



[Handwritten signature]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

- EMPLEO DEL SUERO HUMANO EN LOS MEDIOS DE CULTIVO -

Padrino de Tesis:

Prof. Dr. Antonio Tropeano

Tesis de Doctorado

de:

Jorge Hugo Paterlini

AÑO DEL LIBERTADOR GENERAL SAN MARTIN

- 1950 -



MINISTERIO DE EDUCACION
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

AUTORIDADES:

Rector: Prof. Dr. Julio M. Laffitte

Vice-Rector: Prof. Ing. Héctor Ceppi

Secretario General: Ricardo Enrique La Rosa

- ! ! ! -

CONSEJO UNIVERSITARIO

Prof. Dr. Juan F. Muñoz Drake

Prof. Dr. Eugenio Mordegli

Prof. Dr. Roberto Crespi Gherzi

Prof. Ing. Martín Solari

Prof. Dr. Julio H. Lyonnet

Prof. Dr. Hernán D. González

Prof. Ing. César Ferri

Prof. Ing. José M. Castiglione

Prof. Dr. Guido Pacella

Prof. Dr. Osvaldo A. Eckell

Prof. Ing. Héctor Ceppi

Prof. Ing. Arturo M. Guzmán

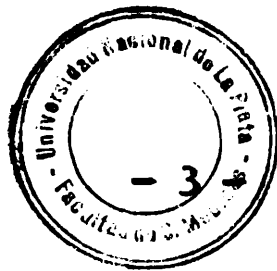
Prof. Dr. Roberto H. Marfany

Prof. Arturo Cábours Ocampo

Prof. Dr. Emilio J. Mac Donagh

Cap. de Fragata (R) Guillermo O. Wallbrecher

- - -



FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

AUTORIDADES:

Decano: Prof. Dr. Julio H. Lyonnet

Vice-Decano: Prof. Dr. Hernán D. González

Secretario: Dr. Héctor J. Basso

Pro-Secretario: Sr. Rafael G. Rosa

CONSEJO DIRECTIVO

Prof. Dr. Hernán D. González

Prof. Dr. Diego M. Argüello

Prof. Dr. Inocencio F. Canestri

Prof. Dr. Roberto Gandolfo Herrera

Prof. Dr. Luis Irigoyen

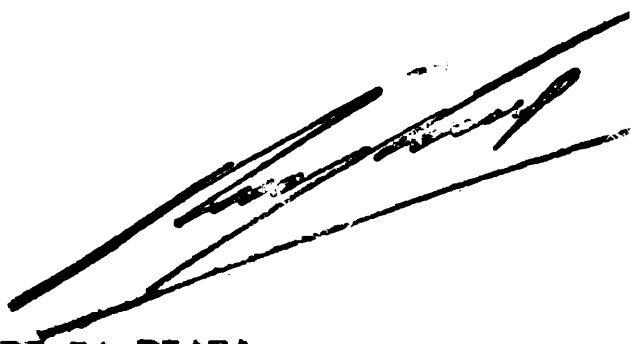
Prof. Dr. Rómulo R. Lambre

Prof. Dr. Víctor A. E. Bach

Prof. Dr. José F. Morano Brandi

Prof. Dr. Enrique A. Votta

Prof. Dr. Herminio L. Zatti



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

PROFESORES HONORARIOS

Dr. Rophille Francisco

" Greco Nicolás V.

" Soto Mario L.

PROFESORES TITULARES

Dr. Argüello Diego M.- Cl. Oftalmológica

" Balassarre Enrique C.- F.F. y T. Terapéutica

" Bianchi Andrés E.- Anatomía y F. Patológicas

" Caeiro José A.- Patología Quirúrgica

" Canestri Inocencio. F.- Medicina Operatoria

" Carratalá Rogelio F.- Toxicología

" Carreño Carlos V.- Higiene y M. Social

" Cervini Pascual R.- Cl. Pediátrica y Pueric.

" Corazzi Eduardo S.- Patología Médica I.

" Christmann Eduardo E.- Cl. Quirúrgica IIa.

" D'Ovidio Francisco R.- P. y Cl. de la Tuberculosis

" Errecart Pedro L.- Cl. Otorrinolaringológica

" Floriani Carlos.- Parasitología

" Gandolfo Herrera Roberto.- Cl. Ginecológica

" Gascón Alberto.- Fisiología

" Girardi Valentín C.- Ortopedia y Traumatología

" González Hernán D.- Cl. de Enf. Infec. y P. T.

" Irigoyen Luis.- Embriología e H. Normal



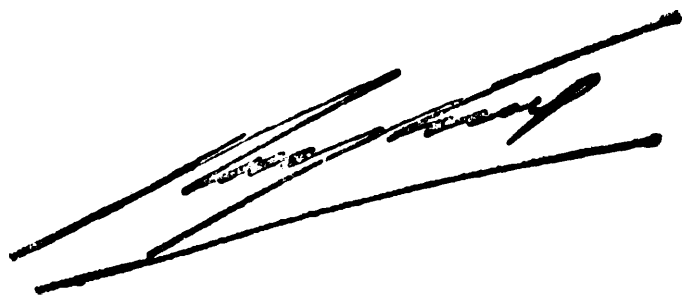
- Dr. Lambre Rómulo R.- Anatomía Descriptiva
" Loudet Osvaldo.- Clá Psiquiátrica
" Lyonnet Julio H.- Anatomía Topográfica
" Mañiel Crespo Fidel A.- Semiología y Cl. Proped.
" Manso Soto Alberto E.- Microbiología
" Martínez Diego J. J.- Patolog. Médica IIa.
" Mazzei Egidio S.- Clínica Médica IIa.
" Montenegro Antonio.- Cl. Genitourrológica
" Monteverde Victorio.- Cl. Obstétrica
" Obiglio Julio R.A.- Medicina Legal
" Othaz Ernesto L.- Cl. Dermatosifilográfica
" Rivas Carlos I.- Cl. Quirúrgica Cat. Ia.
" Rossi Rodolfo.- Cl. Médica Ia.
" Sepich Marcelino J.- Clínica Neurológica
" Uslenghi José P.- Radiología y Fisioterapia

PROFESORES ADJUNTOS

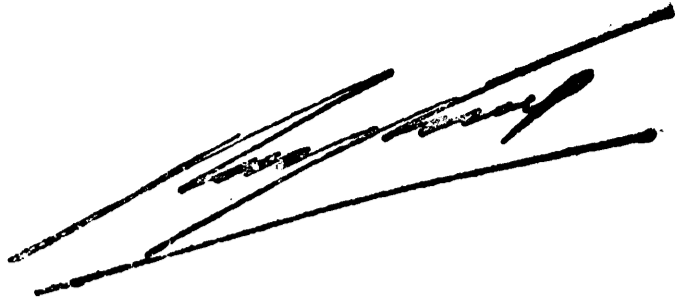
- Dr. Aguilar Giraldes Delio J.- Cl. Pediátrica y Pue-
ricultura.
Dr. Acevedo Benigno S.- Química Biológica
" Andrieu Luciano M.- Clínica Médica
" Bach Victor Eduardo A.- Cl. Quirúrgica Ia.
" Baglietto Luis A.- Medicina Operatoria
" Baila Mario Raúl.- Clínica Médica
" Bellingi José.- Pat. y Cl. de la Tuberculosis
" Bigatti Alberto.- Cl. Dermatosifilográfica



