

NUEVA TECNICA PARA EL ESTUDIO AUXANOGRAFICO DE LAS LEVADURAS

Por P. NEGRONI y C. BRIZ DE NEGRONI

En el año 1949, uno de nosotros publicó, en colaboración con C. A. N. Daglio, el resultado de la aplicación de las técnicas utilizados corrientemente en la titulación de los antibióticos en el estudio auxanográfico de los hongos levaduriformes, comparándolos con el método clásico de Beijerinck.

El método de los anillos de Oxford fué escogido para la determinación del auxanograma de las fuentes de carbono y el de los discos de papel de filtro de Vincent y Vincent para el de las fuentes de nitrógeno por proporcionar, en general, resultados más nítidos y permitir el empleo de soluciones esterilizadas de las fuentes mencionadas. Sin embargo, en el estudio recientemente efectuado de las levaduras vínicas de Mendoza hemos tropezado, frecuentemente, con dificultades en la lectura del auxanograma de las fuentes de carbono, lo cual nos movió a ensayar nuevas técnicas que dieran mejores resultados. Estos ensayos cristalizaron en la técnica que exponemos a continuación, especialmente aplicable cuando se estudian muchas cepas.

Técnica utilizada

Se preparan uno o varios lotes de 6 cajas de Petri cada uno, según el número de cepas en estudio, conteniendo el medio utilizado por Lodder para el auxanograma de las fuentes de carbono y los siguientes azúcares que se adicionan en la proporción de 1 % en el momento de verter el medio fundido en la caja correspondiente: glucosa, galactosa, maltosa, lactosa, sacarosa y rafinosa.

El medio de cultivo tiene la siguiente composición:

Sulfato de amonio	0,5 g.
Fosfato monopotásico	0,1 g.
Sulfato de magnesio (7 H ₂ O)	0,05 g.
Agar lavado	2 g.
Agua destilada c. s. p.	100 cc.

Las soluciones de azúcares se preparan al 10 % y esterilizan aparte por filtración. Cada caja de Petri lleva, pues, un azúcar diferente.

Suspensión de las levaduras en estudio: de cultivos frescos, de 2 a 4 días de incubación lavándolas tres veces con solución salina isotónica y preparando una suspensión final de una opacidad correspondiente a la del n° 6 de la escala de MacFarland.

Discos de papel de filtro: Se lavan con agua destilada las hojas de papel de filtro en tres baños consecutivos de una hora cada uno, dejándolas secar, finalmente, en la estufa de 37°C.

Los discos se cortan utilizando un sacabocados bien afilado de 8 mm. a 1 cm. de diámetro, se los coloca en una caja de Petri y esterilizan a 120°C media hora.

La caja de Petri con el medio de cultivo se la deja secar entreabierta en la estufa de 37°C para evitar que la humedad disperse la siembra que se efectúa a continuación. Para esta operación se toma con una pinza flameada una rodaja de papel de filtro, se la impregna en la suspensión de la levadura en estudio escurriéndola en las paredes del tubo para evitar el exceso de líquido y se la deposita en la parte media de uno de los cuatro sectores en que ha sido dividido con trazos de lapiz graso el fondo de la caja.

Cada lote de 6 cajas de Petri con sendos azúcares, pueden, pues, utilizarse para el estudio auxanográfico de 4 cepas. Se las incuban a 28-30°C y se efectúan las lecturas a las 48 horas y a los 6 días.

Resultados. — Las fotografías que ilustran este trabajo permiten apreciar la nitidez y facilidad de las lecturas. Probablemente el papel de filtro sirva de soporte y facilite del desarrollo de las cepas. En ningún caso hemos adicionado vitaminas.

En 17/25 cepas estudiadas, el método nuevo dió resultados superiores el método corriente y en 8/25 más o menos coincidentes.

Con el nuevo método se obtiene, frecuentemente, un resultado positivo débil o franco, en tanto que es negativo con el método corriente, especialmente con los siguientes azúcares: galactosa, lactosa y rafinosa.

Summary. — We have successfully employed filter paper discs soaked in yeasts' suspensions in the C-auxanographic study. One Petri dish is employed for each carbon source. Its bottom is divided in 4 sectors to be tested for the corresponding yeasts' strains which develop on the surface of the solid culture media when the sugar is assimilated.

