

LA INOCULACION INTRAPLEURAL EN EL DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS*

DR. GUILLERMO SANTOSCOY GÓMEZ

HASTA HACE algunos años el crecimiento del bacilo tuberculoso en los medios de cultivo era relativamente fácil si éste se hacía en la forma adecuada. El uso de los medicamentos actuales ha hecho que los bacilos tuberculosos sufran modificaciones biológicas tales, que el concepto bacteriológico actual ha variado en tal forma, que existen una serie de puntos que necesitan el asentamiento adecuado para poder ser valorado en su situación real.^{1, 2}

Entre otras cosas se ha definido que el tiempo de crecimiento del bacilo tuberculoso en los medios de cultivo actuales se ha retrasado enormemente,^{3, 4, 5} al grado que Canetti en los estudios realizados encuentra algunos cultivos positivos solamente hasta después de 130 días de incubación y predice que, en el futuro, habrá necesidad de conservar los cultivos en la estufa por cuatro o cinco meses a fin de demostrar la presencia del bacilo tuberculoso.

Salta a la vista, desde luego, la importancia que representa la dificultad actual para poner de manifiesto el bacilo tuberculoso en determinado tipo de enfermos.

Si la presencia de bacilos siempre ha sido un factor fundamental para considerar la actividad de una lesión, en la situación actual nos encontramos ante un problema en que las diversas técnicas bacteriológicas no nos pueden resolver de momento esta cuestión.

Esta situación puede ser debida primordialmente a que las propiedades biológicas de los bacilos tuberculosos, motivadas por la acción de los medicamentos modernos, han hecho o que las sustancias que componen los medios de cultivo no sean adecuadas para el crecimiento rápido del bacilo a que estábamos acostumbrados, o también que estos exigen nuevas condiciones que aun no conocemos.

La planteación de este problema es en enfermos ya diagnosticados con ante-

* Trabajo de ingreso a la Academia N. de Medicina, leído por su autor en la sesión del 11 de octubre de 1961, realizado con la colaboración de los Dres. Rubén Acevedo Ortega y Roberto Vázquez Pallares.

rioridad, es decir, aquellos en los cuales se había demostrado previamente el bacilo tuberculoso y que encontrándose en tratamiento, solamente se está haciendo el control de la bacteria.

Pero el problema es de mayor importancia cuando se trata de enfermos a quienes clínicamente se les hace por primera vez el diagnóstico de tuberculosis y que sin embargo, no se puede poner de manifiesto en forma más o menos rápida el bacilo tuberculoso. Al clínico le desagrada tener que decir a un enfermo que es tuberculoso, y no poder demostrar la presencia del bacilo en el esputo. Si se trata de un enfermo de riñón es desesperante tener que esperar dos meses o más para demostrar que existe dicha bacteria en la orina.

Este problema se ha venido agudizando en los últimos tiempos debido, como ya ha sido demostrado, a que los nuevos casos de tuberculosis han sido infectados por bacilos tuberculosos provenientes de enfermos crónicos y tratados intensamente, lo que ha motivado las variaciones biológicas del *mycobacterium*.¹³

En publicaciones anteriores hemos mencionado la serie de factores que intervienen para que una baciloscopía pueda resultar positiva cuando el número de bacilos que se encuentran en el esputo o contenido gástrico son en pequeña cantidad.⁶

La fluidez, viscosidad, densidad y tensión superficial del material por examinar, las podemos modificar a nuestra conveniencia siguiendo la multitud de técnicas descritas con el fin de aumentar las posibilidades de encontrar el bacilo tuberculoso.^{7, 8, 9, 10}

Si nosotros además de buscar el bacilo tuberculoso por simples métodos baciloscópicos practicamos el cultivo y la inoculación en el cobayo, encontraremos que podemos mejorar las posibilidades de obtener una positividad en un por ciento más elevado; sin embargo, esto lo logramos a expensas de esperar un tiempo relativamente largo y en algunas ocasiones hasta desesperante.

