

Tesis de Posgrado

Contribución al estudio sistemático de algunas Actinomycetales

Iaconis, Celina Leonor

1942

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Naturales de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Iaconis, Celina Leonor. (1942). Contribución al estudio sistemático de algunas Actinomycetales. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0296_Iaconis.pdf

Cita tipo Chicago:

Iaconis, Celina Leonor. "Contribución al estudio sistemático de algunas Actinomycetales". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1942.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0296_Iaconis.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

CONTRIBUCION AL ESTUDIO SISTEMATICO DE ALGUNAS ACTINOMYCETALES

por Celina Leonor Iaconis

Tesis presentada para optar al título de Doctora en
Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas
y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

Año 1942

La autora cumple un deber al agradecer aquí a su padrino de tesis, Prof. Ing. Agr. Santos Soriano, las directivas dadas durante la ejecución del trabajo así como la ayuda prestada en la revisión y corrección del texto original; al Prof. Dr. Alfredo Sordelli por la elección del tema y las facilidades acordadas para realizar la primera parte de esta investigación en los laboratorios del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene y al Prof. Dr. Pedro Escudero el haberle permitido continuar y terminar este trabajo en el Instituto Nacional de la Nutrición.

INTRODUCCION

Actinomycetales es un orden de la clase de las Schizomycetes o bacterias, cuyos representantes tienen generalmente forma de bastones rectos o con ensanchamientos en uno o ambos extremos o en el centro, a menudo son filamentosos y ramificados, dando lugar en algunos géneros a la formación de un micelio aéreo; algunos representantes de este grupo son capaces de producir conidios.

El objeto del presente trabajo ha sido el de realizar el estudio sistemático de aquellos microorganismos que por sus características deben incluirse en este orden, aunque solamente aquellos que de acuerdo al criterio de Jensen pertenecerían a la familia de las Proactinomycetaceae, es decir de aquellos microorganismos que se presentan en forma de bastones, a menudo deformados o bien filamentosos y ramificados, capaces de producir un micelio aéreo, pero nunca capaces de producir conidios.

Los organismos aquí estudiados, se aislaron de diferentes muestras de tierras, aguas y excrementos de animales, recolectadas en su mayor parte en la ciudad de Buenos Aires y alrededores y algunas del interior de la República.

Capítulo I

ANTECEDENTES

Cohn (1875) fue el primero que descubrió una bacteria filamentosas capaz de producir concreciones en el conducto lacrimal y a la que denominó Streptothrix foersteri.

Harz (1877) describe con el nombre de Actinomyces bovis un germen filamentosos ramificado.

Trevisan (1889) establece una relación muy estrecha entre el organismo descrito por Cohn (Streptothrix foersteri) y el de Harz (Actinomyces bovis), proponiendo el nombre de Nocardia para el género al cual pertenecerían estos organismos, considerando impropios los primeros por haber dado Gorda (1839) el nombre de Streptothrix a un organismo perteneciente a las Hyphomycetes y Meyer (1827) el de Actinomyces a un hongo que fue colocado más tarde en el grupo de las Hidrotremillinae.

El nombre de Actinomyces es aceptado por varios autores Ludvig (1892), Terni (1894) y Gasparini (1895).

Metschnikoff (1888), Almquist (1890), Boström (1890), Kruse (1896) observaron puntos de similitud entre las Actinomyces y el bacterio tuberculoso y el diftérico tales como las formas pleomórficas de las primeras y el desarrollo ramificado de las últimas, ácido resistencia y la habilidad del bacilo tuberculoso y formas relacionadas de producir un desarrollo parecido a actinomicosis en el organismo animal.

Lehmann y Neumann (1896) son los primeros que agrupan en un género que llaman Corynebacterium a los organismos semejantes al bacterio diftérico y en otro a los organismos ácido resistentes al que designan con el nombre de Mycobacterium. Estos dos géneros,

los reúne en la familia de las Hyphomycetes, junto con el género Oospora al que define como organismos que forman micelio de largos filamentos, a menudo encorvados, sin vaina, con verdaderas ramificaciones. Muchas especies producen conidios sobre hifas aéreas. No son ácido resistentes.

