

TRANSFORMACION DE UNA CEPA DE BACILOS DE KOCH, TIPO BOVINO (1)

POR LOS DOCTORES:

Andrés R. Arena y Abel Cetrángolo

La Real Comisión Inglesa designada para el estudio de las relaciones entre la tuberculosis humana y animal, en su primer Informe publicado en 1907, calificó de "*Disgónicos*" a los bacilos de Koch que cultivan con lentitud y escasamente en los medios glicerinados; y, por oposición de "*Eugónicos*" a los que ofrecen cultivos abundantes y vigorosos en un tiempo relativamente corto.

Los primeros cultivos obtenidos de material proveniente de lesiones tuberculosas de bovinos, que han adquirido la enfermedad por infección natural, son generalmente disgónicos y presentan colonias pequeñas, redondeadas, de color blanco nacarado, con superficie lisa y consistencia pastosa. En cambio, los de material tuberculoso de origen humano son casi siempre eugónicos y presentan colonias de mayor tamaño, de tinte ligeramente amarillento, granulosas, secas, y de crecimiento relativamente rápido. Sin embargo, existen excepciones que, raras para el tipo bovino pueden ser observadas con alguna frecuencia en el tipo humano, lo que ha dado lugar, también a los investigadores ingleses, a hacer otra calificación: la del bacilo humano tipo disgónico.

Cuando se practica la siembra del material humano (esputo, p. ejmp.), empleando el método de disociación de Petroff —pasando el material listo para sembrar a través de dos hojas de papel de filtro— nos ha sido dado observar, con relativa frecuencia, la apa-

(1) Trabajo del Instituto de Tisiología de la Universidad Nacional de Córdoba (R. A.) Director: Prof. Dr. G. Sayago.—

rición tardía de escasas colonias disgónicas entre las eugónicas habituales, mucho más numerosas.

La presencia de glicerina en los medios nutritivos a base de huevo acentúa el disgonismo de los bacilos bovinos hasta el grado que, a veces, inhibe totalmente su desarrollo. En cambio, el bacilo humano necesita la glicerina para cultivar eugónicamente.

La transformación de cultivos disgónicos bovinos en eugónicos, ha sido observada por varios investigadores, entre ellos Jensen y J. Frimodt-Moeller ⁽²⁾ cuya observación se refiere a una cepa bovina aislada de un esputo, en cuyo cultivo original, típicamente bovino, se descubrió a los cuatro meses de incubación, que una de las colonias presentó una prominencia que abarcaba el tercio de la superficie de la colonia madre; los trasplantes de ésta dieron cultivos disgónicos y los de la prominencia dieron cultivos eugónicos, ligeramente pigmentados en amarillo, conservando ambos la virulencia original para el cobayo y para el conejo. J. Valtis y F. Van Deinse, ⁽³⁾ han obtenido cultivos eugónicos de una cepa bovina aislada del lavado gástrico de un niño, después de haberla mantenido por espacio de dos meses en el medio nutritivo de Besredka; los demás caracteres biológicos se mantuvieron. Laporte y Bataglini, ⁽⁴⁾ consiguieron mutaciones semejantes por pasajes de cepas bovinas en cobayos, o por cultivo en el medio de Besredka o en el de Berthelot y Amoreux, también con conservación de los caracteres biológicos propios del tipo bovino.

En general, los bacilos disgónicos bovinos, con mayor o menor facilidad —depende de la cepa— terminan por hacerse eugónicos en los medios glicerinados, tanto líquidos como sólidos, y el aspecto de los cultivos sufre modificaciones que los lleva a parecerse a las colonias o películas dadas por el bacilo humano: es cuestión de tiempo.

Nuestra comunicación se refiere a las *modificaciones culturales y biológicas de una cepa bovina*, aislada de un ganglio caseoso del cuello de un cerdo, en octubre de 1933, por uno de nosotros (Arena)

(2) Acta Scand. Tub., N° 8, pág. 153, año 1934

(3) Comp. Rend. de S. de B., T. 118, pág. 755, año 1935

(4) Comp. Rend. de S. de B., T. 118, pág. 304, año 1935

con la colaboración del Dr. Angel M. Oyuela, en el Instituto Bacteriológico Nacional. La primera siembra únicamente ofreció cultivo en el medio nutritivo de Petraghani *cera*, cuyas características correspondieron a las del tipo bovino, quedando negativos los efectuados en el medio de Loewenstein. Esta cepa denotó tener un alto grado de virulencia para el conejo —, centésimo de milígramo por vía endovenosa determinó la muerte en 44 días por tuberculosis generalizada con lesiones renales. Los cobayos inoculados con 1 décimo de milígramo murieron a los 57 días con tuberculosis generalizada, sin lesiones renales macroscópicas. En cambio, los pollos inyectados por vía venosa con 1 milígramo fueron sacrificados a los tres meses, previa reacción tuberculínica negativa, y no presentaron lesiones tuberculosas.