- Dr. Briasco Flavio J.- Cl. Pediátrica y Pueric.
- " Calzetta Raúl V.- Semiología y Cl. Proped.
- " Carri Enrique L.- Parasitología
- " Cartelli Natalio. - Cl. Genitourológica
- " Castedo César .- Cl. Neurológica
- " Castillo Odena Isidro.- Ortopedia y Traumatología
- " Ciafardo Roberto.- Clínica Psiquiátrica
- " Conti Alcides L.- Cl. Dermatosifilográfica
- " Correa Bustos Horacio.- Cl. Oftalmológica
- " Curcio Francisco. I.- Cl. Neurológica
- " Chescotta Nestor A.- Anatomía Descriptiva
- " Dal Lago Héctor .- Ortopedia y Traumatología
- " De Lena Rggelio E.A.- Higiene y M. Social
- " Dragonetti Arturo R.- Higiene y M. Social
- " Dussaut Alejandro.- Medicina Operatoria
- " Echave Dionisio.- Física Biológica
- " Fernández Audicio Julio César.- Cl. Ginecológica
- " Fuertes Federico.- Cl. de Enf. Infec. y P. T.
- " Garibotto Román C.- Patología Médica
- " García Olivera Miguel Angel.- Medicina Legal
- " Giglio Irma C. de - Clínica Oftalmológica
- " Giroto Rodolfo.- Clínica Genitourológica
- " Gotusso Guillermo O.- Cl. Neurológica
- " Guiza Héctor Lucio.- Cl. Ginecológica

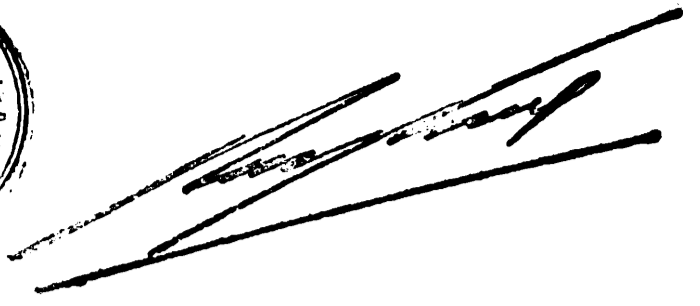


- Dr. Ingrata Ricardo N.- Cl. Obstétrica
- " Lascano Eduardo Florencio.- Anat. y F. Patológ.
- " Logascio Juan.- Patología Médica
- " Loza Julio César.- Higiene y M. Social
- " Lozano Federico S.- Clínica Médica
- " Mainetti José María.- Cl. Quirúrgica Ia.
- " Manguel Mauricio.- Clínica Médica
- " Marini Luis C.- Microbiología
- " Martínez Joaquín D.A.- Semiolog. y Cl. Proped.
- " Matusevich José.- Cl. Otorrinolaringológica
- " Meilij Elías .- Patolog. y Cl. de la Tuberculosis
- " Michelini Raúl T.- Cl. Quirúrgica Cat. IIa.
- " Morano Brandi José F.- Cl. Pediátrica y Pueric.
- " Moreda Julio M.- Radiología y Fisioterapia
- " Nacif Victorio.- Radiología y Fisioterapia
- " Naveiro Rodolfo.- Patología Quirúrgica
- " Negrete Daniel Hugo.- P. y Cl. de la Tuberc.
- " Pereira Roberto F.- Cl. Oftalmológica
- " Prieto Elías Herberto.- Embriología e H. Normal
- " Prini Abel.- Cl. Otorrinolaringológica
- " Penín Raúl P.- Cl. Quirúrgica
- " Polizza Amleto.- Medicina Operatoria
- " Ruera Juan.- Patología Médica
- " Sánchez Héctor J.- Patología Quirúrgica
- " Taylor Gorostiaga Diego J. J.- Cl. Obstétrica



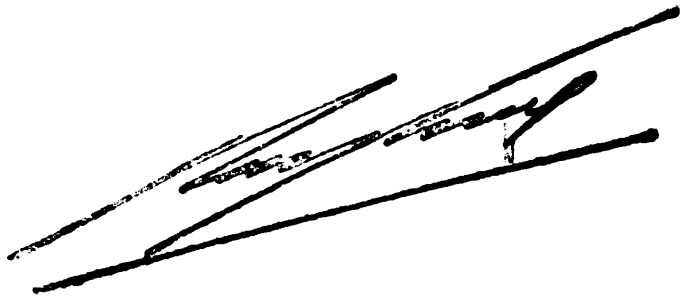
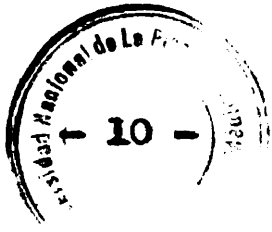
- Dr. Torres Manuel. María del C.- Cl. Obstétrica
- " Trinca Saúl E.- Cl. Quirúrgica Cat. IIa.
- " Tropeano Antonio.- Microbiología
- " Tolosa Emilio.- Cl. Otorrinolaringológica
- " Vanni Edmundo O. U. F.- Semiología y Cl. Proped.
- " Vázquez Pedro C.- Patología Médica
- " Votta Enrique A.- Patología Quirúrgica
- " Tau Ramón.- Semiolog. y Cl. Propedéutica
- " Zabudovich Salomón.- Clínica Médica
- " Zatti Herminio. L.M.- Cl. de Enf. Infec. y P. T.

- - - - -



- A la memoria de mi madre -

- A mi padre -

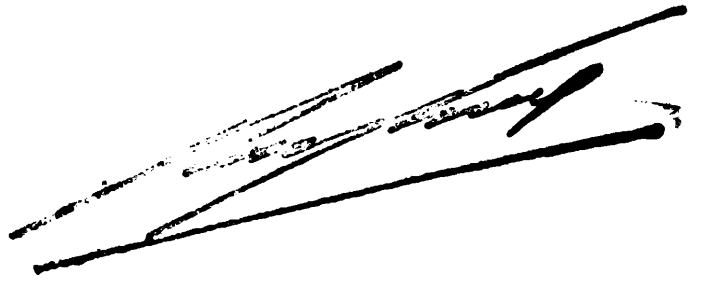


EMPLEO DEL SUERO HUMANO EN LOS MEDIOS DE
CULTIVO.-

Introducidos en la práctica por el sabio francés Luis Pasteur, constituyen los medios de cultivo elementos de uso diario e imprescindibles en todo laboratorio aplicado a la clínica. Su número se ha multiplicado enormemente pasando de varios centenares los conocidos. La necesidad que algunos gérmenes tienen de la presencia de albúminas en los mismos, ha hecho que clásicamente se acostumbrara a dividirlos desde este punto de vista en dos grandes grupos: medios albuminosos y medios no albuminosos.-

