H. CHRISTISON: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1933, tomo 37, pág. 243.

8. H. A. WRIGHT y M. H. CHRISTISON: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1935, tomo 41, pág. 447.
9. M. H. CHRISTISON, H. A. WRIGHT y B. J. SHEARER: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1936, tomo 42, pág. 345.
- 9a. R. D. STUART: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1938, tomo 46, pág. 173.
10. D. T. ROBINSON y F. N. MARSHALL: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1934, tomo 38, pág. 73.
11. D. T. ROBINSON: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1934, tomo 39, pág. 551.
12. D. T. ROBINSON y F. N. MARSHALL: *The Lancet*, año 1935, tomo 2, página 441.
13. H. S. CARTER: *The Journal of Hygiene*, año 1933, tomo 33, pág. 542.
14. W. MAIR: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1936, tomo 42, pág. 635.
15. M. GUNDEL y C. TIETZ: *Zits. für Hygiene*, año 1935, tomo 116, pág. 439.
16. M. GUNDEL: *Klin. Wchnschr.*, año 1935, tomo 15, pág. 1871.
17. K. W. CLAUBERG, W. HELMREICH y R. W. VIERTHALER: *Klin. Wchnschr.*, año 1936, tomo 15, pág. 231.
18. J. PÜSCHEL: *Zentralbl. f. Bakt.*, año 1936, Dec. (Abt. 1), tomo 138, pág. 67.
19. R. PREUNER: *Zentralbl. f. Bakt.*, año 1936, tomo 136-137, pág. 463.
20. K. L. PESCH: *Klin. Wchnschr.*, año 1936, tomo 15, 2, pág. 1202.
21. G. HENNEBERG y F. PELS LEUSDEN: *Zentralbl. f. Bakt.*, año 1937 (Abt. 1), tomo 139, pág. 39.
22. A. STEIGLER: *Zentralbl. f. Bakt.*, año 1937 (Abt. 1), tomo 138, pág. 426.
23. K. SCHLIRF: *Zentralbl. f. Bakt.*, año 1938, tomo 142 (Abt. 1), pág. 1-14 y 14-31.
24. C. A. PERRY, O. R. WHITLEY y E. PETRAN: *American Journal of Hygiene*, año 1936, tomo 23, pág. 580.
- 24a. T. S. GREGORY: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1937, tomo 45, pág. 333.
25. J. WRIGHT: *Brit. Med. Journal*, año 1937, tomo 1, pág. 259.
26. M. WELSCH y J. THIBAUT: *Compt. rend. Soc. de Biol.*, año 1939, tomo 132, pág. 319.
27. V. GLASS: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1937, tomo 44, pág. 235.
28. R. KNOX: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1937, tomo 45, pág. 733.
29. H. WILSON y N. E. GOLDSWORTHY: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1939, tomo 48, 1, pág. 125.
30. B. KEMKES y A. STEIGLER: *Klin. Wchnschr.*, año 1937, tomo 16, pág. 1648.
31. W. HILGERS y F. THOENES: *Klin. Wchnschr.*, año 1936, tomo 15, 2, página 1567.
32. H. OTTO y G. MITTAG: *Klin. Wchnschr.*, año 1937, tomo 16, pág. 294.
- 32a. B. R. PESTANA, J. P. DO AMARAL y L. PEREIRA BARRETTO NETO: *Memoorias do Instituto Butantan*, año 1939, vol. XIII, pág. 407.
33. G. PASCHLAU: *Klin. Wchnschr.*, año 1937, tomo 16, pág. 994.
34. H. R. SHONE, R. TUCKER, V. GLASS y H. D. WRIGHT: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1939, tomo 48, pág. 139.
35. J. W. McLEOD, J. W. ORR y HESTER E. DE C. WOODCOCK: *The Journal of Path. and Bact.*, año 1939, tomo 48, pág. 99.

36. A. SORDELLI, H. RUGIERO, A. MANZULLO y J. HERRÁN: *Rev. del Inst. Bacteriológico* (D. N. H.), año 1940, Sep., Vol. IX, N° 4, pág. 496.
37. A. SORDELLI: *Archivos do Inst. Biológico*, año 1940, vol. XI, pág. 551.
38. A. SORDELLI, A. MANZULLO y F. PENNIMPEDE: *Rev. del Inst. Bacteriológico* «Dr. Carlos G. Malbrán» (D. N. H.), año 1941, Sep., vol. X, N° 2, pág. 179.
39. A. SORDELLI, H. RUGIERO, A. MANZULLO y J. HERRÁN: *Rev. del Inst. Bacteriológico* «Dr. Carlos G. Malbrán» (D. N. H.), año 1941, Sep., vol. X, N° 2, pág. 198.
40. A. SORDELLI y H. RUGIERO: *Rev. del Inst. Bacteriológico* «Dr. Carlos G. Malbrán» (D. N. H.), año 1941, vol. X, N° 3.

Estudios sobre difteria

4ta. Comunicación por los Dres.

A. SORBELLI, W. RUGIERO, A. MANZULLO, J. HERRAN y F. PENNIMFERE

FE DE ERRATAS

Página	Renglón	Dice	Debe decir
382	Cuadro «G» par Gravis- Intermedio, mayores	P = 0,48	P = 0,84
383	Cuadro «I», menores	Gravis P = 0,0001 Intermedio 85 — 59 Mitis 205 — 109 Gravis 28 — 42	Gravis P = - de 0,004 Mitis 205 — 109 Gravis 28 — 42 Intermedio 85 — 59
383	8	1/10.000	1/2.500
387	9	1/10.000	1/2.500