La cepa aludida fué traída al Instituto de Tisiología de Córdoba en junio de 1934, en donde ensayamos de nuevo la virulencia en conejos, cobayos y cabritos. Para las dos primeras especies se emplearon las vías y dosis ya mencionadas; para el cabrito las siguientes: intraocular con 1 milésimo de milígramo, venosa con 1 décimo por kilo de peso, e intrabronquial con 1 milígramo. Los resultados mostraron que la cepa en cuestión mantenía su alto grado de virulencia después del séptimo pasaje en el medio de Petraghani *cera*, muriendo los cabritos por tuberculosis generalizada, los de vía ocular a los cuatro meses, los de vía venosa a los treinta días y los de vía bronquial a los sesenta días.

La conservación de la cepa, a cargo de uno de nosotros, (Arenas), se efectuó mediante nuevas siembras en los medios de Loewenstein y Petraghani. A medida que aumentaba el número de trasplantes, el desarrollo se hacía mejor en los medios glicerinados, terminando por obtenerse en los mismos, a los tres años, cultivos francamente eugénicos. Practicada otra siembra con el método de disociación de Petroff, sólo obtuvimos cultivos de colonias eugénicas R. La verificación del pH. del medio de Sauton en el que también se obtuvo cultivo eugénico, apreciada con los indicadores de Clark y Lubs, cada ocho días y durante cincuenta y seis, nos permitió comprobar las siguientes variaciones: 7.4 — 7.8 — 7.8 — 7.4 — 6 — y 5.8.

Este ensayo, se hizo contemporáneamente con el de otra cepa aislada del hombre, cuyos cultivos originales fueron eugónicos en los medios glicerizados y sin glicerina, y que, por sus caracteres culturales y de virulencia para el conejo fué clasificada por nosotros de tipo *intermedio* (5). Las variaciones observadas en este caso fueron de: 6.6 — 7.2 — 7 — 5.6 — 5.4 — 5 — y — 5.

Con estas dos cepas, inoculamos de nuevo cabritos en la cámara anterior del ojo, con una dosis diez veces mayor a la empleada anteriormente, o sea 1 centésimo de milígramo. Ambas tuvieron un comportamiento semejante, provocando únicamente uveitis tuberculosa con lesiones macroscópicas en los ganglios preauriculares, sin observarse lesiones tuberculosas en los demás órganos. Los animales fueron sacrificados a los tres meses con un excelente estado general.

El material proveniente de los ganglios preauriculares citados, ofreció cultivos eugónicos, para las dos cepas, tanto en los medios glicerizados como en los sin glicerina, predominando un tipo intermedio de colonias semiesféricas, moruladas, de superficie brillante, mamelonadas y cuya consistencia era algo pastosa, con un número no despreciable de colonias en rosquillas.

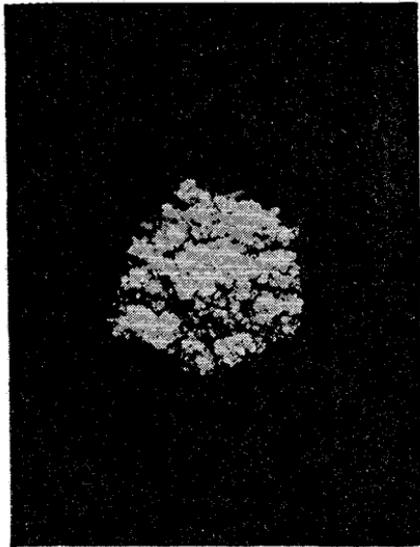
Los cultivos aludidos fueron inoculados al cobayo por vía intraperitoneal (1 décimo de milígramo); al conejo por vía venosa y subcutánea, con 1 décimo de milígramo y un milígramo respectivamente. De los animales inoculados con la cepa que en su origen fué típicamente bovina, muere un cobayo a los setenta y cinco días por tuberculosis generalizada y, tres fueron sacrificados a los nueve meses, apreciándose en estos peritonitis tuberculosa y algunos nódulos en pulmón. Un conejo de los inyectados por vía venosa, murió a los nueve meses con intensa caseosis pulmonar, algunos nodulitos en hígado y con riñones aparentemente sanos; los demás fueron sacrificados a los diez meses y en ellos se observó tuberculosis pulmonar y algunos nodulitos en hígado.