Lachner y Sandoval (1898) reúne por primera vez en una familia a la que llama Actinomycetes los géneros Mycobacterium, Corynebacterium y Actinomyces.

Chester (1899-1900) revisando la familia de las Mycobacteriaceae considera en ella dos géneros; uno, el Mycobacterium en el que incluye las corinebacterias y otro que comprende Streptothrix y Oospora.

Orla Jensen (1909) reúne en la familia de las Actinomycetes los géneros Actinomyces, Rhizomonas, Mycomonas y Corinemonas estos dos últimos son los géneros Mycobacterium y Corynebacterium de Lehmann y Neumann.

Buchanan (1917) crea el orden de las Actinomycetales con una sola familia Actinomycetaceae que comprende cuatro géneros: Actinobacillus, Leptothricia, Actinomyces y Nocardia, separando los géneros Mycobacterium y Corynebacterium a los cuales los coloca en la familia de las Bacteriaceae correspondiente al orden de las Eubacteriales.

Orskov (1923), Bergey (1923-1939), Lehmann y Neumann (1921), Jensen (1931), Waksman (1940) admiten en el orden de las Actinomycetales tanto los representantes del género Actinomyces como los representantes de los géneros Mycobacterium y Corynebacterium. Cada uno de ellos hace una clasificación distinta del orden basándose para esto en diferentes características, creando a veces nue-

vas familias o géneros o bien variando la nomenclatura de los mismos. Los detalles de estas clasificaciones se dan en otro capítulo

Kluyver y Van Niel (1936), Stanier y Van Niel (1941) separan los géneros Mycobacterium y Corynebacterium del orden de las Actinomycetales y los colocan en el orden de las Eubacteriales. Sin embargo, los consideran como los organismos más próximos, por sus características, de las Actinomycetales.

Capítulo II

MATERIAL Y METODOS DE ESTUDIO

1.- Material

Las 98 cepas estudiadas en este trabajo fueron aisladas de diferentes muestras de tierras, aguas y excrementos de animales, solamente, algunas cepas de gérmenes ácido resistentes, entre ellas las de Mycobacterium tuberculosis y las cepas de Corynebacterium diphteriae fueron obtenidas en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene. (1)

2.- Aislamiento

Para el aislamiento de estos microorganismos se siguieron dos técnicas: la de Söhngen para los organismos ácido resistentes y la de Orskov para los no ácido resistentes.

Técnica de Söhngen: Esta técnica consiste en sembrar el material a investigar en un medio de cultivo líquido, mineral, compuesto por fosfato bipotásico, cloruro de amonio, carbonato de calcio y agua de canilla al que se le agrega como única fuente orgánica de carbono un hidrocarburo que puede ser parafina, bencina, kerosene, etc.

Cuando se observan gran cantidad de ácido resistentes, se siembra parte de estos cultivos impuros en cajas de Petri conteniendo un medio mineral compuesto por fosfato bipotásico, sulfato de

(1) La autora se complace en agradecer aquí la gentileza que tuvieron el Sr. C. Acuña y el Dr. A. Manzullo al facilitarle las cepas de algunos organismos ácido resistentes y de Mycobacterium tuberculosis y las cepas de Corynebacterium diphteriae, respectivamente

de magnesio, agua destilada y agar lavado al 2% y como fuente de carbono se le hacen llegar vapores de petróleo, colocando este en vidrios de reloj, sobre la tapa de la caja de Petri invertida.

El medio de enriquecimiento se probó con diferentes sustancias hidrocarbурadas a saber: petróleo crudo, gas oil, fuel oil, agricol, vaselina, parafina, benzina, kerosene pra ver cual de ellas facilitaba más el desarrollo de los gérmenes ácido resistentes y se llegó a la conclusión que la parafina y la vaselina eran las mejores.

En este medio desarrollan primero y en gran cantidad, otras bacterias que no son ácido resistentes y que dificultan el aislamiento de estas, para eliminarlas se hizo el siguiente ensayo:

Se sembraron cinco muestras de tierras en la siguiente forma: primero directamente, segundo, despues de agitar cada muestra, durante cinco minutos, con un volumen diez veces mayor de agua o de una solución de ácido clorhídrico al 1, 2, 3, 4, 5, % y centrifugándolas.

