ACCION INHIBITORIA DEL ANTIVIRUS DIFTERICO Y SU VALOR COMO FACTOR DIAGNOSTICO

E. M. CLAVEAUX y C. DIAZ ROMERO

La acción inhibitoria que poseen en general los antivirus es una de sus características revelables "in vitro", y consiste en el poder de impedir el desarrollo de los gérmenes correspondientes. Es, por tanto, específica, no ejerciéndose en general sobre otros gérmenes, aunque esto a veces también puede acontecer en menor grado.

En cuanto a la acción inhibitoria (A. I.) que posee el antivirus diftérico (A. D.) en particular, sabemos por los trabajos de Besredka y sus colaboradores (1), y entre ellos Laval (2) principalmente, que dicho antivirus se opone específicamente al desarrollo del bacilo de Loeffler y es un excelente medio de cultivo para el estafilococo, vibrión colérico, bacilo piociánico, colibacilo y bacilo tífico. Por nuestra parte, en un trabajo anterior (3) establecimos que la acción inhibitoria del antivirus diftérico sobre el bacilo de Loeffler es un fenómeno que se presenta con una gran nitidez y que esta acción es independiente del Ph. que ha adquirido el antivirus durante su obtención, e inconfundible con una acción bacteriofágica. No hemos encontrado en la literatura referencia alguna sobre si la acción inhibitoria del A. D. se ejerce indistintamente sobre todos los bacilos de Loeffler, cualquiera que sea su origen. Tampoco sabemos si la A. I. del A. D.

RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS GÉRMENES

N.º del germen	Procedencia	Longitud	Aspecto morfológico	Granulaciones polares	Velo en Caldo Martin	Anaerobiosis Medio Veillon	Fermentación en medio Andrade: Glucosa	Levulosa	Maltosa	Manita	Poder patógeno	Poder toxígeno	Inhibición por el Antivirus diftérico
1	Difteria	largo	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	++
2	Difteria	largo	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	++
3	Difteria	largo	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	++
4a	Post Difteria	corto	dudoso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4b	Mismo origen	corto	dudoso	—	+	—	—	—+	—	—	—	—	—
5	Post Difteria	corto	dudoso	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
6	Ang. dudosa	corto	dudoso	—	—+	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Difteria	mediano	dudoso	—+	—	—	—	—	—+	—	—	—	—
8	Ang. dudosa	corto	dudoso	+	+	+	+	— +	+++	—	+	+	+++
9	Difteria	mediano	típico	+	+—	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
10	Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
11	Post Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
12	Difteria	corto	dudoso	+	+	+	+++	—+	+++	—	+	+	+++
13	Ang. dudosa	cocobacilo		—	—	—	+++	—+	+++	—	—	—	—
14	Ang. dudosa	corto	dudoso	+	+	—	+++	+	+	—	—	—	—
15	Difteria	mediano	dudoso	+	+	—	+++	+	+	—	—	—	—
16	Ang. dudosa	mediano	dudoso	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	Ang. dudosa	mediano	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
18	Difteria	corto	dudoso	+	—	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
19	Post Difteria	mediano	típico	+	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
20	Difteria	mediano	dudoso	+	—	+	+++	—+	+++	—	+	+	+++
21	Ang. dudosa	mediano	típico	—+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	BACILO TIPO	LARGO	TÍPICO	+	+	+	+++	—	+	—	+	+	+++
23	Difteria	mediano	típico	+	+	—	+++	++	+++	—	+	+	+++
24	Ang. dudosa	mediano	atípico	—+	—+	—	++	—+	+++	—	—	—	—
25	Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
26	Difteria	largo	típico	+	+	+	+++	++	+++	—	+	+	++—
27	No Difteria	mediano	atípico	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28	Difteria	largo	típico	—	+	+	+++	—	+++	—	+	+	++—
29	Org. genitales	mediano	atípico	+	—	+	+++	—+	++	—	—	—	—
30	Ang. dudosa	mediano	dudoso	+	+	—	+++	+++	+++	—	—	—	—
31	Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
32	Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
33a	Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+++	+++	—	+	+	+++
33b	Mismo origen	corto	atípico	—	—+	—	+++	+++	+	—	—	—	—
34	Difteria	largo	típico	+	+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
35	Difteria	corto	dudoso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	Portador sano	corto	dudoso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
37	No Difteria	corto	dudoso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	Difteria	mediano	típico	+	+	+	+++	+++	+++	—	+	+	+++
39	Portador sano	corto	dudoso	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
40	Difteria	largo	típico	+	—	+	+++	—+	+++	—	+	+	++—
41	Difteria	corto	dudoso	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
42	No Difteria	corto	dudoso	+	—+	—	—	—	—	—	—	—	—
43	Ang. dudosa	mediano	típico	+	+	+	+++	—+	+++	—	+	+	+++
44	Ang. dudosa	corto	dudoso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45	Ang. dudosa	mediano	típico	+	+	+	+++	—+	+++	—	+	+	+++
46	No Difteria	corto	atípico	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	Difteria	mediano	típico	+	—+	+	+++	++	+++	—	+	+—	+— —
48a	Difteria	mediano	típico	+	—+	+	+++	+	+++	—	+	+	+++
48b	Mismo origen	mediano	dudoso	+	+	+	+++	+++	—	—	—	—	—
49	Ang. dudosa	corto	típico	+	—	—	—	+++	+++	—	+	+	+++
50	Difteria	mediano	dudoso	—	+	+	+++		+++	—	+	+	+++