De los inoculados con la cepa de origen humano pasada por el cabrito, los cobayos murieron entre los seis y los nueve meses, por

(5) Revista de la S. Argent. de Biol. Vol. 12, N° 7, pág. 372, año 1936 y C. R. de la Soc. de Biol. T. 123, N° 35, pág. 1093, año 1936.

tuberculosis generalizada; los conejos inyectados por vía venosa, a los siete meses con intensa caseosis pulmonar y de los de inyección subcutánea, muere uno a los treinta y nueve días por enfermedad intercurrente (neumococcia?), presentando además el ganglio inguinal vecino al punto de inoculación aumentado de volumen, con baciloscopía positiva; el otro fué sacrificado a los nueve meses comprobándose únicamente escasos nodulitos en hígado con baciloscopía negativa.

Practicada nuevamente por el método de Petro, otra siembra con la cepa tipo bovino aislada del cerdo, que tenía en ese momento veinte y siete pasajes en los medios glicerizados obtuvimos únicamente colonias eugónicas R. (Fotografía No. 1). Contemporánea-



(Fotografía N° 1)

mente realizamos otra siembra, con análogo procedimiento, de una cepa proveniente de un ganglio tuberculoso del bovino, que llevaba veinte y dos pasajes en el medio de Loewenstein y cuyos cultivos iban perdiendo su disgonismo, sin poder aún, en aquella época, clasificarse de eugónicos. Las colonias obtenidas en este transplante,

fueron de distinto tamaño y en su totalidad del tipo S (Fotografía No. 2).



(Fotografía No 2)

Inoculadas estas cepas en conejos por vía subcutánea, (1 milígramo), intraocular, (1 milésimo de milígramo); endovenosa, (1 centésimo y 1 décimo de milígramo), obtuvimos para la cepa bovina, aislada del cerdo, los siguientes resultados: todos los conejos, salvo tres que murieron por enfermedad intercurrente, fueron sacrificados a los tres meses y medio, observándose en los de vía ocular, además de uveítis intensa, nódulos tuberculosos en pulmón e hígado; en los de vía venosa, con un centésimo de milígramo, abundantes nodulitos pulmonares en hígado y riñón; en los de la misma vía pero con 1 décimo de milígramo, se observó lesiones pulmonares más marcadas y nódulos en hígado, sin apreciarse lesiones visibles en riñón. Los inoculados por vías subcutánea presentaron únicamente nodulitos en hígado.

De los inoculados con la cepa bovina aislada del bovino, solamente uno de los de vía intraocular vivió hasta los tres meses y medio, presentando, además de la destrucción total del ojo, tuberculosis generalizada con grandes lesiones renales, aunque de menor importancia que las presentadas por el otro animal inyectado por la misma vía y que murió a los 80 días.

De los inoculados por vía venosa, los de un centésimo de milígramo murieron a los veinte días por tuberculosis miliar generalizada y los de un décimo, a los veinte y cinco días, también por tuberculosis generalizada, presentando además nódulos tuberculosos en corazón.

Los correspondientes a vía subcutánea, murieron a los tres meses por tuberculosis generalizada, con lesiones renales.

En resumen, el trabajo que acabamos de relatar, nos permite decir:

Que nuestra cepa de bacilos de Koch, aislada del cerdo, típicamente bovina en los primeros cultivos, ha modificado, al cabo de cuatro años de cultivarse en el medio de Loewenstein, todos sus caracteres culturales y a la vez los biológicos, de tal manera que, el análisis actual de ambos permite clasificarla como una cepa de bacilos tipo humano, con mayor virulencia que la que habitualmente presentan estos para el conejo, o sea, de la llamada por nosotros "virulencia intermedia" para esta especie, en un trabajo más arriba citado.

Que una de las cepas de origen humano, clasificada por nosotros de virulencia intermedia para el conejo, por un pasaje en cabrito ha adquirido mayor virulencia para aquel y modificado el aspecto de sus colonias.

Que la cepa bovina, aislada de un ganglio tuberculoso de un bovino y adaptada a los medios glicerinados (Loewenstein) mientras conservó el aspecto de sus colonias mantuvo su virulencia característica para el conejo.