Abello¹¹ considera que la cavidad pleural tiene mejores condiciones que la cavidad peritoneal para que en ella se implante un estado inflamatorio producido por una infección tuberculosa y que además su riqueza linfática bien conocida, hace que se establezca más rápidamente la generalización de esta infección.

Insiste Abello que este tipo de inoculación tiene además la ventaja de un posible control radiográfico, ya que en las radiografías de los cobayos se puede observar muy precozmente en la cavidad pleural infectada la existencia de líquido, aun cuando éste sea en pequeña cantidad. En este líquido crecen los bacilos con mucha facilidad.

Inspirados en estas ideas y teniendo siempre en mente el problema de definir la presencia del bacilo tuberculoso, no sólo en el individuo sospechoso de tuberculosis sino también en aquellos casos de enfermos bajo tratamiento adecuado, decidimos estudiar esta técnica de inoculación intra-pleural en el cobayo, tratando con ello de obtener un acortamiento del tiempo de espera para realizar

el diagnóstico bacteriológico. Los resultados iniciales que obtuvimos en este estudio y que reportamos en una comunicación preliminar anterior¹² nos hicieron continuar este estudio ya que éstos fueron sumamente interesantes. En esta comunicación reportaremos las observaciones que logramos fundamentalmente relacionadas con las localizaciones posteriores a la inoculación intrapleural.

MATERIAL Y MÉTODO

Utilizamos esputos de enfermos internados en el Hospital de Zoquiapan cuya tuberculosis había sido plenamente demostrada por la observación del bacilo tuberculoso en el esputo. Todos los enfermos habían sido tratados adecuadamente siguiendo la rutina de este hospital. Se seleccionó un caso que había sido tratado intensamente y cuyas cepas de *mycobacterium* presentaban resistencia a la isoniácida.

El esputo fue emulsionado con una solución de penicilina, posteriormente centrifugado y el sedimento utilizado como inóculo.

La técnica de inoculación fue muy sencilla: fue razurada la piel del cobayo haciendo la desinfección adecuada del animal. La punción se hizo con aguja Nº 21 en algunos de los primeros espacios intercostales. Comprobándose que se encontraba en el espacio pleural, en la forma bien conocida, se inyectó lentamente el material de inoculación, y desde el 3er. día se estuvo haciendo control fluoroscópico 3 veces por semana.

Convencionalmente se tomaron radiografías antero-posterior de tórax, los cobayos fueron sacrificados después de la inoculación en tiempos que variaron de los 10 a los 30 días.

En las autopsias realizadas se practicaron baciloscopías del líquido pleural, del raspado pleural al nivel del foco primario y de los ganglios mediastinales, cuando estos se pudieron localizar.

Se hizo estudio anatomopatológico de pleura, pulmón, ganglios, bazo, hígado y riñón.

RESULTADOS

Con el estudio fluoroscópico no se pudieron obtener datos concluyentes. En algunos cobayos se tuvo sospecha de observar una inflamación basal pleural del lado inoculado, quizá una pequeña cantidad de exudado y una disminución de la movilidad de ese hemitórax. Probablemente con la experiencia que se puede ir adquiriendo en la observación fluoroscópica de estos pequeños animales podamos más tarde obtener resultados más certeros.

En las placas radiográficas pudimos observar sombras de tipo neumónico en hemitórax del lado de la inoculación, sombras de tipo infiltrativo en la base y en algunos cobayos en el vértice, todo esto en los cobayos que se observaron después de dos semanas de la inoculación.

En algunos de ellos se observaron sombras que quizá pudieran interpretarse como un proceso inflamatorio pleural.

Todos estos datos radiológicos no nos han dejado satisfechos en cuanto a su interpretación y quizá actuamos con ideas preconcebidas en lo que pensamos íbamos a observar en este tipo de estudio, influenciados por los optimistas reportes radiológicos de Abello, por lo que no coincidimos con él, en cuanto a la facilidad de realizar el diagnóstico radiológico.

En el estudio bacterioscópico practicado con el material obtenido por el raspado pleural, encontramos en la gran mayoría de los cobayos un número de bacilos alcohol ácidosresistentes variable según el tiempo transcurrido desde la inoculación, siendo estas baciloscopías positivas desde la iniciación de la 2ª semana.