Los elementos utilizados para enriquecer en prótidos a los medios de cultivo han sido muy variados, pero los principales fueron desde los primeros tiempos la sangre y el suero sanguíneo, provenientes de distintas especies animales.-

El presente trabajo tiene por objeto hacer conocer los excelentes resultados obtenidos en diversas investigaciones bacteriológicas mediante el empleo del suero humano como constituyente único o componente parcial de diversos medios de cultivo. El empleo del suero humano con estos fines data de

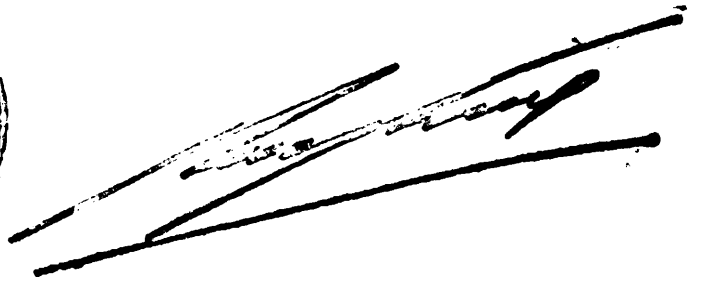


hace muchos años. Veillon en 1899 utilizó una mezcla de infusión de agar y suero humano para el cultivo del gonococo y de otras especies bacterianas. Joos emplea el mismo medio para el bacilo diftérico. Behrens en 1914 lo utiliza para el cultivo de diversos tripanosomas. Harvey en 1921 emplea el suero humano para el cultivo del meningococo. Duval adicionado con huevos lo utiliza para el bacilo de la tuberculosis.

Distintos investigadores realizaron trabajos semejantes con muchos otros gérmenes, sin embargo el empleo del suero humano no alcanzó a difundirse y fué poco a poco abandonado.

Practicamente podemos decir que en nuestro país son muy pocos los laboratorios que recurren al mismo; tal vez las dificultades inherentes a la obtención del material hasta hace algunos años y el hecho de que muchos autores sostuvieran la indiferencia en la elección de la especie suministradora del suero, hicieron que dicho método no saliera en realidad del terreno del estudio y de la experimentación.-

El uso continuo de los medios a base de suero humano para el cultivo de ciertas especies microbianas tales como el gonococo, el meningococo y el



bacilodiftérico, efectuado por Tropeano A. durante más de quince años con excelentes resultados justifican su empleo y su divulgación como veremos luego al presentar las observaciones correspondientes.

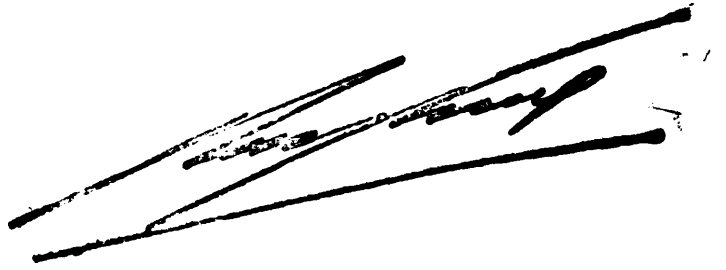
Los primeros resultados fueron presentados por el mismo en el año 1945 en un trabajo del profesorado de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de La Plata, a la cual pertenece.

Consideraremos en nuestra tesis sucesivamente:

- 1) Propiedades físicas y químicas del suero humano.
- 2) Su obtención.
- 3) Preparación de los medios de cultivo a base de suero humano.
- 4) Caracteres de los cultivos en dichos medios.
- 5) Observaciones y datos comparativos.
- 6) Conclusiones.
- 7) Bibliografía.

(1) Propiedades físicas y químicas del suero humano.

La sangre normal fuera de su continente natural, los vasos sanguíneos, experimenta el fenómeno denominado de la coagulación. Este proceso consiste en la unión del fibrinógeno del suero con la trombina, ésta última resultante de la activación de la protrombina por la tromboplastina en presencia del

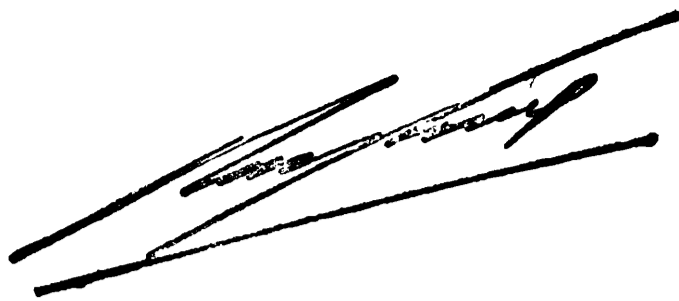


ion calcio. La consecuencia es la formación del coá
gulo sanguíneo. Este coágulo sanguíneo comienza a
su vez a experimentar un proceso de retracción, que
iniciado aproximadamente a los treinta minutos, se
completa en el término de algunas horas. El líqui-
do resultante se denomina suero sanguíneo.-

Cantidad: (relación de suero formado - cantidad de
sangre empleada) dista de ser constante, dependiendo
del individuo, así como de varios factores ex-
trínsecos. En efecto, extraída la sangre y coloca-
da a temperatura ambiente o baja temperatura (helada
dera) se obtiene una cantidad de suero mucho me-
nor que si la ponemos en una estufa a 37° durante
media hora, desprendemos la adherencia del coágulo
a las paredes del recipiente y luego dejamos éste
a la temperatura ambiental.-

Aspecto: variable según el momento de la extracción
sanguínea. Si ésta se efectúa en ayunas, el suero
presenta aspecto límpido. Efectuada algunas horas
después de haber ingerido alimentos ricos en subs-
tancias grasas, pierde su limpidez para hacerse lac-
tescente, llegando aún a veces hasta ser francamente
lechoso.-

Los elementos microscópicos que determinan este
estado son las llamadas hemoconias o sean pequeñas



gotitas de grasa. Debo aclarar que en un menor número de casos de lactescencia del suero es debida a un retardo de dispersión especial de los próticos.

Color: normalmente el color del suero sanguíneo humano es ligeramente amarillento debido a la presencia constante del pigmento bilirrubina. Se cree que otros pigmentos pueden influir también en la producción de esta coloración, los lipocromos, carotenos, etc. En condiciones patológicas pueden producirse modificaciones marcadas; en las ictericias pueden variar desde el amarillo oro al verde. A veces se producen fenómenos de hemólisis debidos al uso de recipientes calientes o mojados, o por haber agitado el coágulo en formación, etc, tomando el suero en estos casos un color rojizo.

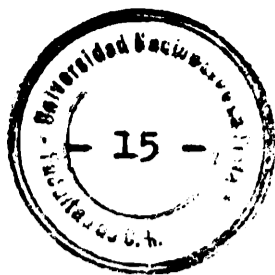
Ph: oscila entre 7,3 y 7,4.-

Densidad: 1025 a 1030 -

Tensión superficial: 68 dinas por cm a 20° -

Punto crioscópico: 0,56°C.

