

Si la Neurología tiene por objeto lograr un valor cognoscitivo, explicar las formas, es evidente que ni puede ni debe limitarse a una descripción morfológica; ha menester el concurso de los hechos históricos concordantes para llenar su cometido; asimismo necesita del concepto funcional, tan íntimamente ligado a la morfogénesis, y el enfoque de un mismo punto en distintos seres para apreciar, por su grado de variabilidad, lo que tienen de esencial; no se oculta a la ilustración y pericia de los señores Académicos lo laborioso y por ende lo dilatado de estos estudios.

Espero que en ocasiones venideras me será dado desarrollar, corrigiendo lo pertinente, los temas que en esta nota previa tan sólo me ha sido posible apuntar.

Estudio bacteriológico del bacilo ácido-resistente, de los animales de sangre fría, de Friedmann *

Por el Dr. EMILIO P. NAVARINI, socio correspondiente en
Rosario, Rep. Argentina.

Con el objeto de efectuar personalmente el estudio bacteriológico del bacilo de los animales de sangre fría, de Friedmann, solicité y obtuve muy gentilmente del Dr. Augusto Bunge varias ampollas para mi experimentación. Las ampollas entregadas, 3 fuertes y 1 débil, corresponden a los Nos. 4298755-4300061-4300062 y 4300531. Vienen todas con la firma de legitimidad del Prof. Friedrich F. Friedmann, con el número de control correspondiente, fecha de elaboración, fecha de actividad y firma del Dr. Otto Eichner que verifica, por autorización del Gobierno de Sajonia, la pureza bacteriológica del producto.

He empleado, pues, ampollas frescas, de pureza controlada y certificada. Con el contenido de dichas ampollas practiqué exámenes directos, cultivos e inoculaciones.

Exámenes directos previas coloraciones.—El residuo obtenido por centrifugación de una ampolla fué extendido en diversos porta-objetos aplicándoseles, previa fijación, el método de coloración Ziehl-Neelsen a unos y el de Gram-Nicolle a otros. En los coloreados

* Trabajo de turno leído el 4 de octubre de 1939.

con Ziehl-Neelsen el estudio microscópico nos revela que estamos en presencia de bacilos alcohol ácido-resistentes, más alcohol que ácido-resistentes, sobre todo en las formas jóvenes, como lo he podido constatar en los bacilos obtenidos por cultivos, un poco más granuloso que el Koch humano y puro, es decir, libre de otro germen, comprobado esto por el detenido examen de las preparaciones coloreadas por el Gram.

Cultivos.—Empleé primeramente los medios comunes de cultivos para desarrollo de los microorganismos en general: agar-agar, agar-suero y caldo peptonado glucosado. Practiqué siembras en ellos con parte del sedimento obtenido por centrifugación de una ampolla. Después de 30 horas a 37 grados examiné, no constatando desarrollo alguno de colonias.

Con el asa de platino raspé suavemente toda la superficie de los dos primeros medios y el escaso material separado por el asa lo extendí sobre porta-objetos, en los que practiqué previa fijación, las coloraciones de Ziehl-Neelsen y Gram-Nicolle, no observando en ninguno de ellos la presencia de microorganismos. Por todo ello podemos asegurar que se trata de un producto puro y libre de contaminación.

Practiqué entonces siembras en los medios especiales empleados para el cultivo del bacilo de Koch.

De todos los medios existentes, tres son los que me han dado siempre resultados satisfactorios, los cuales vengo usando desde hace muchos años. Son ellos: a).—Medio de Hohn (yema, clara de huevo y caldo glicerinado) preparado según Lubenau; b).—Papa glicerinada en tubo de Roux y c).—Medio de Petraghani.

Insisto sobre el primero, pues a pesar de requerir para su preparación una técnica más laboriosa y difícil, sus resultados son satisfactorios.

Después de los trabajos de Proskauer, Beck y Varela Gil, sabemos que el huevo de gallina contiene todas las sustancias nutritivas que los bacilos ácido-resistentes encuentran en los tejidos del organismo animal y que le son indispensables para su desarrollo. Son estas materias los lipoides, leucina, tirosina, asparajina, lecitina, amino-ácido, fosfatos potásico y magnésico y sales de sodio.

La reacción de este medio debe ser ácida y no alcalina. Según las experiencias de Hohn, hechas paralelamente con caldo ácido y

alcalino, se observa al hacer siembras de emulsión de bacilo tuberculoso, que se obtiene ya a los 5 días las primeras colonias cuando se emplea el medio ácido, mientras que con el alcalino no aparecen hasta después de los diez días.

Otro punto digno de mención es el empleo de huevos frescos para conseguir que la totalidad de las materias nutritivas que contienen permanezcan inalterables, pues mientras el huevo permanece en el interior del organismo animal, se encuentra estéril, pero durante la puesta y a consecuencia de su paso por cavidades sépticas se infecta la cáscara, que es permeable para las bacterias, y éstas al poco tiempo provocan la descomposición de las sustancias proteicas.

Por último, debe tenerse en cuenta el grado de humedad que siempre deben mantener los tubos con el medio de cultivo, pues si desaparece el agua de condensación y el medio se deseca es imposible el desarrollo del bacilo. Así: después de retirar los tubos que contienen el medio de cultivo ya preparado, del aparato coagulador, es preciso añadirle el agua de condensación que puede ser el caldo con su ácido natural, agregando a cada tubo 0,8 cc. con una pipeta esterilizada, dejando resbalar el líquido por el lado opuesto al medio de cultivo, es decir, por la pared del tubo que se encuentra libre del medio de cultivo.