No se obtuvieron diferencias notables en el desarrollo predominado siempre las bacterias ácido resistentes.

Esto hizo pensar en la posibilidad de que para el desarrollo de los gérmenes ácido resistentes fuera necesario que otras bacterias les preparasen el medio para poder desarrollar. Para comprobar esto se sembraron cultivos puros de gérmenes ácido resistentes, facilitados por el Sr. Acuña; en estos despues de un mes, se observó desarrollo.

Al tratar de aislar los organismos, en cajas de Petri, con el medio sólido de Söhngen, nunca se pudo conseguir colonias aisladas, porque las bacterias acompañantes invadían la caja.

Variante de la técnica de Söhnngen : Para evitar el inconveniente apuntado, a sugerión del Prof. Dr. A. Sordelli se empleó el siguiente método:

Se tritura en un mortero un trozo de parafina que contiene gran cantidad de gérmenes ácido resistentes, con más o menos 30 cc. de solución clorhídrica al 4 % durante 5 minutos y después de lavar varias veces con solución fisiológica hasta neutralizar, se siembra en medio de Petragani glicerinado. Al principio también se sembraron en agar común y agar glicerinado, pero en estos medios las infecciones los invadían completamente, mientras que en aquel, aparecen puntos de color amarillo, anaranjado o blanco que contienen gran cantidad organismos ácido resistentes, estos se siembran en superficie en caja de Petri con agar glicerinado, de donde por picadura de las colonias se obtienen los cultivos puros.

Muy pocas veces se consiguió aislarlos directamente del medio de Petragani.

Técnica de Orskov : La técnica de Orskov que se siguió para aislar los organismos no ácido resistentes, se empleó a sugerión del Prof. Ing. Agr. S. Soriano y consiste en sembrar el material a investigar, en superficie, en una caja de Petri conteniendo el siguiente medio de cultivo: 2,0 grs de glucosa, 0,2 gr. de caseína disuelta en 10 cc. de NaOH N/1, 0.5 gr. de fosfato biopotásico, 0,2 gr. de sulfato de magnesio, 1000 cc. de agua y 15.grs de agar.

La incubación se efectuó a 30°C. A las 24 hs. se picaron con ayuda del micromanipulador de Soriano, las colonias ligeramente ramificadas o aquellas en las cuales los gérmenes presentaban la disposición característica de las corine y micobacterias, aislándolas en agar estria.

3.- Estudio de los cultivos puros

Las características morfológicas, de los cultivos y fisiológicas de las cepas aisladas, se estudiaron siguiendo en general las técnicas descritas en el Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria, editado por la Society of American Bacteriologists.

A.- Características morfológicas

Las características morfológicas se determinaron por preparados de adhesión, preparados coloreados y preparados con nigrosina.

a) Los cultivos de adhesión se realizaron siguiendo la técnica de Lindner y el medio de cultivo utilizado fue caldo glicerinado al 1 %. Por este método se observó la forma de los gérmenes y la movilidad.

b) Preparados coloreados: Los gérmenes provenientes de cultivos en agar estría se coloreaban según las técnicas de Gram-Kopeloff y Ziehl-Nielsen estableciendo así las características de Gram y ácido resistencia.

c) Preparados con nigrosina: Las dimensiones de los microorganismos se obtuvieron por medición de los mismos en fotografías de preparados con nigrosina. Los microorganismos con los cuales se confeccionaron los preparados provenían de cultivos de 24 hs. en agar estría.

B.- Características de los cultivos

El estudio del carácter de los cultivos se realizó en diferentes medios a saber: caldo común, caldo glicerinado al 1 %, agar común, agar glicerinado al 1 %, medio de Petraghani glicerinado y papa glicerinada.

C.- Características fisiológicas

Se determinaron las características fisiológicas siguientes

a) Temperaturas óptima y máxima de desarrollo: Estos caracteres se determinaron sembrando en caldo glicerinado al 1%, una gota de una suspensión homogénea de gérmenes en solución fisiológica e incubándolos a temperatura ambiente, 30, 37, 40, 45, 50 y 55°C.

