

15/B
Tomo XXXIX

N.ºs 1 y 2

ENERO a ABRIL de 1936

ANALES

DE LA

ASOCIACIÓN DE QUÍMICA Y FARMACIA

DEL

URUGUAY



Dirección y Administración :

CALLE EJIDO, 1589

MONTEVIDEO (Uruguay)

Imprenta Artística, de Dornaleche Hnos.

Calle Cerro Largo, 783

1936

Contribución al estudio de algunas propiedades de los coloides aplicadas a los microbios

Por ENRIQUE FRANCHI

QUÍMICO FARMACÉUTICO. — AYUDANTE DE BACTERIOLOGÍA E HIGIENE DE LA FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Introducción al estudio de algunas propiedades de los coloides aplicadas a los microbios

De los trabajos de algunos autores modernos se desprende la importancia práctica que tiene el estudio del potencial eléctrico de los elementos microbianos (se consideran como emulsoides que poseen carga negativa, pues en la experiencia de cataforesis se dirigen al polo positivo).

Es así como valiéndose de esta propiedad determinan la mayor virulencia o toxicidad de las diversas razas de una especie dada, como también se admitiría otra explicación a las reacciones serológicas donde los anticuerpos actuarían sobre el germen disminuyendo su carga eléctrica.

Las colonias rugosas (formas R. de Arkwright) de bajo potencial eléctrico tienen como característica su reducida virulencia y su espontánea floculación en soluciones de cloruro de sodio al 8,5 por mil.

Arthus en su tratado de fisiología microbiana considera sin resolver el mecanismo que pone rápidamente en contacto a los gérmenes sensibilizados con los fagocitos. No obedecería a una disminución de cargas eléctricas por el anticuerpo.

Es teniendo en cuenta estos hechos que me propuse aplicar algunas propiedades del sistema coloidal, considerando a los microbios como emulsoides.

Algunos de ellos fueron aislados por mí en el Laboratorio Central de las Clínicas y otros cedidos por el Instituto de Higiene Experimental.

En mi trabajo he seguido la técnica del Dr. M. Michaelis para la aglutinación ácida, que consiste en la floculación en copos de una suspensión microbiana por dis-

tintas concentraciones hidrogeniónicas, siendo en su aspecto idéntica a la aglutinación empleando sueros específicos, pero aquellas se rompen por agitación más fácilmente que ésta.

En la aglutinación que nos ocupa intervienen además iones de sales neutras que inhiben en general la floculación, pero en diluciones inferiores a 1|50 molar, no actúan; se impone, pues, emplear agua destilada, y además se debe trabajar de manera que los otros iones estén en pequeña cantidad y no sobrepasen en su concentración final 1|50 molar.

Parece que con la falta absoluta de otros iones, la aglutinación no se produce, lo que lo relaciona a la obtenida con sueros específicos, pero siempre en nuestra experiencia tendremos sales neutras, ora provenientes de los medios de cultivo, ora de las sustancias toques de las soluciones de distintos Ph.

Cómo se efectúa la aglutinación ácida. — En una serie de 6 tubos de vidrios neutros, se pone en cada uno 2 c. c., de suspensión microbiana (2 mil millones de gérmenes por c. c., controlado por opacidad) obtenida de la siguiente manera: tomamos cultivos de 24 horas en Agar, se quita el agua de condensación, se lavan los microbios y hacemos la suspensión en agua destilada, teniendo la precaución de darle siempre el mismo título para todos los gérmenes estudiados. Se agrega a cada tubo 1 c. c., de solución de Ph., determinado, que controlamos por método colorimétrico, dado que habiendo controlado en nuestras primeras soluciones este método con el electrométrico, nos daba sensiblemente el mismo resultado; preferimos, pues, el primer método por ser más práctico.

Michaelis da ejemplos de bacilos tíficos y considera que existe una zona de floculación, pero habiendo un óptimo que para el germen del ejemplo corresponde a un Ph de 4,4.

Agregando un coloide a la emulsión, el óptimo de aglutinación cambia para un mismo germen, mientras que otros que eran difícilmente floculados, por ejemplo, algunas cepas de bacilos coli, la aglutinación se produce.

La explicación del hecho arriba apuntado es como sigue: lo que flocula es el colide agregado y al hacerlo arrastra consigo a los elementos microbianos; no se deben emplear, en consecuencia, medios albuminosos.

Teoría de la aglutinación ácida. — Para Michaelis, el ácido nucleínico y la albúmina son coloides que puestos en contacto en determinadas condiciones, floculan; para esto es necesario que tengan carga eléctrica de signo contrario. El ácido tiene carga negativa y no es capaz de cambiarla, sólo es posible disminuirla y llevarla a cero.

La albúmina es un colide anfótero y cambia de carga a un Ph igual a 6.

Ahora bien, cuando ambos coloides son negativos, se repelen, pero cuando la albúmina cambia de signo llega a un potencial eléctrico determinado en que la floculación se produce. Es posible que la aglutinación ácida de los microbios sea un fenómeno análogo.

Para Arkwright la aglutinación ácida (que no es específica) está relacionada a la estructura colidal de los gérmenes.

Las emulsiones microbianas, por la condición físico-química de éstos, se repelen y sólo pueden aglutinarse cuando la diferencia de potencial eléctrico entre la superficie de los bacterias y el líquido sea inferior a 15 millivolt y a condición que la tensión superficial se mantenga constante.

Los gérmenes flagelados, según este autor, tienen 2 zonas de floculación, correspondiendo a los flagelos un Ph 5 y la del cuerpo a un Ph 3.

