

PAPELES Y DOCUMENTOS PARA LA HISTORIA DE LA MICROBIOLOGIA

Instituto del Estado para la preparación del suero antidiftérico
Director: Prof. R. PALTAUF

ACERCA DE LAS REACCIONES ESPECIFICAS PROVO- CADAS POR SUERO HOMOLOGO EN LOS FILTRADOS, EXENTOS DE GERMENES, DE CULTIVOS DE COLERA, TIFUS Y PESTE EN CALDO ¹

por el doctor RODOLFO KRAUS
Asistente del Instituto

Issac e Ivanoff, Gruber y Durham, Pfeiffer nos han dado a conocer con la aglutinación una reacción que posee extraordinaria importancia para la bacteriología médica.

El principal valor de esta reacción reside en su exactitud, que no va en zaga a la de una reacción química.

Esta reacción, que demuestra la especificidad de los microorganismos patógenos, es además el punto de partida de una nueva sistemática en la bacteriología y el fundamento del suerodiagnóstico.

Pero, si los trabajos posteriores han confirmado el valor práctico de esta reacción, en cambio, nuestro conocimiento de la esencia del proceso de aglutinación no ha sido muy ampliado desde su descubrimiento. En un principio Gruber supuso que bajo la influencia del suero específico, las cubiertas de las bacterias se reblandecen, se hacen glutinosas y por las superficies viscosas se conglutinan. Para Gruber el reblandecimiento facilitaría el ataque de los microbios por las substancias bactericidas del organismo.

La suposición de Gruber no ha sido comprobada íntegramente. A pesar de que en los últimos tiempos Roger ² logró observar un reblandecimiento del *Oidium albicans* bajo la influencia del suero, este A. no pudo encontrar en el tífus las alteraciones admitidas por Gruber, pues los bacilos aglutinados se colorean bien, no muestran alteraciones de forma y sus flagelos pueden teñirse. Los bacilos aglutinados también pueden cultivarse.

Bordet ³ admite que la aglutinación es un proceso que podría explicarse por la atracción molecular.

La aglutinación ha sido considerada hasta ahora como una función vital de los microorganismos y se creía que el suero sólo podría actuar sobre las bacterias vivas.

Widal ⁴ fué el primero en demostrar que la reacción se verifica también con bacterias muertas.

¹ Publicado en el Wiener klinische Wochenschrift, X (92): 736 y siguientes. Ver comunicación previa, leída en la k. k. Gesellschaft der Aerzte, el 30 de abril de 1897. Wiener klinische Wochenschrift. Tomo X. Nº 18, pág. 431, Wien 1897.

² Roger. Revue gén. des sciences, 1896.

³ Bordet. Annales de l'Institut Pasteur, Nº 4, 1896.

⁴ Widal. La Semaine Med., Nº 5, 1897.

Los
in vitro
bacteria
El
dos sig
práctica
Mi
El
tación
el pun
Lo
teriano
reaccio
La
Po
tos de
Es
La est
directa
U
diferer
caban
T
Lo
formán
este se
El
te o e
ción.
grand
refiere
taño,
a sed
F
mica
teínas
aque
F
inves
los c
/
cabra
de c
obser
adici
tame
inves
dos e
lugar
rado
espe
subs
tos

Los bacilos tíficos, muertos a 56°, pueden ser precipitados y aglutinados *in vitro* por el suero antitífico de un modo tan típico como los vivos. Las bacterias muertas a elevadas temperaturas no son apropiadas para la reacción.

El hecho de que también los bacilos tíficos muertos pueden ser aglutinados significa un real progreso para la teoría de la aglutinación y para la práctica del suerodiagnóstico.

Mis observaciones sobre tífus y cólera confirman los hallazgos de Widal.

El hallazgo de Widal y el descubrimiento de E. Buchner⁵ sobre fermentación con "Zymase" (líquido obtenido de la levadura por alta presión), son el punto de partida para los experimentos referidos más adelante.

Lo expuesto sugiere la idea de que también las soluciones de cuerpos bacterianos, lisados de cualquier manera, podrían dar, como los cultivos mismos, reacciones específicas con sueros específicos.