La temperatura óptima se determinaba observando a las 24 o 48 hs. a cual temperatura había desarrollado mejor el germen y la temperatura máxima, considerando la temperatura más alta en la cual todavía se observaba desarrollo.

b) Relación con la reacción del medio: Se determinaba en caldo glicerinado al 1 % al que por adicción de soluciones normales estériles de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio se llevaba a diferentes pH: 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0 y 9.5. Cada tubo de la serie se sembraba con una gota de una suspensión homogénea de gérmenes, en solución fisiológica y a las 24 hs de incubación, a temperatura óptima, se observaban para ver en cual de ellos aparecía primero o más abundante el desarrollo, considerando este, el pH óptimo. El desarrollo en los otros tubos indicaba la acidez o alcalinidad más alta que es capaz de soportar el germen.

c) Relación con el oxígeno: Se determinaba sembrando el microorganismo, en dilución, en tubos con agar glicerinado al 1 %, licuados y entibiados a 45°C. La observación se efectuaba a los 5 o 6 días de incubación.

d) La acción sobre la gelatina: Se determinó en tubos de gelatina caldo sembrados en punción e incubados durante 10 días.

e) La acción sobre la leche: Se determinaba en tubos de leche con bromo cresol púrpura.

f) La acción sobre los hidratos de carbono :Se realizó por dos procedimientos:

Primero, se verificó que no eran capaces de fermentar los hidratos de carbono en el medio de Kulp y Retzger siguiendo la técnica de Soriano (1938)

Segundo, se determinó la capacidad de utilización de los mismos por el método de Merrill(1930).

g) La acción sobre los glóbulos rojos : Se realizaba en cajas de Petri con agar común y sangre desfibrinada de carnero al 1 % El poder hemolítico se verificaba hasta el décimo día de incubación

h) Reducción de nitratos:Se verificaba en caldo nitrado al 1 % con el reactivo de Thomson, hasta el décimo día de incubación.

i) Producción de indol:Se controlaba en caldo común con el reactivo de Kovacs a los 10 días de incubación

j) Producción de ácido sulfhídrico :Se verificaba en tubos con caldo común que llevaban una cinta de papel de filtro impregnada con acetato de plomo. La observación se realizaba hasta el décimo día de incubación.

k) Producción de acetil-metil-carbinol: Se determinaba por la reacción de Voges Proskauer en el medio aconsejado por los norteamericanos en el Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria, al décimo día de incubación.

Capítulo III

SISTEMATICA DE LAS ACTINOMYCETALES

A continuación, se dan en detalle las clasificaciones del orden de las Actinomyetales que se consideran más importantes, comenzando por la de Orskov por ser este el primer autor que hace una clasificación racional del orden.

Clasificación de Orskov

Orskov (1923) sugiere una división del orden de las Actinomyetales en tres grupos de acuerdo a las características morfológicas siguientes:

Grupo I. Este grupo se caracteriza por reunir los organismos que forman un micelio vegetativo, indivisible, unicelular y un micelio aéreo compuesto de hifas más gruesas que las del micelio vegetativo y dividido en cuerpos parecidos a esporas de tamaño y forma regular y uniforme. Cohnispreptothrix es el nombre que el sugiere dar a este nombre.

Grupo II. Comprende los organismos en los cuales tanto el micelio vegetativo como el aéreo se dividen en piezas de tamaño y forma irregular, sin formar cuerpos parecidos a esporas.

El micelio esta ausente en un subgrupo en el cual hay tendencia a adoptar el desarrollo angular característico de las cori y micobacterias que estan en este grupo, al cual propone llamar Actinomyces.

Grupo III. En este grupo considera los organismos que forman un micelio unicelular, sin hifas aéreas, pero con cuerpos parecidos a esporas naciendo sobre las terminaciones de las cortas ramas de la hifa vegetativa. A este grupo de microorganismos lo llama Micromonosporas.

Clasificación de Lehmann y Neumann

Lehmann y Neumann (1927) dividen el orden de las Actinomyetales en dos grandes familias Proactinomycetaceae y Actinomycetaceae. La primera comprende los géneros Mycobacterium y Corynebacterium y la segunda el género Actinomyces.

Clasificación de Jensen

Jensen (1931) considera en el orden de las Actinomyetales dos grandes familias:

A la primera, que comprende los organismos que no forman esporas, la denomina Proactinomycetaceae y en la segunda, que llama Actinomycetaceae, incluye los organismos que forman cuerpos, cuya importancia en cuanto a la resistencia a los factores externos es semejante a la de los conidios de los hongos y no a la de las esporas de las bacterias.