Veamos a continuación los resultados por mí obtenidos, con los siguientes microbios:

PH	4,8	4,6	4,2	4	3,6	3,4
PR	4,4	4,8	5,6	6	6,8	7,2

Prodigiosus	—	—	—	—	—	—
D. Flexner	—	—	—	—	—	—
D. Sonne	—	—	—	—	+	++
Estafilococos	—	—	—	—	—	—
B. Tífico	—	—	—	—	—	—
PH	4	3,6	3,2	3	2,8	2,4
PR	6	6,8	7,6	8	8,4	9,2
Estafilococos	—	—	—	++	++	++
Prodigiosus	—	—	+	++	++	++
D. Flexner	—	—	<u>+</u>	<u>+</u>	<u>+</u>	<u>+</u>
D. Sonne	—	—	++	++	++	++
Tífico	<u>+</u>	—	—	—	—	—
PH	3,1	2,8	2,6	2,2	2	1,6
PR	7,8	8,4	8,8	9,6	10	10,8
Estafilococos	—	—	<u>+</u>	+	++	++
Prodigiosus	—	—	+	++	++	++
D. Flexner	—	—	—	—	—	—
D. Sonne	—	<u>+</u>	++	++	++	<u>+</u>
Tífico	—	—	—	—	—	—

<i>Bacilo tífico</i>						<i>Bacilo disenterico (sonne)</i>						
<i>PH.</i>	33	3	27	24	21	18	33	3	27	24	21	18
<i>PR.</i>	74	8	86	92	98	104	74	8	86	92	98	104

Floculación de los elementos microbianos por electrolitos de metales pesados. — Los coloides emulsoides que tienen carga negativa flocculan proporcionalmente a la valencia del catión; así Bechold encuentra que para producir este fenómeno en el mastic, es necesario cantidades relativas de 1,50 y 1.000 de cloruro férrico, cloruro de bario y cloruro de sodio, respectivamente. En nuestra experiencia sustituimos el mastic por suspensiones microbianas y como electrolito empleamos el cloruro de aluminio que como sal sencilla de metal pesado, tiene potencial eléctrico elevado. Se encontraría notablemente disminuído en su potencial si se encontrase formando parte de una molécula compleja, susceptible de provocar el fenómeno en emulsiones fácilmente flocculables como ser: las formas "R" de ciertas especies microbianas.

Como se ve, la influencia de la carga eléctrica del catión, al mismo tiempo que la complejidad de la molécula tiene capital importancia en la floculación.

Liefmann fué el primero que quiso diferenciar microbios, empleando sulfato de magnesio, pero otros autores (Gildemeister entre ellos), demostraron que diversas cepas de una misma especie se comportan de manera distinta.

En una serie de 24 tubos que contienen: el 1.º, 1 c. c. de solución de cloruro de potasio normal; el 2.º, 1 c. c. de solución de cloruro de potasio normal medio; el 3.º, normal, cuarto y así sucesivamente ponemos en cada uno de ellos 2 c. c. de suspensión de bacilos tíficos, obtenida de la siguiente manera: de 2 cultivos de 24 horas en agar, toma-

mos los microbios y los lavamos con agua destilada, luego efectuamos la emulsión con 45 c. c. de agua destilada.

La floculación **no** se produjo en ningún tubo.

En nuevas experiencias hechas, sustituyendo al cloruro de potasio por cloruro de aluminio 2 normal y haciendo también diluciones en progresión geométrica en una serie de 12 tubos, comprobamos estos resultados después de 24 horas de permanencia en la heladera a 8°.

Las emulsiones fueron efectuadas a una dilución de 2 mil millones de gérmenes por centímetro cúbico.

ClasAL.....
 2N N N/2 N/4 N/8 N/16 N/32 N/64 N/128 N/2.6 N/512 N/1024

Tífico C 1	-	-	-	-	+	++	++	++	++	++	++	++
Tífico C2	-	-	-	±	++	++	++	++	++	++	++	++
Estafiloc.	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
M. Prodigios.	-	±	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D. Flexner	-	-	-	-	-	±	++	++	++	±	±	±

El signo ++ significa reacción intensa.

El signo + significa reacción media.

El signo ± significa reacción débil.

Para Bechold, es probable que en el caso de estas materias la hidrólisis interviene; ella tiende a poner en libertad hidratos coloidales dotados de adhesión por los microbios y se precipitan sobre ellos; un complejo floculable se forma.

Algunas de estas reacciones repetidas aisladamente daban floculaciones distintas a pesar de trabajar en idénticas condiciones y en otros casos, como en el bacilo de Eberth no había aglutinación en ningún tubo.

También en experiencias anteriores en las que empleábamos suspensiones microbianas sin lavar, se producían a los pocos minutos de estar en contacto, un principio de floculación que podría explicarse por formación de un precipitado químico.

Ahora bien; para cerciorarnos de que en realidad el fenómeno es debido a una causa puramente química, comenzamos por experimentar con agua destilada de un Ph 7,4 que sustituye al agua de lavado de los tubos de gelosa sin siembra, pertenecientes todos a una misma partida, comprobando que no se produce ningún precipitado al actuar en estas condiciones; descartamos con esto, pues, la acción de los álcalis.

No siendo debido a esto, cabe investigar si el precipitado es producido por las sales de los medios de cultivo.

Y lo es efectivamente, puesto que haciendo lavados previos con agua destilada (eliminamos así las sales), se produce la floculación tardíamente. Experimentando con estafilococos se produjo después de las 4 horas.

Bibliografía

Anales del Instituto Pasteur, año 1897. Aglutinación del bacilo tífico (Malvoz).

Mikrobiolsgischen Technik, T. 11. R. Kraus y P. Uhlenhuth.

System of Bacteriology.

Bordet: Tratado de inmunidad.