

# Folia Biologica

Publicación del personal técnico del Instituto Bacteriológico  
del Departamento Nacional de Higiene

Dirección y Administración: VELEZ SARFIELD 563

Folia Biol. - Buenos Aires, Mayo-Junio-Julio-Agosto 1938 - N<sup>o</sup>s 86-87-88-89

## TRABAJOS ORIGINALES

### Nuevo método para el cultivo del *Corynebacterium diphtheriae* y nuevo método para el diagnóstico de la difteria del hombre\*

Por ALFREDO MANZULLO

Durante la realización de un plan de investigaciones acerca del diagnóstico bacteriológico de la difteria, formulado por el Prof. ALFREDO SORDELLI, he ensayado, con buen éxito hasta ahora, un nuevo método de cultivo (cuyo *modus operandi*, composición del medio nutritivo usado y resultados conseguidos detallado en el párrafo II) y he precisado un nuevo método de diagnóstico de la difteria del hombre, *in vivo* e *in situ*.

#### I. ANTECEDENTES

El diagnóstico bacteriológico de la difteria del hombre, cuyos resultados permiten asegurar el uso apropiado de la terapéutica específica, está principalmente basado en el cultivo del material recogido de las lesiones sospechosas.

El medio de cultivo usado para tal fin debe satisfacer las dos condiciones esenciales siguientes: a) facilitar el rápido crecimiento del *C. diphtheriae*, y b) retardar o impedir el desarrollo de los bacilosseudodiftéricos y el de otras bacterias coexistentes.

El medio de Loeffler — suero de caballo coagulado en pico de flauta — aunque es el más antiguo (1884) y el de uso más generalizado, aún hoy día, sólo satisface parcialmente las condiciones enunciadas, pues si bien en él desarrollan con cierta rapidez — 18 horas — los *C. diphtheriae*, carece en cambio de suficiente selectividad como para retardar el crecimiento de los bacilosseudodiftéricos. Por eso, en realidad, todos los trabajos posteriores sobre este mismo asunto consisten en modificar, más o menos fundamentalmente, la com-

\* El A. agradece a J. J. FERRARI y J. A. ZUCCARINI el concurso prestado en este trabajo, y queda igualmente reconocido a los Dres. CARLOS PICO, RAÚL VACCAREZZA, JOSÉ PERONCINI, JOSÉ MARÍA LESTON, GUIDO POLLITZER, JUAN CARLOS REY y CORNELIA DA RIN, respectivamente Director, Jefes de Sala y Médicos Internos del Hospital F. J. Muñiz, quienes facilitaron el material estudiado en estas investigaciones y efectuaron el indispensable estudio clínico correspondiente a cada caso examinado.

II. NUEVO MÉTODO PARA EL CULTIVO DEL  
*Corynebacterium diphtheriae*

Iniciado el trabajo para cumplir el ya citado plan de investigaciones, utilizando para ello el método de Horgan y Marshall, muy pronto consideré oportuno ensayar la modificación siguiente:

A. *Composición del medio de cultivo*: A 15 cm<sup>3</sup> de caldo de carne preparado con peptona Parke Davis, y esterilizado, se añade 1,5 cm<sup>3</sup> de solución acuosa 2,5 % de telurito de potasio (preparada sin calentar y no esterilizada) y 1,5 cm<sup>3</sup> de sangre desfibridada de bovino, recogida asépticamente, resultando una concentración final de telurito igual a 0,16 %.

Esta mezcla, hecha en el momento de usar el medio de cultivo, se reparte asépticamente en tubos de ensayo (2 cm<sup>3</sup> en cada uno).

B. *Modus operandi*. El hisopo esterilizado y cargado con material sospechoso es sumergido en el tubo que contiene el medio de cultivo, colocándolo inclinado para asegurar la mayor superficie de aereación posible. Luego se incuba a 37°C.

Después de una permanencia de 3 horas a esta temperatura se examina el hisopo, el cual en el caso de existir desarrollo de *C. diphtheriae* presenta manchas negras en los sitios donde hay colonias de estas bacterias.

De todos modos, haya o no ennegrecimiento, se confecciona siempre un preparado, frotando el hisopo sobre la superficie de un portaobjeto. Una vez secada y fijada a la llama, esta preparación se tiñe con el método de Gram y se observa con lente de inmersión de aceite de cedro.