En las Proactinomycetaceae puede haber o no formación de micelio aéreo, en el primer caso comprende el género Proactinomyces y en el segundo los organismos pueden ser, los ácido resistentes del género Mycobacterium y los no ácido resistentes del género Corynebacterium.

La familia de las Actinomycetaceae comprende los géneros Actinomyces y Micromonospora, el primero representado por los gérmenes que forman esporas en el micelio aéreo y el segundo por organismos que dan esporas terminales en las ramificaciones del micelio vegetativo.

Clasificación de Bergey

Bergey (1939) divide las Actinomyetales en dos grandes familias: Mycobacteriaceae y Actinomycetaceae.

La familia de las Mycobacteriaceae la define como filamentos delgados o bastones derechos o ligeramente encorvados, de forma frecuentemente irregular, con raras y ligeras ramificaciones; no forman conidios; son inmóviles, aerobios y Gram positivos. Considera en ella dos géneros: Corynebacterium y Mycobacterium.

La familia de las Actinomycetaceae la describe como bastones ramificados y formas filamentosas capaces a veces de formar un micelio y también de producir conidios. Algunas especies son parásitas y otras formas del suelo. Considera en esta familia dos grandes grupos:

El primer grupo, que está caracterizado por bastones o filamentos generalmente no ramificados, comprende tres géneros a saber: Leptotrichia, Erisipelothrix y Proactinomyces.

El segundo grupo caracterizado por organismos filamentosos, ramificados, formando generalmente micelio, comprende un solo género: Actinomyces.

Clasificación de Waksman

Waksman (1940) divide las Actinomycetales en dos grandes grupos A y B.

En el grupo A considera los microorganismos que producen o no micelio rudimentario reunidos en una sola familia: Mycobacteriaceae a la que define como células en forma de clava, a veces ramificadas, caracterizada por un tipo de división celular llamado, por Orskov, división angular; patógenos o saprófitos.

Considera en ella dos géneros, según sean ácidos resistentes o no, a saber: Mycobacterium que abarca los organismos ácido resistentes y Corynebacterium que comprende los no ácido resistentes.

El grupo B se caracteriza por producir verdadero micelio. Comprende tres familias:

a) Familia de las Proactinomycetaceae cuya característica principal es la división del micelio en segmentos más o menos cortos, en forma de bastones o cocos. Considera en ella dos géneros de acuerdo a la relación con el oxígeno:

1) Género Cohnistreptothrix que comprende los organismos anaerobios o microaerófilos.

2) Género Proactinomyces que abarca los microorganismos aerobios y al que sugiere dividir en dos subgrupos: Proactinomyces α y Proactinomyces β basándose en el concepto de Umbreit.

b) Familia de las Actinomycetaceae, considera en ella los organismos que producen un micelio indivisible, fino, bien desarrollado, la hifa generalmente no se rompe en segmentos. Estos microorganismos se multiplican por esporas, oidiosporas y piezas del micelio. Las esporas se disponen en cadenas sobre hifas aéreas dispuestas en forma monopodial o en racimo.

Considera un solo género Actinomyces que insinúa puede subdividirse en cinco grupos de acuerdo a la estructura de la hifa esporulante.

c) Familia de las Micromonosporaceae comprende los organismos que forman un micelio vegetativo, pero nunca aéreo, se multiplican por medio de conidios producidos solamente sobre las terminaciones de conidiosporas especiales, sobre la superficie del micelio vegetativo. Comprende un solo género Micromonospora que sugiere puede subdividirse en tres grupos según la estructura de la hifa portadora de esporas.

Clasificación de Stanier y Van Niel

Stanier y Van Niel (1941) basándose en caracteres morfológicos y fisiológicos, presentan una clasificación de las Schizomycetae o bacterias a las cuales unen las cianofíceas, formando así el reino de las Moneras.