se ejerce o no sobre otros bacilos del grupo Corinebacterium, que no sean bacilos de Loeffler típicos.

Para contribuir a resolver estos puntos hemos obtenido y estudiado una serie de gérmenes que sometimos además a la acción del A. D.

La obtención del antivirus utilizado se ha hecho de la siguiente manera: el germen empleado es un bacilo de Loeffler, típico, productor de una toxina que mata a un cobayo de 235 grs. en 60 horas, a la dosis de 0.01 de cc. El medio empleado es el Caldo Martín con un Ph. 7.2. Los cultivos se hacen en recipiente ancho, en capa líquida reducida, se dejan en la estufa a 37° durante 10 a 15 días; luego se filtran, se determina el Ph. que se ha elevado a Ph. 8, se corrige llevándolo al Ph. 7.2 inicial, y se esterilizan al autoclave a 115° durante 15 minutos. El líquido obtenido es límpido y de coloración ligeramente más intensa que la del caldo Martín nuevo. En este antivirus no crece absolutamente una nueva siembra que se haga del mismo germen que se ha empleado para prepararlo; en cambio, se infecta fácilmente durante las manipulaciones y en él hemos ensayado con éxito siembras de estafilococo, estreptococo, bacilo tífico, colibacilo y bacilo piociánico.

Obtención y estudio de los gérmenes.—Una serie de 50 gérmenes ha sido obtenida de la garganta de enfermos de difteria y sospechosos de la Clínica de Enfermedades Infecciosas. Se ha procedido al aislamiento y luego al estudio sistemático de cada uno de ellos, con el objeto de clasificarlos. Para ello se tuvo en cuenta su procedencia, el aspecto morfológico, caracteres tintoriales, hallazgo de granulaciones metacromáticas por los colorantes de Falière y de Stoltemberg, aspecto de las colonias en medio sólido, caracteres del crecimiento en caldo Martín, el crecimiento en anaerobiosis en la gelosa glucosada de Veillon. La acción fermentativa sobre la glucosa, levulosa, maltosa y manita, se ha estudiado en el medio agua-suero con indicador de Andrade a la fenolftaleína. El poder patógeno se determinó por inoculación subcutánea al cobayo de 1 cc. de un cultivo de 24 horas en caldo Martín. El po-

der toxígeno se investigó por inoculación subcutánea al cobayo de 0.2 de cc. del filtrado de un cultivo de 10 a 15 días. En todos los casos se hizo también la neutralización de dichas toxinas por el suero antidiftérico.

