

**MODIFICACION DE LOS CARACTERES MORFOLOGICOS Y
BIOLOGICOS DEL BACILO DE LOEFFLER AISLADO
DE ENFERMOS, CONVALECIENTES Y PORTA-
DORES SANOS. MEDIO DE CULTIVO ELEC-
TIVO: LENTO Y RAPIDO ***

Por el Dr. **EMILIO P. NAVARINI**,
de Rosario, Argentina; miembro correspondiente de la Academia

Trabajo de investigación

Con el objeto de estudiar y constatar la posible modificación de los caracteres morfológicos y biológicos del bacilo de Loeffler, aislado de enfermos, convalécientes, portadores sanos, preparamos el medio de cultivo de Clauberg con las modificaciones introducidas por Horgan y Marshall según se explica más adelante.

Hemos elegido el medio citado en mérito a las observaciones siguientes:

Teniendo en cuenta la dificultad de obtener un medio de cultivo para el diagnóstico bacteriológico de la difteria, que fuese de aislamiento electivo del bacilo de Loeffler de los demás gérmenes concomitantes y especialmente de los seudodiftéricos, es que dimos comienzo a la preparación de los variados medios conocidos; empleando las técnicas clásicas de los autores correspondientes. Ni el medio de cultivo biliar de Drigalsky y Bierast, ni el clásico medio de Loeffler de suero de caballo coagulado, ni el de Costa Troisier y Dauvergne con ácido sulfúrico, nos dieron los resultados esperados; no modifican la inconstancia de los resultados ni resuelven el problema de la diferenciación del bacilo diftérico de los seudodiftéricos. Pér-

* Trabajo reglamentario de turno, leído en la sesión del 14 de mayo de 1947.

gola demuestra en su "Nuovo método per la ricerca del bacilo diftérico" que en los medios a base de telurito se desarrollan mejor los bacilos Klebs-Loeffler, pues el telurito retarda el desarrollo de los pseudodiftéricos y por reducción a óxido de telurito da a las colonias de bacilos diftéricos un color negro de fácil observación. Clauberg en su medio a base de Agar—sangre—ascitis—telurito— llega a idénticos resultados, lo mismo que Horgan y Marshall, quienes simplifican la preparación del medio de Clauberg aumentando fuertemente la proporción del telurito, asegurando así un mayor retardo del crecimiento de los bacilos pseudodiftéricos.

Procedimos entonces a preparar estos medios y a su empleo sembrando pseudo-membranas, exudados amigdalinos y, en algunos casos, suspensiones de bacilos de Loeffler, llegando a la conclusión que de todos ellos el de Clauberg, modificado por Horgan y Marshall, desarrollaba mayor número de colonias de Loeffler. Nos familiarizamos luego con el citado método que controlamos largamente.

Los resultados comparativos sobre 93 observaciones directas y por cultivos, fueron:

Diagnóstico bacteriológico directo		Medio de Loeffler		Medio Drygas-ky y Bierast		M. Pégola		M. Clauberg Modif. Horgan y Marshall	
Posit.	Negat.	Posit.	Negat.	Posit.	Negat.	Posit.	Negat.	Posit.	Negat.
18	75	19	74	18	75	20	73	24	69

Las siembras comparativas fueron efectuadas empleando en cada caso el mismo material. Las observaciones se practicaron entre las 22 a 24 horas de incubación a 37°.

Por estos resultados se deduce que el medio de Clauberg, modificado según Horgan y Marshall, nos dió un porcentaje más alto de positividad para el desarrollo del bacilo de Loeffler.

Otro dato interesante que pudimos constatar es que en este medio las colonias de Loeffler se desarrollaron en número mayor que en los demás medios (este hecho lo hemos observado en 10 de los casos estudiados).

Además, en los medios con telurito, las colonias diftéricas se desarrollan con caracteres fácilmente identificables macroscópicamente, de los seu-

dodiféricos y gérmenes concomitantes; así, presentan aquellos un centro negruzco y un anillo periférico gris claro, mientras que las colonias de bacilos pseudodiféricos, en igualdad de tiempo de incubación, tienen un desarrollo menor casi la mitad de los anteriores y presentan un color oscuro, más claro y uniforme.

Élegido por todo ello el medio de cultivo procedimos a practicar en él las siembras (exudados amigdalinos, falsas membranas y suspensiones de bacilos de Loeffler).

En las colonias desarrolladas entre las 22 a 24 horas de incubación a 37° se estudiaron:

- a) Los caracteres morfológicos de los gérmenes.
- b) La virulencia de los mismos.
- c) La acción fermentativa de los hidratos de carbono.
- d) La resistencia al método de Gram.

La virulencia fué ensayada en cobayos de 250 a 300 gramos de peso. Método Tallo.

Con la fermentación de los hidratos de carbono, empleamos glucosa, levulosa, galactosa y sacarosa.

Con la resistencia al método de Gram seguimos la técnica de Langer-Krüger.

Analizando los caracteres morfológicos y biológicos de las cepas de bacilos de Loeffler desarrolladas y aisladas, se deduce que, según su origen, pueden modificarse tomando algunos caracteres biológicos que los aproximaría a los pseudodiféricos. Esta tendencia se ha notado en cepas aisladas de portadores sanos. Algunas cepas aisladas de convalescientes o enfermos conservan, después de cinco meses, inalterables su virulencia para el cobayo, no así las cepas aisladas de portadores sanos que lo hicieron hasta 30 días solamente.

La propiedad bioquímica de la resistencia al Gram es susceptible de modificarse también; así notamos que en gérmenes de cepas aisladas de portadores sanos la resistencia al Gram está disminuída.