Se hicieron frotis de fracciones de pulmón y en este material siempre se obtuvieron resultados negativos.

Por último, en algunos de los cobayos después de la 2ª semana se encontraron ganglios mediastinales con aspecto macroscópico sospechoso, fueron triturados y con el material se hicieron frotis, los cuales en todos los casos mostraron el bacilo tuberculoso. En algunos cobayos se encontraron ganglios adheridos al diafragma cuya baciloscopia fue positiva.

Los cultivos realizados con este material resultaron positivos al mycobacterium tuberculoso.

El estudio histopatológico realizado con el material obtenido de la autopsia de los cobayos nos mostró los siguientes datos:

Foco primario. Las lesiones encontradas fueron muy variables siendo más notorias en los cobayos sacrificados después de las 4 semanas; dicho foco algunas veces llegó a tener el tamaño de un frijol, fácilmente enucleable y de color amarillento. En la superficie en el plano de sección, sobre el color amarillento destacaban pequeños focos blanquecinos friables, correspondiendo estas lesiones a imágenes histológicas con necrosis caseosa rodeada por polimorfo-nucleares y macrófagos tipo epiteliode.

Pulmón. Dentro de las dos semanas después de la inoculación se encontró una imagen histológica normal. De la 3ª semana en adelante encontramos edema y congestión vascular con engrosamiento de los tabiques, los cuales estaban infiltrados por células redondas; además, en todos los casos se encontraron focos de neumonitis peribronquial constituida por infiltración de macrófagos, linfocitos, numerosos hematíes y raros polimorfonucleares.

Pléura. Predominaron los fenómenos de congestión vascular con extravasación de hematíes, observándose focos de linfocitos en los cuales existen algunas veces macrófagos tipo epiteliode.

Ganglios. Se encontraron pequeños focos de elementos epitelioides y, a partir de la 3ª semana, zonas de necrosis caseosa rodeada por este mismo tipo de macrófagos.

Antes de las 8 semanas prácticamente no se observó hiperplasia ganglionar del mediastino, en tanto que este fenómeno sí fue posible encontrarlo en los ganglios mesentéricos. En estos mismos ganglios, en los cobayos sacrificados después de las 10 semanas, se encontró gran parte de la superficie ganglionar substituida por una substancia blanquecina de aspecto lechoso que correspondió histológicamente a focos de necrosis rodeados de polimorfonucleares y células epitelioides.

Bazo. Desde iniciada la 2ª semana hasta los dos meses se encontraron macroscópicamente nódulos blanquecino, aumentando el número de ellos conforme el tiempo transcurrido.

Estas lesiones se presentaron como pequeñas manchas amarillentas con diámetro variable de 1 a 4 mm. en el plano de sección se observó que por lo general eran superficiales y daban la impresión de pequeñas gotas de cera resaltando claramente sobre el color rojo vinoso del bazo. Este mismo fenómeno se observó en el hígado pero tan sólo en los cobayos que fueron sacrificados después de las 8 semanas de observación.

Riñones. No se encontraron lesiones a las 10 semanas de observación.

COMENTARIO

De los resultados obtenidos de esta experiencia hemos logrado tener datos que nos autorizan a considerar en este procedimiento grandes posibilidades de estudio futuro y que de hecho estamos continuando.

El aspecto radiológico nos da datos que deben ser tomados con muchas reservas dadas las condiciones especiales de este método de estudio y sin que puedan ser definitivamente útiles. Las baciloscopías que encontramos sistemáticamente positivas en el raspado pleural del hemitórax inoculado, nos hacen pensar en forma casi concluyente que los bacilos tuberculosos inoculados encontraron un campo propicio para su desarrollo y de hecho así ocurrió. El encontrar por este mismo método bacterioscópico el bacilo en los ganglios mediastinales, nos demuestra la rapidez con que la invasión de la infección se realiza, hecho que no encontramos semejante cuando la inoculación es realizada por vía peritoneal y menos aún por vía subcutánea.

