

CLASIFICACION DE TIPOS DE BACILOS DE KOCH AISLADOS DE ESPUTOS HUMANOS

POR LOS

Dres. A. R. Arena, R. Schwartz y Abel Cetrángolo (1)

Instituto de Fisiología de la Universidad N. de Córdoba (R. Argentina)

La investigación se realizó en 41 esputos, bacterioscopicamente positivos, por siembras en los medios nutritivos de Löwenstein, Petraghani glicerina y Petraghani cera, y por inoculaciones de los cultivos de primer o de segundo trasplante en conejos y cobayos.

La cantidad de esputos utilizada para cada caso fué de un c. c., que después de una breve agitación en frascos con municiones de vidrio, se trató por 10 c. c. de ácido sulfúrico al 5 %, durante 20 minutos a 37° centígrados. El sedimento obtenido por centrifugación fué lavado y emulsionado de nuevo en 10 c. c. de agua destilada esteril.

El sedimento de los primeros 11 esputos así tratados, se sembró directamente. Para los restantes, la emulsión fué pasada a través de 2 papeles de filtro, con el objeto de obtener colonias originadas por el menor número de bacilos posible, (método de disociación de Petroff). El volumen sembrado en todos los casos fué de un décimo de c. c.

(1) Este trabajo fué comenzado con el Ex-Jefe de Laboratorio Sr. Carlos Voces.

Las inoculaciones en conejos de los primeros cultivos se hicieron con un milígramo, (peso húmedo), por vía subcutánea, un décimo y un centésimo de milígramo endovenoso y un milésimo de milígramo en la cámara anterior del ojo. Por falta de número suficiente de jaulas y porque a nuestro juicio creemos que presta utilidad suficiente para dosar la virulencia del bacilo de Koch en conejos la inoculación ocular, utilizamos posteriormente esta vía con la cantidad de un milésimo de milígramo.

Las inoculaciones en cobayos fueron realizadas con medio milígramo por vía subcutánea.

Los resultados de las siembras fueron los siguientes:

	positivos	negativos
Löwenstein	40	1
Petragnani glicer.	36	5
Petragnani cera	26	15

y el grado de desarrollo, (2) en:

	+++	++	+
Löwenstein	27	7	6
Petragnani glicer.	20	10	6
Petragnani cera	11	9	6

El medio nutritivo de Petragnani cera, ha sido aconsejado por su autor para la diferenciación del bacilo tipo humano y bovino (3), teniendo en cuenta el hecho conocido del poder inhibitorio que ejerce la glicerina, sobre el desarrollo en los cultivos de este último. Pero acabamos de ver, que un elevado porcentaje de bacilos de origen humano, cultivan en los medios en que la glicerina ha sido reemplazada por la cera, comportándose estos en los medios glicerinados, como lo consignamos en el cuadro que sigue:

(2) +++ cultivo abundante; ++ cultivo discreto; + cultivo escaso (1 a 6 colonias).

(3) Boll. del I. S. Milanese, 1931, vol. 10, fase. 9, pág. 55.

Grado de desarrollo de las 26 cepas que cultivaron
en Petragrani cera.

Petragrani cera	las mismas cepas en						
	Petragrani glicerina			Löwenstein			
	+++	++	+	+++	++	+	0
+++ 11	11	—	—	8	3	—	—
++ 9	8	—	1	8	—	1	—
+ 6	3	2	1	4	—	1	1

Ninguna de las cepas que cultivó abundantemente en el medio con cera, presentó las demás características correspondientes a los bacilos tipo bovino.