Las diferentes divisiones y subdivisiones de este reino hasta la clase de las Eubacteriae se pueden sintetizar en la forma siguiente:

Reino Monera

División I Mixófitas

División II Schizomicetae: Clase I Eubacteriae

Clase II Myxobacteriae

Clase III Spirochetes

La clase de las Eubacteriae la define como organismos unicelulares o miceliares con pared celular rígida. Si son monocelulares pueden ser esféricos, en forma de bastones o espiras. La movilidad cuando existe es siempre por medio de flagelos. La multiplicación es por división transversal. En estado de inactividad pueden presentar endosporas, quistes o conidios.

Consideran en esta clase tres órdenes:

El orden de las Eubacteriales o de las verdaderas bacterias.

El orden de las Actinomycetales o bacterias capaces de formar micelio.

El orden de las Rhodobacteriales o bacterias fotosintéticas.

Del orden de las Actinomycetales separan los géneros Mycobacterium y Corynebacterium incluyéndolos en el orden de las Eubacteriales junto con los géneros Erisipelotrix, Leptotrichia,

Nevskia, Gallionella, Caulobacterias, Thiospira, Siderospira y S Sideromonas.

El orden de las Actinomycetales admiten dividirlo de acuerdo a la clasificación de Waksman (1940), exceptuando la primera familia o sea de las Mycobacteriaceae.

Capítulo IV

ORDENACION DE LAS CEPAS AISLADAS

Para intentar la clasificación de las cepas aisladas, fue necesario reunir las primeramente en base a ciertos caracteres que se iban determinando.

Por los dos métodos que se aplicaron al aislar las cepas, estas quedaron divididas en dos grandes grupos: Ácido resistentes y no ácido resistentes.

El grupo de los no ácido resistentes se dividió de acuerdo a la forma de los gérmenes en filamentosos y no filamentosos.

En esta forma se obtuvieron así 3 grupos principales correspondiendo cada uno de ellos a los siguientes géneros:

Grupo I) Bastones no ácido resistentes, no filamentosos:
género Corynebacterium.

Grupo II) Bastones ácido resistentes, no filamentosos:
género Mycobacterium.

Grupo III) Bastones no ácido resistentes, filamentosos:
género Proactinomyces.

Las cepas correspondientes al género Corynebacterium, no provenientes de colección, estudiadas en el trabajo, estaban representadas por una única especie con las siguientes características:

1) desarrollo en agar estría; liso, blanco, mantecoso que se desliza hacia el fondo de la estría: Coryneb. A.

Las cepas correspondientes al género Mycobacterium se dividen de acuerdo a la cromogénesis que presentan en agar estría:
en:

- a) Blancos
- b) Coloreados

Subgrupo a) Blancos 1. desarrollo granular, adherido al medio, mate. Myc. A.

2. desarrollo rugoso, de consistencia quebradiza, no adherido al medio. Myc. B.

Subgrupo B b) Coloreados 3. desarrollo extendido, ligeramente rugoso de color amarillo. Myc. C. Coli lacticola

4. desarrollo rugoso, granular, mate de color anaranjado Myc. D. O. phlei.

5. desarrollo translúcido, mate, con granulaciones brillantes, de color anaranjado Myc. E.

6. desarrollo extendido, mantecoso, que se desliza hacia abajo por la superficie de la estría, de color anaranjado rojizo Myc. F.

Las cepas correspondientes al género Proactinomyces se subdividieron de acuerdo al color que presentaban los cultivos en agar estría:

1. Rojo Proactinomyces agrestis.

2. Amarillo ocre Proactinomyces A.

3. Blancos Proactinomyces B.

Capítulo V

DESCRIPCION DE LAS FORMAS ESTUDIADAS

El estudio morfológico, de los cultivos y fisiológico de las cepas aisladas permitió reconocer doce formas diferentes, correspondiendo dos de ellas al género Corynebacterium, siete al género Mycobacterium y tres al género Proactinomyces. En este orden se darán las descripciones de las mismas precedido cada grupo de ellas de una breve diagnosis del género correspondiente extractada de Buchanan (1927)

I.- Género Corynebacterium Lehmann y Neumann 1896.