Por los hallazgos histológicos puros se puede sospechar la existencia de una reacción inflamatoria, de probable origen tuberculoso, aunque los elementos para dicho diagnóstico no son patognomónicos debido al corto tiempo transcurrido entre la inoculación y el sacrificio de los cobayos. Las lesiones del bazo, de los ganglios e hígado son más concluyentes dado que se encontró necrosis caseosa reciente y presencia de elementos epitelioides alrededor de las mismas.

Por todo ello podemos concluir que la inoculación por vía intrapleural produce acúmulos precoces de células epiteliales en el bazo. Lesiones exudativas

precoces en las pleuras, encontrándose gran número de bacilos. En los ganglios se encontró un poco más tardíamente necrosis caseosa con macrófagos epitelioides. Finalmente y en una forma más tardía podemos considerar la producción de una neumonía y neumonitis inespecífica.

En síntesis, si analizamos nuestros hallazgos con criterio clínico, bacteriológico y anatomo-patológico podemos afirmar que las lesiones son producidas por el bacilo tuberculoso. Estas lesiones resultan ser sumamente interesantes, ya que por la cortedad del tiempo transcurrido desde la inoculación hasta el momento de la observación hace que estas lesiones sean realmente incipientes.

Estos hallazgos, macro y microscópicos, nos han confirmado las ideas que nos sugirieron los resultados de nuestra comunicación preliminar y que nos hicieron pensar que las lesiones fundamentales estarían localizadas en el bazo, hecho que confirmamos por la precocidad de aparición de las lesiones, por la mayor cantidad de ellas en este órgano y finalmente por su mayor extensión.

Nos parece que de estas observaciones podemos concluir que el método de inoculación intrapleural en el cobayo para el diagnóstico de la tuberculosis nos será sumamente útil, fundamentalmente por la rapidez con que podemos hacer el diagnóstico. En nuestro optimismo por los resultados obtenidos no olvidamos que sabemos de antemano tienen bacilos tuberculosos, es decir, que hacemos inoculación con cantidades más o menos apreciables de esta bacteria y que trae por consecuencia que la infección en el cobayo se desarrolla con mayor facilidad.

Cuando llegemos a usar material de inoculación proveniente de enfermos sospechosos de tuberculosis pero no confirmada aún, es decir, paubacilares ¿obtendremos resultados tan precoces como estos que reportamos? ¿Qué vía de diseminación siguen estos bacilos para desarrollar lesiones en el bazo, más precoces que cuando son inoculados por vía intraperitoneal?

No cabe duda que estas respuestas y otras más que han surgido de los resultados obtenidos de esta experiencia, sólo las podremos tener continuando las observaciones que de hecho ya estamos haciendo. Pero ojalá esta comunicación pueda despertar el interés de los que trabajan en esta rama de la bacteriología, a fin de que estos estudios puedan ser ampliados y con ello podamos llegar a resultados y conclusiones prácticas y útiles en el control de la tuberculosis.

REFERENCIAS

1. Besta, B.: *Mecanismo D'Azione dei chemio-antibiotici antitubercolari e resistenza ad essi del bacilo di Koch*, *Recenti progressi in medicina* 23: 3, 1957.
2. Runyon, E.: *Recent clinical studies in the United States on atypical acid-fast bacilli* *Rapports XV Conference Internationale de la Tuberculose*, Tome 1 Vol. XXIX, Octubre 1959.
3. Canetti, G. y Grosset, J.: *Positivación tardiva de culturas de bacilos tuberculeux: ses rapports avec "isoniazido resistance"*, *Rev. de la Tuberc.* 20:12, 1956.
4. Santoscoy, G.: *Aspectos bacteriológicos en la resección por tuberculosis*, *El Médico* 4:83, 1954.