En el cuadro que a continuación se detalla se encuentra un resumen de las experiencias efectuadas:

Núm. de Cepas	Origen	Morfología	Virulencia	Resistencia al Gram	Fer. Hid. Carb.			
					Gl.	L.	Ga.	S.
1	Enfermo de Difteria	Medianos	Mayor 5 meses	Buena	+	+	+	-
2	"	Medianos	" " "	Buena	+	+	+	-
3	"	Medianos	" " "	Buena	+	+	+	-
4	"	Largos	Cuatro meses	Buena	+	+	+	-
5	Convale- ciente	Cortos	Hasta 3 meses	Buena	+	+	+	-
6	"	Medianos	" " "	Buena	+	+	+	-
7	"	Medianos	" " "	Buena	+	+	+	-
8	Portador	Cortos	20 días	Disminuída	+	+	-	-
9	sano	"	8 días	Disminuída	+	+	-	-
10	"	Medianos	30 días	Disminuída	+	+	+	-

Con las cepas numeradas del 1 al 7 de bacilos diftéricos genuinos y toxígenos aislados por nosotros efectuamos siembras en el citado medio electivo, no constatando en ninguna desarrollo de las formas degenerativas cocoides descritas por Hormaeche en Montevideo y por Dale en Hamburgo y que suelen observarse en pasos sobre suero de Loeffler.

Los casos de portadores sanos (encontramos 3 de un total de 48 exámenes) pertenecían a niños de segunda infancia del Hospicio de Huérfanos de Rosario, que habían estado en contacto directo con el enfermo.

Método rápido por la identificación del bacilo de Loeffler

Para el diagnóstico bacteriológico precoz de la difteria hemos seguido los métodos que acortan los procedimientos del laboratorio:

- a) Investigación directa partiendo del frotis, y
- b) Empleo de un cultivo rápido.

Para practicar este último utilizamos indistintamente el método de Brahdny Lenarsky, Smith o el de Manzullo.

Para la práctica del primero empleamos los tubos de Brahdny, que son hisopos de algodón estéril impregnados en suero equino calentado ligeramente a fin de obtener coagulación superficial. Después de efectuado, según arte, el toque de la membrana sospechosa, se colocan los hisopos en tubos secos esterilizados, llevándose luego a la estufa a 37° durante tres a

cuatro horas. En seguida se prepara un frotis directamente del hisopo en porta objeto. Los resultados son óptimos a las cuatro horas de incubación.

Y para el de Manzullo empleamos su medio de cultivo procediendo así: con un hisopo estéril se toma el material a examinar y se sumerge en el tubo que contiene el medio; se incuba a 37° durante tres a cuatro horas; se examina a continuación el hisopo, pues en el caso de desarrollo de bacilos de Loeffler aparecen manchas negras en los sitios donde hay colonias. Se completa la observación frotando el hisopo en un porta-objeto que, luego de fijado el material, se aplica un Gram y observa al microscopio.

Conclusiones

1ª Para el diagnóstico bacteriológico precoz de la difteria hemos seguido los métodos siguientes:

a) Identificación directa partiendo del frotis.

b) Empleo de tubos Brahdý o método de Manzullo (ambos cultivo de cuatro horas).

2ª De los medios lentos empleados (24 horas de estufa) el de Clauberg modificado por Horgan y Marshall nos dió un porcentaje más alto de positividad. Además, el número de colonias desarrolladas de bacilos de Loeffler fué generalmente mayor, presentando las mismas características fácilmente identificables macroscópicamente con las de losseudodiftéricos, como se detalla en el trabajo.

3ª El telurio de potasio actúa como frenador del crecimiento de losseudodiftéricos y otras bacterias concomitantes.

4ª Es posible realizar el diagnóstico bacteriológico macroscópico de la difteria con el uso de medios de cultivo como los elegidos por nosotros.

5ª Analizando los caracteres morfológicos y biológicos de las cepas de los bacilos de Loeffler desarrollados y aislados, podemos deducir que según su origen pueden sufrir modificaciones que los aproximarían a losseudodiftéricos. Esta tendencia se ha notado en cepas aisladas de portadores sanos y no en las aisladas de enfermos o convalecientes.

6ª La propiedad bioquímica a la resistencia al Gram es susceptible de modificarse. Así notamos que en gérmenes de cepas aisladas de portadores sanos la resistencia al Gram está disminuída, observándose también variación en su virulencia (ver el resumen de las experiencias anotadas en el cuadro correspondiente).

BIBLIOGRAFIA

- Clauberg. *Centralb. f. Bakteriol.*, 1929. p. 536.
- Costa Troisier et Dauvergne. *Revue d'Hygiene et de Pol. San.* 1919.
- Drigalsky y Bierast. *Deutsche med. Woch.*, 1913.
- Langer y Krüger. *Deutsche med. Woch.*, 1916-17.
- Pergola. *Nuovo método per la ricerca del bacilo diftérico.* Roma, 1926.
- Martin et Loiseau. *Bull. de Med.* 1921. Nº 13.
- Dale J. *Centralb. F. Bakteriologie Bd.* 114.
- Cranwel. "Variations in single difteria bacilus" *J. Of Bacteriology T.* 2.
- Sordelli A. *Folia Biológica.* Sus trabajos sobre bacilos de Loeffler.
- Brahdy, Lenarsky, Smith. *Boletín de la Of. Sanit. Panam.* Pág. 857. Año 1935. Método rápido para la identificación del Bac. diftérico.
- Tallo F. "Sulla diagnosi batteriologica della difterite", 1932. Palermo.
- Manzullo A. Sus trabajos empleando telurito de potasio para el diagnóstico de B. Loeffler. *Folia Biológica.*