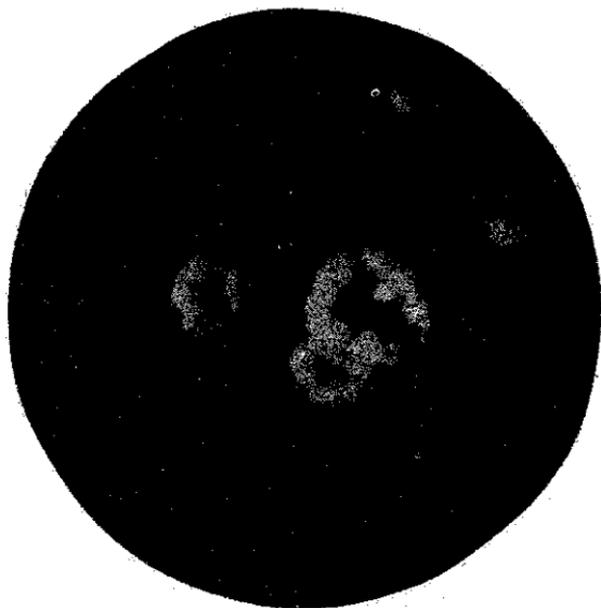
Los caracteres morfológicos de las colonias en general, correspondieron a los de las llamadas variantes intermedias entre las rugosas y las lisas, es decir, entre la "R", áspera, de bordes sinuosos, seca y difícilmente emulsionable y la "S", pequeña, semiesférica, de superficie lisa, brillante, nacarada, de fácil emulsión.

Entre las colonias de tipo intermedio, hemos visto en repetidas oportunidades, algunas que se disponen en forma de pequeñas roscas, blancas, brillantes y de superficie lisa macroscópicamente, en la que con lupa se percibe un fino puntillado.

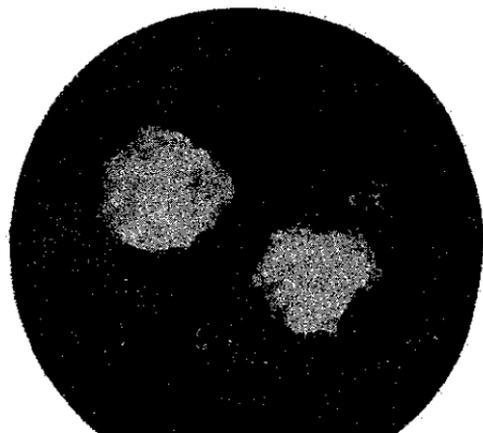
Respecto al pigmento de los cultivos, al que también se asigna cierta importancia para la clasificación de tipos de bacilos, hemos observado que la mayor o menor intensidad del mismo, en cepas de bacilos tipo humano, depende del medio nutritivo en que se cultiva, así, es más marcado en Petragrani glicerina que en Löwenstein, más aun en Petragrani cera y mucho menos cuando



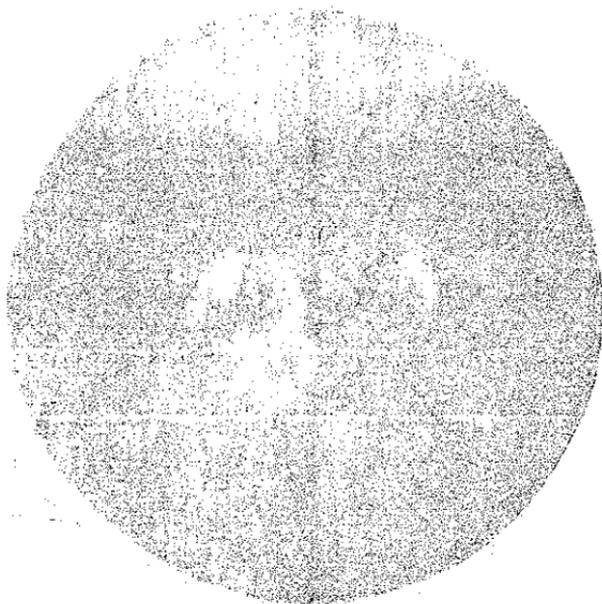
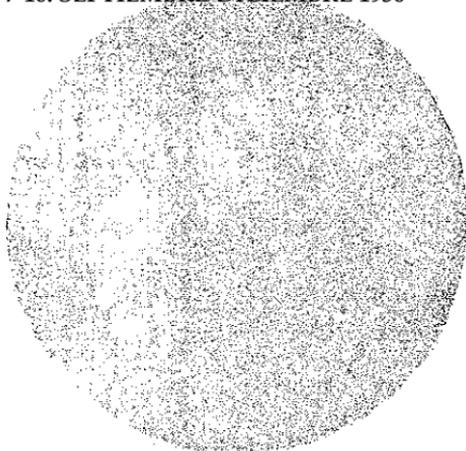
Fotografía 3
Colonia lisa