Diagnosis

Corynebacterium es un género de bacterias establecido por Lehmann y Neumann (1896), con el bacilo de la difteria como tipo con la siguiente descripción:

"Kulturen, durchaus den Charakter echter Bakterienkulturen tragend, weich, den Nährböden flach und locker aufliegend. Der Organismus färbt sich mit den gewöhnlichen Bakterienfärbemitteln gut. Mikroskopisch; Stäbchen, die an den Enden häufig keulig angeschwollen sind, aus verschiedenen färbbaren Scheiben aufgebaut erscheinen und in manchen Kulturen durchweg eine unzweifelhafte echte dichotome Verzweigung zeigen"

El género es aceptado por Chester (1897) y rechazado por Smith (1905).

Vuillemin (1913) sugiere que puede considerarse como un Genus conservandum y lo coloca entre las Microsiphonés.

Winslow y colaboradores (Committee Soc. Am. Bact. 1917-1920) lo incluyen como el segundo género de la familia My

Mycobacteriaceae con la descripción:

"Bastones alargados, a menudo ligeramente encorvados, con tendencia a la formación de clavos, células ramificadas raras veces se observan en cultivos viejos. Coloración irregular en bandas, no ácido resistentes; Gram positivos; Inmóviles. Aerobios. No producen endosporas. Algunas especies patógenas producen una exotoxina poderosa. Movimiento de deslizamiento característico se observa cuando la célula se divide."

La especie tipo es Corynebacterium diphtheriae (Loeffler) Lehmann y Neumann.

Buchanan(1918), Bergey y colaboradores (1923) lo aceptan como un nombre genérico.

Probablemente puede ser observado como un nombre genérico válido si al bacilo de la difteria y formas relacionadas se les acuerda reconocimiento genérico.

1. Corynebacterium diphtheriae (Flügge) Lehmann y Neumann (1)

Sinónimia: Microsporon diphthericum Klebs (prototipo), Verhandl. d. Congr. f. innere Med., 2, 1883, 143; die Klebs'schen Stäbchen, Löffler, Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, 1884; Bacillus diphtheriae Flügge, Die Mikroorganismen, 1886, 225; Lehmann y Neumann, Bak. Diag.; 1 Aufl., 2, 1896, 350; Bacterium diphtherium Nygula, System der Bakterien, 2, 1900, 499.

Corynebacterium diphtheriae tipo gravis

Nº de cepas estudiadas: 1 proveniente de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión: Se observan bastones de diferente tamaño, la mayor parte de ellos deformados, con uno o ambos extremos ensanchados. En la superficie de la gota los bastones están inmóviles, dispuestos en empalizada o formando ángulos entre sí, agrupados en especies de islote muy pequeños.

Dimensiones: Miden desde 0,4 a 0,8 micrones de ancho por 1,5 a 2,8 micrones de largo.

Coloraciones: No ácido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar común: Colonia de forma circular, de 1 a 2 mm de diámetro, elevada en el centro, de color blanco, ligeramente brillante, bordes enteros, estructura interna granulosa.

(1) El estudio de las cepas correspondientes a Corynebacterium diphtheriae y a Mycobacterium tuberculosis se realizó solamente con fines comparativos.

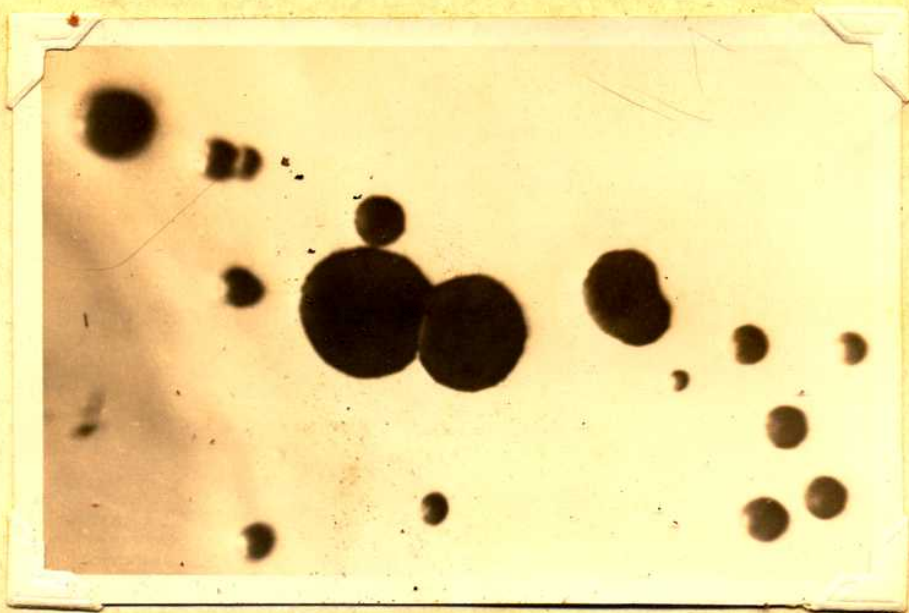


Fig. 1.- *Corynebacterium diphtheriae*, tipo gravis (x 50)