BIBLIOGRAFIA

- CROFT, C. C. and Black, L. A. — *J. Lab. & Clin. Méd.* 23, 1248, 1936.
- DIDDENS, H. — und Lodder, J. II. Teil Die anaskosporogene Hefen. N. V. Noord-Hollandsche Uitgevers Maatschappij, Amsterdam, 1942.
- KLIGMAN, A. M. — *J. Invest. Dermatol.*, 14, 175, 1950.
- LANGERON, M. ET GUERRA, P. — *Ann. Parasitol.*, 16, 36-162-450-481, 1938.
- LODDER, J. — Die anaskosporogenen Hefen. N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij, Amsterdam, 1934.
- LODDER, J. AND KREGER. — van Rij, N. J. W. — *The Yeasts. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1952.*
- MACKINNON, J. E. — *Zimologia médica. Impr. "El siglo ilustrado". Montevideo, 1946.*
- MARTIN, D. S. AND AL. — *J. Bact.*, 34, 99, 1937.
- MILLER, G. AND ASCHNER, M. — *J. Gen. Microbiol.*, 6, 361, 1952.
- NEGRONI, P. Y DAGLIO, C. A. N. — *Rev. Inst. Bact. "Malbrán"*, 14, 311, 1949.
- REDAELLI, P. AND CIFERRI, R. — *Zentrald. f. Bakt.*, 78, 40, 1929.
- STELLING-DEKKER, N. M. — Die sporogenen Hefen. Uitgave van Koninklijke Akad. van Wetenschappen te Amsterdam, 1931.
- WICKERHAM, L. J. AND RETTGER, L. F. — *J. Trop. Med.*, 42, 174-187-204, 1939.
- WILLIAMS, T. I. — *Nature*, 161, 19, 1948.

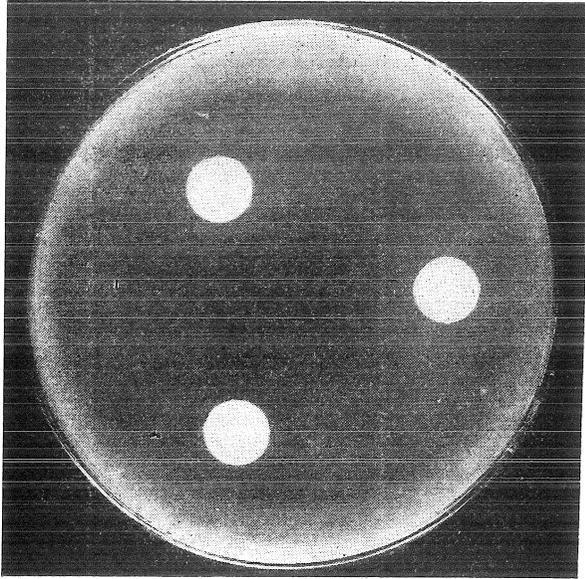


Fig. 1. — Método auxanográfico de Negróni y Daglio con glucosa, maltosa y lactosa empleando la cepa 74.

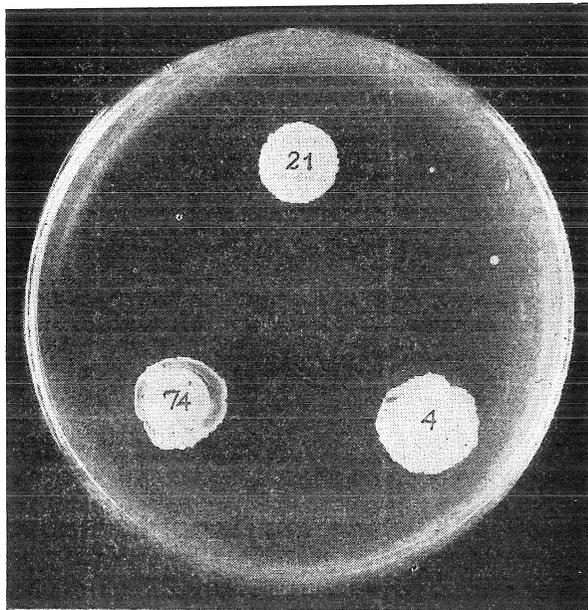


Fig. 2. — El nuevo método auxanográfico con maltosa, empleando las cepas nº 21, 74 y 4.