Fotografía 2
Colonia en roseta



Fotografía 1
Colonia de tipo intermedio



el medio nutritivo es a base de agar y sin el agregado de colorantes.

Las inoculaciones realizadas por vía subcutánea, que correspondieron a 11 cepas solamente, una demostró ser muy virulenta para el conejo, en el que determinó la muerte, antes de los 60 días por tuberculosis generalizada con lesiones renales. Este poder patógeno coincidió en los animales de la misma especie, inyectados por otras vías. En el cultivo predominaron las colonias lisas, que desarrollaron con más abundancia en el medio glicerinado de Löwenstein.

Con la inoculación en la cámara anterior del ojo del conejo (incluyendo la anterior), 4 cultivos determinaron lesiones progresivas oculares, pulmonares y hepáticas, ocasionando la muerte de los animales antes de los 60 días; diez y siete provocaron lesiones intensas en el ojo (hipopion) y los conejos fueron sacrificados entre los 70 y 80 días, denotando la autopsia lesiones menos graves en hígado y pulmones, y en diez y ocho, las lesiones oculares no tuvieron tendencia progresiva. Los animales sacrificados también entre los 70 y 80 días sólo mostraron en la necropsia lesiones mínimas (escasos nodulitos en hígado y pulmón). Dos observaciones se perdieron por muerte prematura debida a enfermedades intercurrentes.

De los 4 cultivos que manifestaron alto grado de virulencia para el conejo, en uno, como hemos dicho, predominaba el tipo de colonias lisas y en los otros 3, colonias de aspecto intermedio; todos cultivaron eugónicamente desde un principio, en los medios glicerinados. De los 17, cuyo grado de virulencia lo llamaremos intermedio, 16 desarrollaron en Löwenstein, 15 en Petraghani glicerina y 10 en Petraghani cera, y por último, de los 18, con escasa virulencia para el conejo, 15 desarrollaron por igual en los medios glicerinados y 12 en el de Petraghani cera.

Veinte y siete cepas mataron a los cobayos antes de los 60 días, habiendo 15 determinado tuberculosis generalizada, de las cuales 14 habían dado cultivo eugónico en Löwenstein y Petraghani glicerina y 8 en Petraghani cera. Las 12 restantes provocaron la muerte en los animales por tuberculosis atípica, congestión

pulmonar, con derrame seroso o caquexia y desarrollaron en forma semejante en los 3 medios nutritivos.

Los cobayos sacrificados después de los 70 días, correspondieron a 12 cepas. En 11 de ellos se encontró tuberculosis generalizada. Los cultivos originales fueron abundantes todos en Löwenstein, 9 en Petraghani glicerina y 7 en Petraghani cera; y en uno que presentó tuberculosis atípica de Calmette-Valtis, fué inoculado con un cultivo que desarrolló abundantemente en los tres medios.

El examen comparativo del poder patógeno de las mismas cepas, entre conejos y cobayos, con referencia al cultivo en los diferentes medios, nos ha demostrado que existen grandes variaciones, así, de las bacterias que ocasionaron la muerte del conejo antes de los 60 días, una, que correspondió a la de las colonias lisas, cuyo cultivo fué más abundante en los medios glicerinados, determinó la muerte del cobayo en 16 días sin lesiones típicas (4), otra, cuyo cultivo fué "eugónico" en los 3 medios, provocó la muerte de los cobayos sin lesiones macroscópicas de tuberculosis, la tercera, que desarrolló mejor en el medio de Löwenstein, mató a los cobayos por tuberculosis generalizada en 27 días y la cuarta tuvo el mismo efecto en 52 días, siendo su cultivo también más abundante en los medios glicerinados.