5. Abello, J.: *Diagnóstico del bacilo de Koch empleando la infección y reinfección de la pleura de los animales*. Rev. Esp. Tuberc. 29:304, 1960.
6. Santoscoy, G.: *A propósito de algunas técnicas en el diagnóstico bacterioscópico del bacilo tuberculoso*. (Uso de sustancias tensio-activas). Rev. Esp. de Tuberc. 247: 475, 1955.
7. Pegni, U.: *A proposito di una modificata alla tecnica del frimigelica per la ricerca dei bacilli tubercolari negli escreti*, Gior. Med. Tisiol. 1953, 281, 3.
8. Gradwohl, R. B. H.: *Clinical laboratory methods and diagnosis* I:321, 1948.
9. Dumas, J.: *Bacteriologie medicale*, 587, 1953. Flanmarion Edit.
10. Frimigelica, C.: *Un nuovo metodo di arricchimento per la ricerca del bacilo di Koch*. Policlinico I:726, 1932.
11. Gale, D. y Lockhart, E. A.: *A rapid mouse test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis*. Am. Rev. Resp. Dis. 81:715, 1960.
12. Santoscoy, G., Aceves, R., Vázquez Pallares R.: *Inoculación intrapleural en el diagnóstico de la tuberculosis*. (Comunicación preliminar) Rev. Mex. Tuberc. Vol. 22 (1-2), 1961.
13. Meissner G., Hobby G. L., Canetti G., Stephanopoulos C.: XVI Conferencia Internacional de Tuberculosis, Toronto, Canadá. Sept. 1961.

COMENTARIO AL TRABAJO DE INGRESO DEL DOCTOR
GUILLERMO SANTOSCOY GOMEZ INTITULADO
"LA INOCULACION INTRAPLEURAL EN EL
DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS"*

DR. GERARDO VARELA

LA TUBERCULOSIS continúa siendo una de las principales causas de morbilidad, incapacidad y mortalidad y aunque la tasa de muertes ha disminuido, ha sido menor la declinación del número de casos.

Anteriormente los organismos internacionales ocupados en la salud, se preocupaban en prestar colaboración en las campañas de vacunación con BCG, pero en estos últimos años ha cambiado la orientación y los esfuerzos se hacen actualmente en mejor aplicación de la quimioterapia y de la quimioprofilaxis que figuran como las principales medidas de Salud Pública contra la tuberculosis. El uso de estos métodos ha creado problemas en el cultivo del bacilo de la tuberculosis partiendo del esputo especialmente cuando se trata de la isoniazida que se acumula en la saliva. Entre nosotros Bojalil ha encontrado aproximadamente 1 a 3% de resistencias pero parece que en otros países es mayor.

El cultivo del bacilo tuberculoso aumenta en mucho las posibilidades del diagnóstico, comparado con la simple baciloscopía. Por tratarse generalmente de una enfermedad crónica bien puede esperarse alrededor de un mes el desarrollo del cultivo, especialmente cuando son enfermos que han estado bajo tratamiento. En los casos de meningitis tuberculosa el diagnóstico es apremiante, y cuando no se encuentra el germen al examen directo son los datos químicos los que hacen sospechar la etiología, para establecer desde luego la terapéutica, en espera de completar los estudios.

En nuestros laboratorios el uso de medios de cultivo para el diagnóstico de la tuberculosis ha resultado más barato, más fácil de manejar, requiere poco espacio y no tiene el inconveniente del manejo de animales de laboratorio, con

* Leído el 11 de octubre de 1961.

el peligro de que tengan infecciones secundarias durante la observación. La Organización Mundial de la Salud suministra en sus campañas sanitarias un medio liofilizado, el medio de Sula, que es muy fácil de usar y el bacilo crece mejor y más rápidamente que en el medio de Lowenstein. Puede enviarse a un laboratorio especializado para su incubación y estudio. Sólo recomienda la inoculación para los laboratorios centrales bien organizados.

Es de alabar el interés del Dr. Santoscoy para buscar métodos más sensibles que los usuales, utilizando su larga experiencia en el estudio del bacilo de la tuberculosis. Por otra parte, la inoculación intra-pleural usada por el Dr. Santoscoy puede servir para seguir la diseminación del bacilo cuando se inoculara por esta vía y nos dará datos de la sensibilidad y tipo de reacción de la pleura, cuando se le inoculara directamente con diversas cepas de bacilos de la tuberculosis.

Es también interesante saber cuándo se establece la reacción de la tuberculina en este tipo de inoculación.