Resultados : Con este método fueron investigados 100 exudados faríngeos, obteniéndose los resultados siguientes:

TABLA I

	1. Investigación bacteriológica con el nuevo m. de cultivo	2. Diagnóstico clínico	3. Número de casos
Coincidencia	—	—	51
	+	+	43
Discordancia	+	—	5
	—	+	1

Estos resultados bacteriológicos positivos fueron así considerados sólo después de haberlos corroborado por las pruebas de fiscalización siguientes: 1º resiembra del desarrollo bacteriano producido en el hisopo en medio nutritivo de Horgan y Marshall, distribuido en placa, y 2º inoculación a 2 cavia del desarrollo bacteriano obtenido en la placa, suspendido en 5 cm<sup>3</sup> de solución fisiológica al 0,85 % (1 cavia inyectado por vía subcutánea con 1 cm<sup>3</sup> de esta

Quedaba así precisado un nuevo método de diagnóstico *in vivo* e *in situ* de la difteria del hombre, al personal y directo alcance del médico práctico.

Ahora bien, la ejecución del *método del toque con telurito* debe ajustarse a la pauta siguiente:

*Solución empleada:* telurito de potasio al 2 % en agua destilada, disuelto a una temperatura menor de 40°C. Esta solución no debe emplearse después de los 30 días de preparada.

*Instrumental:* hisopo de algodón empapado en la solución de telurito al 2 %.

*Modus operandi:* Con el hisopo mojado en telurito tocar el exudado faríngeo cuya naturaleza se quiere investigar. No debe tocarse con el hisopo la lengua del examinado, pues en condiciones normales la mucosa de este órgano es la única parte de la boca que se ennegrece con el telurito.

*Lectura:* a los 5-10 minutos de haberse practicado el toque, se observa el ennegrecimiento del exudado faríngeo cuando es de naturaleza diftérica. De no ser así su color queda inalterado.

*Falsas reacciones:* Cuando antes de practicar el toque con telurito se haya aplicado sobre el exudado faríngeo un tónico de azul de metileno o el enfermo haya hecho buches con agua oxigenada o soluciones de ácido tánico, se producen falsas reacciones que no se repiten desde el momento que cesa la acción de los fármacos indicados.

*Resultados:* Con el método del toque con telurito he examinado 75 enfermos con exudado faríngeo y su resultado es el siguiente:

TABLA II

	Método del toque con telurito	Investigación bacteriológica <sup>1</sup>	Diagnóstico clínico	Número de casos
Coincidencia	+	+	+	35
	-	-	-	34
Discordancia	+	+	-	2
	-	+	-	1
	-	-	+	1
	-	+	+	2

<sup>1</sup> Realizada con el nuevo método de cultivo descrito en la pág. 368 y fiscalizada con las pruebas indicadas en las págs. 368 y 369.

## BIBLIOGRAFÍA

- LOEFFLER, F. 1884. Mitt. a. d. Kais. Ges. Amt. 2 pág. 462 (cita transcripta de KOLLE, KRAUS u. UHLENHUT, 3ª edición del *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* de KOLLE y WASSERMANN. 5 (1): 520. G. Fischer u. Urban & Schwarzenberg. 1928.
- SAKHAROFF, M. N. 1892. *Ann. I. Pasteur.* 6 (6): 451-452.
- SOLÉ, A. 1954. *Wien. Klin. Wochenschr.* 47 (1): 713:714.
- BRAHDY, M. B.; BRODY, H.; GAFFNEY, A.; LENARSKY, M. J., y SMITH, L. W. 1954. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 32 (3): 548-551.
- CONRADI, H., y TROSCHE, P. 1912. *Munch. med. Wochenschr.* 59 (30): 1.652-1.653.
- PERGOLA, M. 1918. *Annali d'Igiene.* 28 (3): 101-110.
- DOUGLAS, S. R. 1922. *The British Journal of Experimental Pathology.* 3 (6): 265-268.
- SIERAKOWSKY, S. 1924. *C. R. de la Soc. Biol.* 90: 599-600.
- CLAUBERG, K. W. 1920. *Zbl. Bakter.* I Orig. 120 (5/6): 324-327.
- ANDERSON, J. S.; HAPPLD, J.; MC LEOD, W., y THONSON, J. G. 1951. *Journ. Path. a. Bact.* 34 (5): 667-681.
- HORGAN, E. S., y MARSHALL, A. 1932. *The Journ of Hyg.* 32 (4): 544-549.
- GOSIO, B. 1906. *VI Congresso Internazionale di Chimica Applicata.* 5: 151-155.