Las investigaciones fueron practicadas en primer término con el cólera.

Por circunstancias particulares los estudios se iniciaron con filtrados, exentos de gérmenes, de cultivos de cólera en caldo.

Estos cultivos, de diferente edad, eran filtrados por una bujía Pukall. La esterilidad de los filtrados transparentes se comprobó por incubación directa a 37° y también por siembra.

Una vez que se había demostrado que eran estériles, añádiase cantidades diferentes de suero anticólerico (suero de cabra), igualmente estéril, y se colocaban en la estufa a 37°.

Transcurridas 24 horas podía observarse el fenómeno siguiente:

Los filtrados a los que se había añadido suero específico se enturbiaban, formándose pequeños grumos que se depositaban en el fondo del tubo. Sobre este sedimento el líquido quedaba completamente claro.

El enturbamiento del líquido era débil o intenso y el sedimento abundante o escaso, no pudiendo explicarse de qué dependía la desigualdad de la reacción. Algunas veces no se observaba reacción alguna, no obstante se emplearan grandes cantidades de filtrados adicionados de mucho suero. Por lo que se refiere al aspecto y cualidades del sedimento, éste era blanco grisáceo o castaño, bastante coherente, y después de agitación enturbiaba el caldo y volvía a sedimentarse rápidamente.

En el laboratorio del Dr. Freund se ha practicado la investigación química del sedimento, habiéndose comprobado que está constituido por dos proteínas, una de las cuales da la reacción de los alcalialbuminatos y la otra aquella de las peptonas.

Para asegurarse de la especificidad de la reacción fueron practicadas investigaciones de contralor, añadiendo sueros heterólogos a los filtrados en los cuales la adición del suero específico originaba la precipitación.

A los filtrados de cólera añádióse sueros antitífico, anticoli (suero de cabra), suero normal de caballo, suero antidiftérico, antiestreptocóccico (suero de caballo), suero humano normal, en cantidades diferentes, y jamás pudo observarse precipitación como la obtenida en los filtrados de cólera por la adición de suero anticólerico. Los diferentes contralores permanecían completamente claros después de incubación a 37°C., durante 24 horas. Por otras investigaciones yo he afirmado en la citada comunicación previa que los filtrados exentos de gérmenes, obtenidos de cultivos de cólera en caldo, pueden dar lugar a precipitaciones específicas por la adición de suero específico (preparado por inmunización con cultivos de cólera en agar). Esta reacción es tan específica como la aglutinación con cultivos vivos o muertos.

En un principio no pude asegurar, aunque lo consideré probable, que las substancias que en los filtros precipitan con el suero específico fueron productos de destrucción de los cuerpos bacterianos.

⁵ E. Buchner. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft, 1897.

Una demostración directa de esta suposición la he conseguido mediante el siguiente experimento:

Vibriones coléricos, obtenidos tanto de cultivos en agar como de cultivos en caldo (eliminado el medio líquido por filtración), se mezclaban con polvo de vidrio y se sometían a una presión de 500 atmósferas.

La masa obtenida se diluía con caldo alcalino y el líquido se hacía pasar a través de un filtro para bacterias. Al filtrado, una vez demostrada su esterilidad, se añadía suero anticolérico, procediendo de igual modo que con los filtrados de cultivos de cólera en caldo.

Transcurridas 24 horas a 37° se podía observar enturbiamiento y la formación de un sedimento.

Conseguíase también el mismo resultado mediante la siguiente modificación:

Cultivos de cólera en placas de agar, después de 48 horas de incubación, eran raspados y dejados a 37°C. hasta desecación; luego se suspendían en caldo alcalino. La solución se pasaba a través de un filtro para bacterias y enseguida se le añadía suero anticolérico.

El resultado era el mismo que el obtenido con filtrados de cultivos de cólera en caldo y con bacterias sometidas a la presión.

Mediante estas investigaciones comprobábase que los substratos de los filtrados de cultivo de cólera en caldo, que precipitan con suero anticolérico, deben ser considerados como sustancias propias de los cuerpos microbianos.