Proteínas: es bien conocido el hecho de que en la sangre normal hay tres grupos de proteínas: el de la serum-globulina, el de la serum-albúmina, y el del fibrinógeno. Este último grupo entra a formar parte del coágulo sanguíneo quedando por lo tanto en el suero las albúminas de los dos primeros gru-



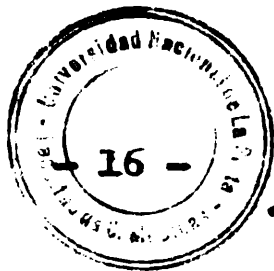
pos, ausencia que diferencia el suero del plasma sanguíneo.

Estas dos fracciones importantes, la serum albúmina y la serum globulina están formadas por distintas subfracciones. Así por ejemplo, recurriendo a la precipitación con sulfato de sodio a concentraciones distintas se ha aislado la euglobulina y la pseudoglobulina. Utilizando el procedimiento electroforético Tiselius ha podido separar tres subfracciones de globulinas, alfa, beta y gama que si bien tienen el mismo peso molecular poseen diferente punto isoelectrónico.-

La ~~serum~~-albúmina es soluble en agua pura: la ~~serum~~-globulina no lo es.

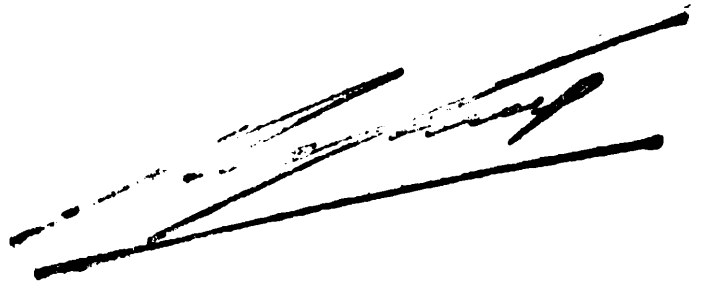
El sulfato de amonio en semi-saturación precipita la ~~serum~~-globulina, pero no la ~~serum~~-albúmina, lo mismo sucede con el sulfato de magnesio a saturación en reacción neutra. El sulfato de amonio a saturación precipita todas las fracciones de proteínas del suero.

La acción del calor sobre las distintas proteínas sanguíneas es muy importante para nuestro estudio, puesto que recurrimos al mismo para la preparación de los medios sólidos. Es necesario tener en cuenta que la temperatura de coagulación de los



prótidos varia de acuerdo a la reacción del medio y al contenido en sales del mismo. En las condiciones en que se encuentra en la sangre el fibrinógeno coagula a 56°; la serum-globulina comienza a precipitar a los 60° coagulando en masa a los 75° y la serum-albúmina inicia su precipitación a los 70° y la completa a los 84°.-

Por hidrólisis de las proteínas sanguíneas obtenemos distintos amino-ácidos, entre los cuales debemos mencionar en primer término la leucina que interviene en la proporción de un 20 % en la serum-albúmina y de un 15 % en la serum-globulina; el ácido glutámico en la proporción de 8,5 y 8 respectivamente, el ácido asparingínico 3 y 2,5; la cistina 2,5 y 1; la alanina 2,5 y 2; la fenil-alanina 3 y 4; la tirosina 2 y 2,5; el triptofano 1 y 4; la prolina 1 y 3, etc. Estas cifras son aproximadas. La glicocola, que se encuentra en la serum-globulina en la proporción de 3, 5%, se halla en la serum-globulina. El número de amino-ácidos encontrados en las proteínas sanguíneas humanas no es muy elevado, apenas sobrepasa los 20. Son estos distintos amino-ácidos los que confieren especificidad a las distintas proteínas y como consecuencia a los distintos sueros sanguíneos, puesto que los



lípidos, glúcidos y sales son idénticos en todos los organismos animales, si bien algunos investigadores afirman encontrar diferencias antigénicas en algunos polisacáridos.

Las propiedades químicas y físicas de las distintas proteínas animales no permiten aclarar su especificidad, pero la experimentación demuestra en forma indiscutible la existencia de marcadas diferencias. La inyección de las distintas proteínas produce reacciones inmunológicas específicas que son aprovechadas para su reconocimiento. Debemos sin embargo admitir que simples variaciones en la disposición de algunas funciones químicas puedan ser determinantes de tales diferencias biológicas.

Las diferencias químicas, físicas o fisicoquímicas de las distintas proteínas animales explicaría para nosotros numerosos fenómenos de receptividad e inmunidad.-

(2) Obtención de suero humano

Varias son las fuentes utilizadas para proveernos de suero humano:

- 1) Sangre sobrante de las muestras remitidas al laboratorio para su análisis.
- 2) Sangre proveniente de dadores voluntarios o profesionales.



3) Sangre obtenida en sangrías terapéuticas.

4) Sangre placentaria.

El primer medio es el más común y si el laboratorio trabaja regularmente cubre con amplitud sus propias necesidades de suero humano. Solo tenemos que extraer a cada paciente una cantidad de sangre algo mayor que la estrictamente necesaria. Tal proceder se justifica si tenemos en cuenta: a) que no es posible saber con anticipación la cantidad de suero que rendirá cada muestra de sangre. b) que es necesaria una cantidad de reserva para análisis complementarios, rectificaciones o ratificaciones, y c) que la molestia ocasionada al enfermo al extraerle unos pocos centímetros cúbicos más de sangre es mínima si se compara con la posibilidad de hacerlo concurrir otro día al laboratorio y la demora subsiguiente en el resultado de sus análisis.

Con objeto de obtener un suero límpido, ligeramente opalino, deben hacerse las extracciones en ayunas (cinco horas son suficientes) utilizando jeringas esterilizadas a seco, no sometiendo las muestras a agitaciones o movimientos bruscos, etc. Lógicamente debemos rodearnos de las máximas precauciones de asepsia.



Cuando la cantidad de material así obtenida es insuficiente debemos recurrir a los donantes voluntarios o profesionales. Cualquiera de los aparatos comunes para extracción de sangrecitrata puede servir para nuestros fines, claro está sin utilizar citrato de sodio. Tropeano prefiere el equipo del Dr. Sanmartino, estimándolo como práctico y eficiente. Por haber sido ampliamente difundido efectuaremos solamente un resumen de sus descripciones, que por la naturaleza de los equipos y accesorios es sumamente extensa. En frascos cilíndricos o cuadrangulares de 250 a 550 c.c. de capacidad, ocluidos por una tapa de goma, su compresor y la cubretapa, se efectúan las extracciones mediante una tubuladura independiente con tubo de caucho, aguja para el frasco, intermediario de vidrio (o pinza intermediario) y aguja para la vena. Compartimos la opinión de Tropeano, pero si no poseemos dicho equipo resulta igualmente eficaz un sistema improvisado con un recipiente para recoger la sangre; un sistema aspirativo (aspirador de Potain, pera Richardson invertida, etc) y gomas intermediarias de paredes resistentes para evitar se colapsen.