Los tubos se mantuvieron durante 24 horas en la estufa a 37 grados para comprobar su esterilidad, quedando así dispuestos para las siembras.

Una vez listos, por otra parte, los medios de Petraghani en tubo simple y papa glicerizada en tubo de Roux, practiqué las siembras; para ello procedí de la siguiente manera: centrifugué el contenido de una ampolla, sustituí luego el líquido sobrenadante por igual cantidad de suero fisiológico esterilizado y después de homogenizar el todo, sembré.

Como no se trataba de un producto infectado (el examen directo y los primeros cultivos así lo indicaban) no traté la emulsión bacilar con solución normal de sodio a 37 grados, sino que efectué directamente las siembras; el resultado fué favorable pues el desarrollo en todos los casos fué de colonias puras de bacilos de Friedmann.

Los tubos fueron colocados en la estufa a 37 grados, dejándolos inclinados los cinco primeros días para que se depositaran uniformemente en ellos los gérmenes de la emulsión.

A los diez días en el medio Hohn-Lubenau y a los doce días (Petraghani y papa glicerizada) aparecieron las primeras colonias, las que se presentaron como puntuaciones irregulares blanco-amarillentas, opacas; después de veinte días en el de Hohn-Lubenau y treinta días en el de papa glicerizada y Petraghani, obtuve bellas colonias de aspecto de granulaciones gruesas con relieves mameonados.

El estudio microscópico de las colonias desarrolladas nos revela que estamos en presencia de bacilos de Friedmann.

Inoculaciones.—Con el objeto de investigar el poder patógeno del germen, utilicé cobayos a los que inyecté por vía subcutánea a unos e intraperitoneal a otros, una emulsión bien homogénea en solución fisiológica estéril de bacilos de Friedmann.

La emulsión preparada contenía 10 miligramos en peso húmedo de bacilos por cada c.c.

Empleé animales de 250 a 300 gramos de peso. Tanto la temperatura como el peso se tomaron diariamente.

Cobayo No. 1.—Inyección subcutánea de 0.1 de la emulsión o sea 1 mg. de bac.

Cobayo No. 2.—Inyección subcutánea de 0.5 de la emulsión o sea 5 mg. de bac.

Cobayo No. 3.—Inyección subcutánea de 1 c.c. de la emulsión o sea 10 mg. de bac.

Cobayo No. 4.—Inyección subcutánea de 5 c.c. de la emulsión o sea 50 mg. de bac.

Cobayo No. 5.—Inyección subcutánea de 10 c.c. de la emulsión o sea 100 mg. de bac.

Cobayo No. 6.—Inyección subcutánea de 300 miligramos de bac., en solución concentrada.

El cobayo No. 6 después de la sexta semana se mostró abatido, con el pelo erizado y con muy poco apetito. Todos presentaron en el sitio de inculación un infiltrado duro que fué luego reduciéndose de tamaño por reabsorción lenta. En las autopsias practicadas después de la octava semana no se encontró en ningún cobayo, tubérculo alguno.

Cobayo No. 7.—Inyección intraperitoneal de 0,1 de la emulsión o sea 1 mlg. de bac.

Cobayo No. 8.—Inyección intraperitoneal de 0,5 de la emulsión o sea 5 mlg. de bac.

Cobayo No. 9.—Inyección intraperitoneal de 1 c.c. de la emulsión o sea 10 mlg. de bac.

Cobayo No. 10.—Inyección intraperitoneal de 5 c.c. de la emulsión o sea 50 mlg. de bac.

Cobayo No. 11.—Inyección intraperitoneal de 100 miligramos de bac. en sol. concentrada.

Cobayo No. 12.—Inyección intraperitoneal de 150 mlg. de bac. en solución concentrada.

Los cobayos inyectados con dosis de 1 mlg. de bacilos hasta 100 miligramos soportaron muy bien dichas dosis; no hubo hallazgos de tuberculosis en las autopsias practicadas después de la octava semana; solamente el No. 12, el inyectado con 150 mlg. de bacilos, murió a la cuarta semana; los resultados de su necropsia fueron también negativos en cuanto a la tuberculosis.

CONCLUSIONES

1o.—Los exámenes directos y los cultivos practicados con el contenido de las ampollas nos demuestran que estamos en presencia de un producto puro de bacilos ácido-resistentes que corresponden por su carácter morfológico a los bacilos de Friedmann. No hay contaminación alguna ni asociaciones con otros gérmenes.

2o.—Cultiva bien en los medios de Hohn-Lubenau, papa glicerina y Petraghani. De los diez a los doce días aparecen las primeras colonias, las que se presentan como puntuaciones irregulares blanco-amarillentas, opacas y después a los 21 días se obtienen bellas colonias de aspecto de granulaciones con relieves mamelonados.

3o.—Es una vacuna preparada con bacilos vivos.

4o.—Cobayos inoculados pudieron soportar dosis de 300 mlg. de bacilos de Friedmann por vía subcutánea y 150 miligramos por vía intraperitoneal sin producirseles en ellos ninguna manifestación tuberculosa (autopsias practicadas después de la octava semana).