Determinamos de esta manera una serie de 28 bacilos diftéricos patógenos para el cobayo, con poder toxígeno evidente, típicos en todas las propiedades estudiadas; y otra serie de 25 gérmenes con morfología semejante a la del bacilo de Loeffler, pero no patógenos para el cobayo ni productores de toxina y que se apartan además de los bacilos diftéricos verdaderos por algunas otras propiedades.

Estudio de la acción inhibitoria.—De cada germen tomamos una colonia y la llevamos a un tubo con 5 cc. de suero fisiológico estéril, emulsionándola. De esta emulsión se siembra una gota en caldo Martín y otra en antivirus diftérico. Después de la siembra ambos tubos quedan igualmente transparentes, se ponen a la estufa a 37° y se observan diariamente hasta el 8° día. Comparando el desarrollo que se produce en cada tubo y, si es necesario, comparando a ambos con tubos no sembrados de caldo Martín y de antivirus diftérico, establecemos si ha habido o no inhibición y de qué grado. A veces, a las 24 horas, pero en general, de las 48 horas al 4° día los cultivos adquieren su desarrollo y caracteres definitivos. Para evitar posibles causas de error los tubos de A. D., en los cuales se produce desarrollo, son controlados con un repique en medio sólido para descartar la infección por gérmenes extraños. Igualmente los tubos de A. D., que no desarrollan después de una primera siembra, se vuelven a sembrar por segunda vez con el mismo germen.

Resultados obtenidos. — De los 28 bacilos diftéricos verdaderos sembrados en A. D., 24 de ellos han sido inhibidos fuertemente lo mismo que el propio germen productor del antivirus (inhibición marcada +++); en otros 3 gérmenes la inhibición ha sido franca (++), pero, sin embargo, no ha impedido un cierto grado de desarrollo evidentemente menor que en el caldo Martín. Y, por fin, en un último germen la diferencia de desarrollo en los

dos tubos ha sido aún menor, pero podemos afirmar que existía una inhibición débil (+).

De los 25 gérmenes no diftéricos, 23 desarrollan de un modo idéntico en caldo Martín y en el A. D. (algunos aún desarrollan más abundantemente en el 2º que en el 1º).

La inhibición ha sido, pues, *nula* (—). En lós dos gérmenes restantes tampoco ha habido inhibición, aunque ha existido un ligero predominio en el desarrollo en el tubo de caldo Martín.

RESUMEN Y CONCLUSIONES. — La A. I. del A. D. sobre los gérmenes ensayados, procedentes de casos de difteria o sospechosos, ha sido: POSITIVA (aunque con algunas variaciones en su intensidad) para todos los bacilos diftéricos verdaderos, y NEGATIVA para todos los bacilos cuya morfología se asemeja a la del bacilo de Loeffler, pero del cual difieren por otras características.

La A. I. del A. D. ha tenido en nuestras experiencias dos características: ha sido ESPECIFICA Y UNIVERSAL para todos los bacilos de Loeffler, lo que nos permite concluir que el comportamiento del bacilo diftérico en el A. D. constituye una característica de este germen, que debe agregarse a las demás propiedades que posee y que permiten su individualización dentro del grupo de los Corinebacterium. La técnica sencilla de su investigación permite su empleo en los laboratorios de clínica.

BIBLIOGRAFIA

(1) BESREDKA. — Antivirusthérapie.

(2) LAVAL. — "C. R. S. B.", 1928, p. 7. Etude in vitro sur les antivirus.

(3) CLAVEAUX, E. M. y DIAZ ROMERO, C. — "Arch. Urug. de Med. Cirug. y Especialidades". Año 1933, p. 863. Tratamiento de la difteria por antivirus específico.

Laboratorio Municipal
de Bacteriología y Vacuna.
Montevideo.