Técnica de la extracción:



1- Donante en posición acostada, bien cómoda, con las ropas aflojadas.

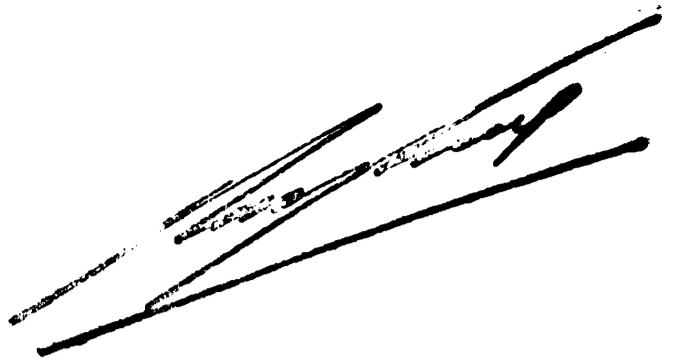
Lazo (o mejor faja de goma o el manguito del baumanómetro) a presión ligeramente superior a la diastólica, equivalente a la mínima más un tercio de la diferencial.

2- Antisepsia rigurosa (alcohol yodado, merthiolate, etc.)

3- Anestesia: un habón dérmico de clorhidrato de procaína al 2% en el lugar donde se va a punzar. La máxima ingurgitación del vaso se logra si aconsejamos al dador cerrar y abrir la mano periódicamente y haciendo masaje del antebrazo en sentido proximal.

4- Punción venosa mediante aguja 25/10 o 25/12, de bisel mediano y bien afilada. Ya en vena soltar la pinza y aplicar la aspiración. Durante la extracción debe vigilarse la correcta velocidad de extracción, que debe ser a chorro y no por goteo, por el riesgo de la coagulación.

La interrupción de la corriente sanguínea puede deberse a varios factores siendo los más frecuentes: pinza demasiado apretada o demasiado floja; exceso o falta de aspiración en el recipiente recolector (es útil un manómetro de mercurio interpuesto

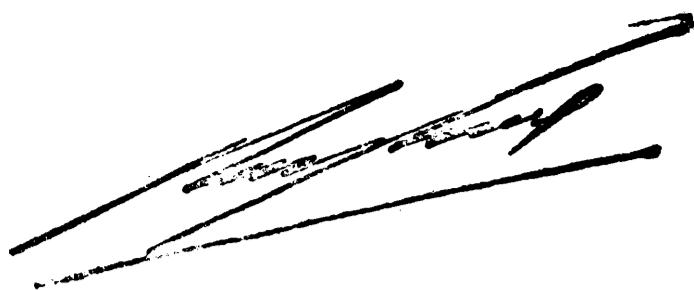


entre el Frasco de transfusión y la sople de goma, para que regule la extracción a 10-12 c. de mercurio); el bisel de la aguja se aplica a la endovena, lo cual requiere un ligero movimiento corrector.

Asimismo debe observarse la tolerancia a la extracción: desviando la atención del donante, evitando la emotividad. Suspender en caso de tetania que obedece a la hiperventilación originada por la emotividad. En este caso debemos colocar una bolsa de papel sobre la boca y hacer que inspire aire espirado, para que suba rápidamente la concentración de CO₂.

Finalizada la extracción, se procede a hacer abrir la mano, aflojar la ligadura (evita hematomas), retirar la aguja bajo un hisopo de alcohol y haciendo elevar el brazo con fines hemostáticos. El dador permanecerá aún acostado unos minutos (profilaxis del desmayo tardío) y deberá ser observado antes de retirarse, pudiendo alimentarse a continuación, hecho reconfortante dado que la operación exige un ayuno previo relativo.

La máxima cantidad de sangre a extraer depende del peso del dador y de su temperamento. Habitual-



mente extraemos a cada dador 250 a 300 C.C. de san
gre, no siendo aconsejable sobrepasar esa cantidad.
Una regla práctica para calcularla es multiplicar
el peso por 75 y extraer el 10 % de la cifra en-
contrada.

Es necesario extremar las precauciones en lo que
respecta al funcionamiento de los aparatos de aspi
ración a fin de evitar posibles accidentes embóli-
cos.-

Una fuente económica y abundante de suero sangúí
neo lo constituye la sangre placentaria. El volúmen
de sangre a extraer en cada alumbramiento oscila en
tre los 50 y los 150 C.C. pudiendo llegar en algu-
nos casos a 300 C.C. Cuando los latidos del cordón
han cesado, se liga y secciona el mismo. Con las
máximas precauciones de asepsia recogemos luego la
sangre placentaria en un recipiente adecuado.

3- Preparación de los medios de cultivo a base de suero humano:

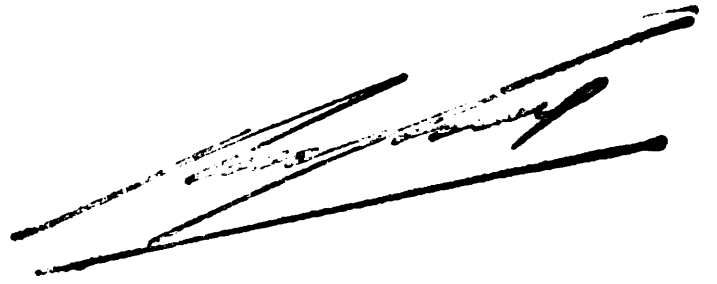
Cualquiera sea la fuente utilizada para proveer
nos de sangre, debemos luego obtener el suero, para
lo cual dejamos coagular dicha sangre manteniéndola
una hora a la temperatura ambiente y luego 24 horas
en la heladera.



En los envases grandes es necesario destapar los frascos y fragmentar el coágulo. Contrifugación. En tubos de ensayo procedemos luego a repartir el suero en cantidades de 5 a 10 C.C. por tubo. El suero líquido es así conservado para la preparación de otros medios y también para sumergir en ellos un hisopo, descripto por Tropeano para la investigación del bacilo de Löffler.

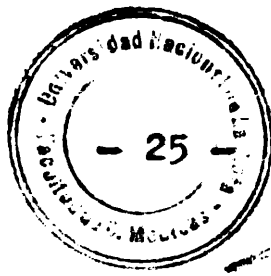
Transcribo el relato original del citado autor, así como también la técnica por él empleada para preparar los distintos medios de cultivo a base de suero humano y sus caracteres:

"En la extremidad de un alambre poco flexible y resistente colocamos una pequeña torunda de gasa o algodón; la extremidad opuesta se monta en el tapón correspondiente a un tubo de ensayo. El conjunto se esteriliza a seco y se tiene preparado así para el uso. Para el diagnóstico bacteriológico de las anginas procedemos a efectuar sendos toques con el hisopo de las zonas sospechosas. Una vez en el laboratorio, con un ansa esterilizada retiramos parte del material para efectuar un examen directo y otras siembras, realizado lo cual sumergimos el hisopo en el tubo conteniendo suero humano estéril;



lo dejamos unos segundos, retiramos y hacemos escurrir, colocándolo nuevamente en su tubo, el que es llevado a la estufa a 37°. A las pocas horas se suele observar en caso de angina diftérica efectuando un preparado con el material del hisopo, una cantidad extraordinaria de bacilos de Löffler. El método nos ha resultado por rapidez y eficiencia comparable a las mejores técnicas conocidas, teniendo a su favor la ventaja de su extrema simplicidad.