Demostrábase así que la especificidad del suero no sólo atañe a las bacterias como tales (vivas o muertas) sino también a los cuerpos bacterianos disueltos.

Los trabajos de Widal⁶, Levy y Bruns⁷ pueden también valorarse como una prueba más en apoyo de esta conclusión. Widal y más tarde Levy y Bruns, inmunizando animales con filtrados de cultivos de tifus y cólera en caldo, y por lo tanto exentos de gérmenes, obtuvieron sueros de propiedades aglutinantes análogos a los obtenidos con las bacterias cultivadas en agar. Con esto quedaba demostrado igualmente que los filtrados contienen sustancias que pertenecen a los cuerpos bacterianos.

Las mismas reacciones específicas, obtenidas con suero anticolérico sobre los filtrados, exentos de gérmenes, de cultivos de cólera en caldo, pueden también observarse con suero antitífico sobre los filtrados, exentos de gérmenes, de cultivos de tifus en caldo y con suero antipestoso sobre los filtrados de cultivos de peste en caldo. Las investigaciones de conuvalor con diferentes tipos de suero heterólogo son negativas.

El enturbiamiento y la sedimentación son análogos a los descritos para los filtrados de cólera. La reacción es unas veces intensa y otras débil y hasta puede faltar.

No pude determinar los factores que condicionan este comportamiento.

He podido demostrar, además, que las sustancias precipitales del filtrado de los cultivos de peste en caldo, pertenecen también a los cuerpos bacterianos.

Cultivos de peste en placas de agar, eran raspados, desecados a 37°, diluidos con caldo débilmente alcalino y filtrados por bujía de Pukall. La adición de suero antipestoso (suero de caballo) a este líquido determinaba los mismos fenómenos observados con el cólera.

Debo indicar además que para obtener los enturbiamientos y la sedimentación son necesarias mayores cantidades de suero que para obtener la aglutinación con cultivos, pero no he podido determinar los vínculos cuantitativos. La cantidad de productos de destrucción de los cuerpos bacterianos que se hallan en los filtrados, es probablemente muy desigual y depende quizás de la virulencia del cultivo, de la edad y del grado de alcalinidad del caldo,

⁶ Widal et Sicard. Annales de l'Institut Pasteur, 1897; cit. de Levy.

⁷ Levy unds Bruns. Berliner klinische Wochenschrift, N° 23, 1897.

puwier
su pos
cia cai
B:
car el
M
dos de
la adi
exento
tidade
a 37°
paren
tífico,
igualr
E
1
peste
suero
2
perte:
3
espec

pudiendo ser ellos la causa de la variación de intensidad de la reacción y de su posible ausencia. Trabajos ulteriores demostrarán si existe una dependencia causal entre el fenómeno y la toxicidad variable de los filtrados de cólera.

Basándose en estas investigaciones el Prof. Paltauf^s ha intentado explicar el mecanismo de la aglutinación de los microorganismos inmóviles.

Mediante otra serie de investigaciones he procurado establecer si los filtrados de los cultivos de bacterias toxigenas son capaces de dar precipitados por la adición de suero específico obtenido con toxinas; para lo cual filtrados, exentos de gérmenes, de cultivos de difteria en caldo, eran mezclados con cantidades diferentes de suero antitóxico (suero de caballo). Después de 24 horas a 37°C., los filtrados con suero específico permanecían completamente transparentes. Las pruebas de contralor del filtrado con sueros anticolérico, antitífico, anticoli (suero de cabra), antiestreptocócico (suero de caballo), daban igualmente reacción negativa.

Estos estudios permiten deducir las siguientes conclusiones:

1º *En los filtrados, exentos de gérmenes, de cultivos de cólera, tífus y peste en caldo, pueden producirse precipitados específicos por la adición de suero homólogo.*

2º *Las substancias que precipitan en los filtrados con el suero homólogo pertenecen a los cuerpos bacterianos.*

3º *Toxinas exentas de gérmenes (toxina diftérica) no dan reacciones específicas mediante la adición de antitoxina homóloga.*

AK

^s Paltauf. Wiener klinische Wochenschrift; Protokoll der Gesellschaft der Aerzte. Mayo 6 de 1897.