Entre los 17 cultivos que hemos llamado de virulencia intermedia para el conejo, 7 originaron la muerte en los cobayos antes de los 60 días por tuberculosis generalizada, de los que 6 tuvieron predilección por los medios glicerinados y uno, que no cultivó en Löwenstein, lo hizo en forma disgónica en los dos de Petraghani, conservando esta característica en los transplantes y el tipo de colonia que presentó esta cepa también correspondió a la intermedia; 5 provocaron la muerte de los cobayos, también en el mismo término, con lesiones atípicas, congestión pulmonar y derrames serosos o caquexia, desarrollando 4 en los 3 medios y el quinto no ofreció cultivo en el de Petraghani y los últimos

(4) Su inoculación endovenosa, en gallinas, no demostró ser patógena para este animal.

5, cuyos cobayos fueron sacrificados después de los 70 días, en 4 provocaron lesiones tuberculosas y en uno lesiones atípicas. Los cultivos habían desarrollado bien en los medios con glicerina y no así en los con cera, en los que cultivaron escasamente sólo 2 de estas cepas.

Entre las 18 cepas que manifestaron poca virulencia para el conejo, 8 mataron al cobayo por tuberculosis en menos de 60 días y desarrollaron preferentemente en los medios con glicerina, aunque 3 lo hicieron de igual manera en los con cera; 8, cuyos cobayos fueron sacrificados después de los 70 días, entre los cuales se encontró 6 con lesiones tuberculosas y dos con lesiones atípicas, todas habían ofrecido buen desarrollo en los tres medios. (5)

En resumen, de 41 cultivos estudiados, obtuvimos uno, que a pesar de no ser "disgónico" en los medios glicerinados, presentó las demás características del bacilo tipo bovino; 3, también "eugónicos", ofrecieron caracteres en sus cultivos y de virulencia, correspondientes a los "tipos intermedios"; 17 considerados por nosotros de virulencia intermedia para el conejo, que además de ser eugónicos en los medios glicerinados, lo fueron también en una elevada proporción en el medio de Petraghani cera, y 18 que presentaron escasa virulencia para el conejo por vía ocular y que también cultivaron en forma eugónica en una buena proporción, determinaron sin embargo la muerte del cobayo, antes de los 60 días, por tuberculosis generalizada, aproximadamente en la mitad de los casos.

Las observaciones recogidas en este trabajo nos permiten inferir que:

La virulencia para el conejo o el cobayo, de los bacilos de Koch, aislados de esputos humanos, se relaciona más bien con el tipo de colonia que predomina en los cultivos, que con su carácter eugónico o disgónico en los medios con glicerina o con cera.

Las cepas que no denotaron ser muy virulentas para el conejo, no se comportan de igual manera en el cobayo

(5) 2 observaciones se perdieron por no haberse practicado la necropsia debido a la muerte de los animales a los 2 días de inoculados.

Entre los cobayos inoculados con los cultivos que desarrollaron "eugónicamente" en los tres medios, una buena cantidad murió por congestión pulmonar con derrames serosos, caquexia o tuberculosis atípica.

El carácter "disgónico" de los bacilos tuberculosos, obtenidos con lesiones bovinas, no ha sido comprobado por nosotros en el procedente de esputo humano que presentó todos los demás caracteres del *Mycobacterium Tuberculosis Bovis*.

En los esputos humanos existen cepas que prefieren el medio de Petraghani, siendo por esta razón, que aunque el medio de Lowenstein demuestre en conjunto superioridad sobre los demás (97,5 %), nosotros aconsejamos para cada investigación el uso de los tres.