Podemos igualmente proceder a la coagulación del suero humano y obtener así un medio de cultivo sólido albuminoso natural. La operación se hace en la misma forma que para el suero bovino o equino. Es necesario calentar a la temperatura mínima que asegure la solidificación, 68° a 70°. Pasando esta temperatura el suero pierde una de sus propiedades más interesantes, su transparencia, haciéndose opaco. Las estufas especiales para coagulación de sueros constituyen un complemento muy útil para el trabajo, puesto que suministran un calor uniforme y permiten dar al fondo de la caja la inclinación deseada para la obtención del medio en "pico de flauta". El fondo de la estufa se cubre con arena, llenando la doble pared de la caja con agua. Para



los medios habituales (utilizando tubos de ensayo comunes) colocamos de 5 a 6 c.c. por tubo. Conviene mantener durante la solidificación un cierto grado de humedad en el ambiente; el suero sólido así obtenido es más transparente. El tiempo que deben permanecer bajo la acción del calor es por lo general de una hora y media. Una vez retirado de la estufa cubriremos la extremidad del tubo mediante un capuchón de goma, celofán, etc, a fin de evitar la desecación del medio.

El suero humano puede utilizarse igualmente para reemplazar con ventaja al suero bovino en la preparación de todos los medios albuminosos compuestos comunes o especiales.

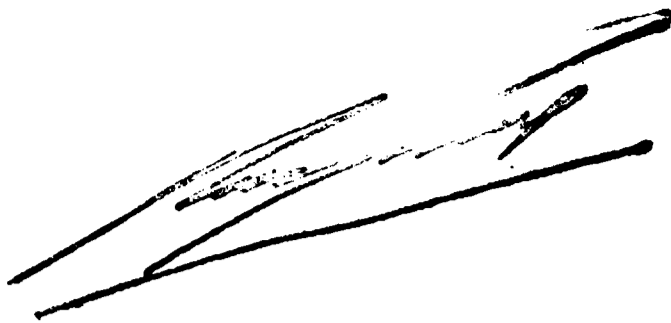
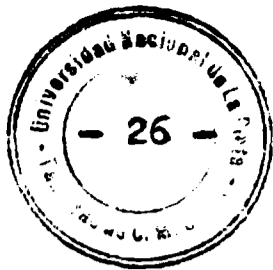
En el suero coagulado de Löffler reemplazamos el suero bovino por el suero humano en igual cantidad:

Suero humano 3 partes.

Caldo glucosado al 1% 1 parte.

Mezclar; repartir en tubos (5 c.c. cada uno); llevar al coagulador a 70° una hora y media; repetir la operación tres veces con 24 horas de intervalo.

Agar-suero: Fundimos el agar; enfriamos los tubos hasta 52°; agregamos el suero humano en la



proporción de una parte de suero y tres de agar.

Dejar enfriar en posición inclinada.

En el medio de Manzullo, reemplazamos igualmente la sangre de bovino por albúminas en la misma proporción:

Caldo común	10 c.c.
Sol. de telurito de K 1%	1 c.c.
Suero humano	1 c.c.

En el tubo en el cual se encuentra el hisopo colocamos 5 c.c. de este medio y llevamos todo a 37° durante 3 o 4 horas.

Para el estudio de las fermentaciones recurrimos igualmente a medios con caldo y suero, o agua y suero adicionado al azúcar desecado y el indicador.

Agua destilada	80 c.c.
Suero humano	20 c.c.
Glucido desecado	1 gr.
Indicador	c.s.

Como indicador utilizamos el rojo cloro fenol en solución alcohólica al 0.04 %, o bien el indicador de Andrada cuya fórmula es la siguiente:

Fúcsina ácida	0.50 gs.
Sol. Na Oh n/l	16.00 c.c.
Agua destilada	100.00 c.c.



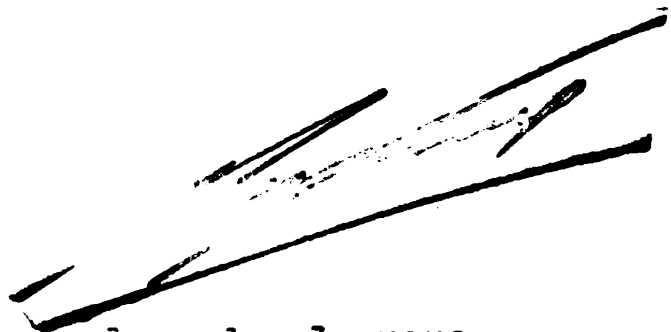
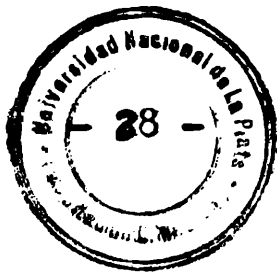
Caracteres de cultivo obtenidos

Hemos recurrido a los medios de cultivo a base de suero humano principalmente para el estudio del bacilo diftérico, gonococo y meningococo, habiendo obtenido en muchos casos el desarrollo de muchos gérmenes comunes, lo cual nos ha permitido también estudiar su desarrollo.

El bacilo de Löffler (*Corynebacterium diptheriae*) desarrolla preferentemente en estos medios de cultivo.-

Sumergiendo el hisopo con el cual se hizo el frotis, como dijimos anteriormente en suero humano y llevándolo luego a 37° se obtiene un desarrollo abundante del bacilo diftérico en pocas horas. El empleo del telurito de potasio, por su acción frenadora sobre los otros gérmenes es ventajosa.

En suero humano coagulado se forman después de las 12 horas colonias típicas, del tamaño de una cabeza de alfiler, con una parte central más obscura que la periférica, de color blancogrisáceo. En estría, a las pocas horas se hacen confluentes. El bacilo diftérico es por lo general el primero de los gérmenes que desarrolla en este medio, obteniéndose a veces las primeras colonias ya a las 10 horas.-



En el medio de Pergola, reemplazando el suero equino o bovino por el suero humano hemos obtenido mayor número de cultivos positivos y mayor precocidad en el desarrollo.

Su composición es la siguiente:

Solución clorurada fisiológica	50 c.c.
Suero humano	50 c.c.
Solución de telurito de potasio 1%	2 c.c.
Yema de huevo	1 unidad

También hemos substituido en el medio de Horgan y Marshall la sangre desfibrinada de bovino por el suero humano:

Agar al 2 %	10 c.c.
Solución de telurito K 1%	1 c.c.
Suero humano	1 c.c.

Se funde el agar. Se enfría a 55°; se agrega la solución de telurito de potasio al 1 % y el suero humano se mezcla; se vierte en cápsulas de Petri. Hacemos la siembra pasando el hisopo por la superficie del medio. El bacilo diftérico es el primero en desarrollar, mientras que los denominados pseudo-diftéricos lo hacen más tarde.

El meningococo desarrolla abundantemente en los medios a base de suero humano. Los resultados obtenidos con estos medios son muy superiores a todos



los restantes. El desarrollo es más rápido, constante y abundante.

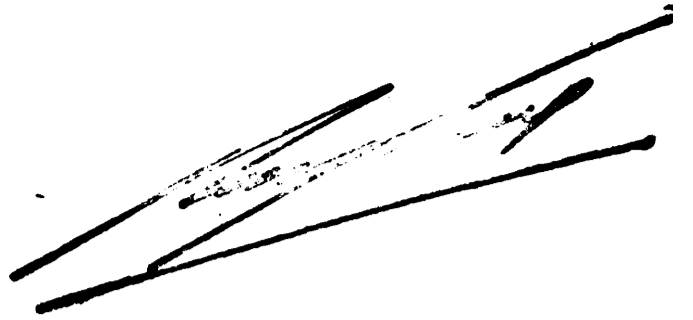
En agar-suero se forman colonias aisladas, redondeadas, poco elevadas, que a las 24 horas tienen ya 1 o 2 mms de diámetro; su color es grisáceo. Pasado este tiempo pueden confluir formando una estría que llega a ser muy marcada, mucho más que con cualquiera de los medios comunes.

En suero humano coagulado el desarrollo presenta casi los mismos caracteres, si bien las colonias suelen ser más opacas y adherentes.-

El cultivo del sedimento de orina persiguiendo como principal finalidad la investigación del gonococo constituye un examen de rutina siendo sus indicaciones varias:

1°. En el diagnóstico etiológico de las distintas uretritis: cuando el examen bacteriológico directo resulte negativo o dudoso, el cultivo del sedimento de orina nos permitirá conocer el agente patógeno del proceso inflamatorio y hacer la correspondiente terapéutica etiológica, que es en realidad la única eficaz.-

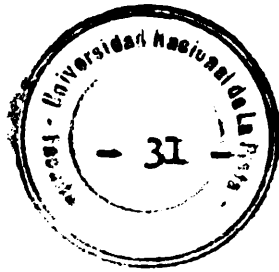
2°. Como prueba de curación de una uretritis: la indicación del cultivo de orina debe ser formal al final del tratamiento; se tendrá así la comproba-



ción bacteriológica de la terminación de la infección gonocócica y se evitarán las llamadas "recidivas" o "reinfecciones" tan frecuentes y que en realidad no constituyen más que la continuación del proceso inicial. Son realmente frecuentes, si bien no comunes, los cultivos positivos en enfermos recientemente tratados, aún en ausencia de todo síntoma clínico; son estos los enfermos que a los pocos días o semanas de ser dados de alta vuelven al médico con su secreción uretral. El número de estos enfermos ha aumentado ultimamente con la divulgación de la quimioterapia de la blenorragia; la automedicación trae como consecuencia el abandono total del tratamiento al notar la desaparición de la secreción uretral.

3°. El certificado prenupcial de salud, oblitario entre nosotros desde hace poco tiempo, no debería extenderse nunca sin previo cultivo de orina y examen serológico de sangre, única forma de conocer en realidad el estado del candidato y la ausencia de las enfermedades especificadas en la ley.

4°. Desde el punto de vista médico-social, la práctica sistemática del cultivo de orina, realizado correctamente, en todos los enfermos convalecientes de blenorragia o afectados por un proceso

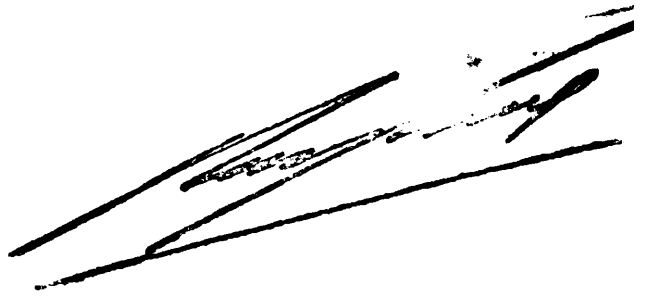


uretral, cualesquiera sea el aspecto macroscópico de la secreción (aspecto que no permitirá nunca por si solo hacer una diagnóstico etiológico) constituye una medida fundamental de profilaxis colectiva.

Como vemos, la cuatro indicaciones citadas son de por si más que suficientes para hacer del cultivo de sedimento de orina una investigación de inestimable valor, y sin embargo no sucede así; para muchos se trata de un examen incierto, inseguro y hasta desprovisto de todo valor; el cultivo positivo sería raro, excepcional; hasta se cita el caso de cultivos negativos en plena uretritis blenorragica aguda. Todo esto es cierto, pero también lo es el hecho de que el cultivo de orina es una investigación delicada, que requiere una técnica precisa en relación a la biología del agente patógeno de la blenorragia y de acuerdo a la topografía del proceso infeccioso.

En la investigación del gonococo en la orina debemos considerar: 1º) La preparación del enfermo - 2º) La recolección de la muestra - 3º) Los medios de cultivo a utilizar:

1º.) Preparación del enfermo para un cultivo de sedimento de orina:



El enfermo debe concurrir al laboratorio con una retención de orina que date de más de 4 ó 5 horas, para lo cual se le aconsejará que orine bien tarde al acostarse, o bien en las primeras horas de la madrugada, utilizando al efecto un despertador. Las noches que preceden al examen ingerirá bebidas alcohólicas (cerveza, etc).

Deberá suspenderse todo tratamiento por vía oral (sulfamilamidas, urotropina, etc).

2º.) Recolección de la muestra de orina: Es común que el enfermo envíe la muestra en un recipiente bien esterilizado, habiendo efectuado la micción una o varias horas antes, sin tener en cuenta que el examen practicado en estas condiciones no tiene valor, pues recordando la biología del gonococo deducimos que sembrando el sedimento de dicha orina, tenemos grandes probabilidades de que el cultivo sea negativo, especialmente en las mañanas de invierno. En efecto, el gonococo es un germen sumamente lábil a los cambios de temperatura ambiente para que parezca o pierda su capacidad de desarrollo. Por esta razón fundamental debemos recoger la muestra directamente en el laboratorio en un recipiente esterilizado. Previa antisepsia del glande



con un algodón embebido en un antiséptico común (oxhicianuro de mercurio, por ejemplo), se procede a efectuar un masaje de uretra sobre beniqué; deberá utilizarse el número más amplio que tolere la uretra sin dolor; si el enfermo ha padecido una prostatitis, deberá practicarse igualmente un masaje a la micción. Inmediatamente se recogerá la primera orina en un tubo de ensayo esterilizado, procediéndose a continuación a efectuar la siembra; si la misma debe retardarse más de unos minutos; se conservará el tubo en la estufa a 37°.-

3°) Medios de cultivo a utilizar: Recogida la muestra, se centrifuga y mediante la ayuda de un ansa o varilla delgada de vidrio se procede a sembrar los medios de cultivo elegidos. Si bien es cierto que el gonococo puede desarrollarse en los medios de cultivo comunes, como lo ha demostrado el ilustre maestro argentino Julio Méndez, es preferible el empleo de medios especiales que hacen el desarrollo más rápido y fácil, El más práctico y económico de estos medios es el suero coagulado; puede utilizarse suero equino, bovino, etc. Mejores resultados hemos obtenido, sin embargo con el suero humano; su obtención es fácil en los laboratorios



que trabajan intensamente, puesto que siempre persisten restos de muestras obtenidas para investigaciones químicas ó serológicas, las cuales sumadas, nos suministran cantidades ^{apreciables} de este elemento.

También puede utilizarse el suero proveniente de las sangrías terapéuticas, que si bien tienden a emplearse cada día menos, son aún indicadas con suficiente frecuencia como para constituir una fuente de suero humano. En este caso se recogerá la sangre directamente de la vena en un recipiente que deberá dejarse en reposo con el fin de favorecer la formación de suero; una vez separado éste, se reparte en tubos que se colocan en la estufa a 70° durante una hora, en posición inclinada para que la coagulación se haga en pico de flauta; se esterilizarán por tyndalización. También puede utilizarse agar-ascitis o agar-testículo; este último, preparado por la casa Difco, da también muy buenos resultados. Nosotros sembramos cada muestra simultáneamente en por lo menos tres medios de cultivo: suero humano coagulado, agar-ascitis y agar-testículo.-

Los medios sembrados se colocarán en la estufa a 37° durante 48 horas. Las colonias de gonococo



se caracterizan por ser pequeñas, blanco grisáceas, ligeramente translúcidas, de bordes sinuosos. Se hará una emulsión de una pequeña partícula de cada tipo de colonia en suero fisiológico y previa extensión, desecación y fijación, se coloreará con los procedimientos habituales.

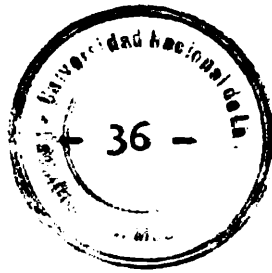
En caso de que los cultivos resulten negativos, es conveniente como medida de precaución, hacer una nueva recólección de muestra y siembras consecutivas.

Siguiendo la técnica que antecede, no hemos obtenido hasta la fecha ninguna contradicción clínica en mil cultivos de orina, de los cuales 97 resultaron positivos".

5 - Observaciones y datos comparativos.

Los gérmenes que presentan preferencia para desarrollar en medios a base de suero humano son tres: el meningococo, el gonococo y el bacilo diftérico. A continuación detallamos algunos resultados comparativos.

Meningococo: No tenemos experiencia personal con el empleo de los sueros humanos para este germen, pero a título ilustrativo presentamos algunos resultados comparativos obtenidos por el Profesor Tropeano:



Muestra N°.	Agar	Caldo	Agar-suero bovino
1	Neg.	Neg.	Escaso
2	Pos.debil	-	Neg.
3	Pos.		Pos.
4	Pos.deb.	Neg.	Pos.deb.
5	-	-	Neg.
6	Neg.	Neg.	Abund.
7	Pos.deb.	Pos.deb.	Reg.
8	Neg.	Neg.	Abund.
9	Neg.	Neg.	Escaso
10	Neg.	Neg.	Escaso

Muestra N°	Agar-suero humano	S.bov. humano
1	Abundante	Reg. abund.
2	Abund.	Abund. Abund.
3	Pos.	Pos. Abund.
4	Reg.	Reg. Pos.
5	Abund.	Reg. Abund.
6	Abund.	Abund. Abund.
7	Reg.	Reg. Reg.
8	Reg.	Reg. Reg.
9	Abund.	Reg. Abund.
10	Abund.	Neg. Reg.

Como se observa obtiene un resultado rápido, abundante y constante en los medios a base de suero humano.-



Para el gonococo presentamos una pequeña estadística constituida por 10 observaciones de cultivo de sedimento de orina positivo para el gonococo:

Muestra N°	Agar	Agar-ascitis	Agar-suero bovino
1	Pos.	Pos.	Pos.
2	Neg.	Pos.	Pos.
3	Neg.	Pos.	Pos.
4	Neg.	Neg.	Neg.
5	Pos.	Pos.deb.	Pos.
6	Neg.	Pos.deb.	Neg.
7	Neg.	Pos.deb.	Pos.deb.
8	Neg.	Pos.	Neg.
9	Pos.	Neg.	Pos.
10	Neg.	Neg.	Neg.

Muestra N°	Agar-suero humano	Suero hum.
1	Pos.	Pos.
2	Pos. Deb.	Pos.
3	Pos.	Pos.
4	Pos. Deb.	Pos.
5	Pos.	Pos.
6	Neg.	Pos.
7	Pos.	Pos. deb.
8	Pos.	Pos.
9	Neg.	Pos.
10	Pos.	Neg.



Estos resultados concuerdan con los obtenidos por el Prof. Tropeano en una estadística aún no publicada de 50 casos ofrecida por el mismo.

6 - Conclusiones.

Los casos presentados si bien no son numerosos confirman los resultados obtenidos por otros investigadores, a saber: a y b.

a) El suero humano constituye el material de elección cuando deseamos enriquecer con albúminas los medios de cultivo comunes o especiales utilizados en la investigación de agentes patógenos del hombre.

b) Su empleo se manifiesta particularmente eficaz en la investigación del bacilo de Löffler, meningococo y gonococo.



7 - Bibliografía.

- Tropeano A: Empleo del suero humano en los medios de cultivo. Facultad de Medicina de La Plata, cátedra de Microbiología 1945.
- Tropeano A: El cultivo del sedimento de orina, su técnica y su valor. Boletín Biológico Julio 1942.-
- Larraburu R.B.: Técnica original para cultivar el gonococo. El Día Médico - Junio 17 de 1946.-
- Levine and H.W.Schoenlein: Compilation of culture Media for the Cultivation of Microorganismos.
- Gradwohl R.B.H.: Clinical Laboratory Methods and Diagnosis.
- Wadsworth A.B.: Métodos Standard de Laboratorio.
- Barzizza C.M. y Manso Soto A.: Microbiología .
- Jordán E. O. and Burrows W.: Text Book of Bacteriology.
- Tropeano y Cortés A.R.: Bacteriología y Microbiología Médica.-
- Kolmer J. A.- Approved Laboratory Technic.

Son 39 fajás.
[Handwritten signature]



[Handwritten signature]
RAFAEL G. ROSA
PROSECRETARIO

[Handwritten signature]
108
29/7