Fig. 2.- *Corynebacterium diphtheriae*, tipo gravis (x 2000)

24

Caldo común : A las 24 hs. caldo límpido con pequeñas granulaciones blancas nadando en el, película superficial incompleta y tenue, sedimento escaso, granuloso, de color blanco; a los 4 días película fina, blanca, caldo levemente turbio, sedimento escaso, granuloso, de color blanco.

Agar común : A las 24 hs. desarrollo escaso, filiforme, translúcido; a los 4 días desarrollo moderado a lo largo de la estria, superficie lisa, ligeramente granulosa y brillante, de color blanco, consistencia mantecosa.

Caldo glicerinado: Semejante a caldo común pero el desarrollo es más moderado.

Agar glicerinado : Semejante a agar común.

Papa glicerinada: No se observa desarrollo.

Medio de Petraghani : No se observa desarrollo.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 37°C.

Temperatura máxima: 40°C.

Relación con el pH del medio : Desarrollan desde pH 6.5 a 8.5, siendo el punto óptimo 7.5.

Relación con el oxígeno: Anaerobio facultivo.

Reacción de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche : Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Fermenta glucosa, levulosa, galactosa, sacarosa, maltosa, dextrina, glicerina, No fermenta: arabinosa, manita, sorbita. En el medio aconsejado por Merrill para controlar la utilización de los azúcares, no desarrolló el germen con ninguno de los azúcares ensayados.

Reducción de nitratos: Positiva.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

Corynebacterium diphtheriae tipo Mitis

N° de cepas estudiadas : 1 proveniente de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Desarrollo semejante a tipo gravis.

Dimensiones: Miden 0,4 a 0,8 micrones de ancho por 1,0 a 5,0 micrones de largo.

Coloraciones: No ácido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Caldo común : A las 24 hs. caldo turbio; a los 4 días de desarrollo superficial nulo, turbidez homogénea, depósito escaso, blanco, ligeramente viscoso al agitar.

Agar común : Semejante a tipo gravis.

Caldo glicerinado: Semejante a caldo común.

Agar glicerinado : Semejante a tipo gravis.

Papa glicerinada: No se observa desarrollo.

Medio de Petraghiani: No se observa desarrollo.

Colonia en agar común: Semejante a tipo gravis, pero la estructura interna es finamente granulosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 37°C.

Temperatura máxima : 40°C.

Relación con el pH del medio: Desarrollan desde pH 6,5 a 8,5, siendo el punto óptimo 7,5.

Relación con el oxígeno: Anaerobio facultativo.



Fig. 3.- *Corynebacterium diphtheriae*, tipo intermedius (x 2500)



Fig. 4.- *Corynebacterium diphtheriae*, tipo mitis (x 2500)

Licuaación de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche: Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Fermenta glucosa, levulosa, galactosa, sacarosa, maltosa, dextrina, glicerina. No fermenta arabinosa, manita, sorbita: En el medio aconsejado por Merrill para la utilización de los azúcares no desarrolló con ninguno de los azúcares ensayados.

Reducción de nitratos: Positiva.

Producción de indol: Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico: Negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

Corynebacterium diptheriae tipo intermedius

Nº de cepas estudiadas : 1 proveniente de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión: Desarrollo semejante a tipo gravis

Dimensiones : Miden 0,5 a 0,8 micrones de ancho por 1,2 a 2,8 micrones de largo.

Coloraciones: No ácido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Caldo común: Semejante a tipo gravis.

Agar común : Semejante a tipo gravis.

Caldo glicerinado: Semejante a tipo gravis.

Agar glicerinado : Semejante a tipo gravis.

Papa glicerinada : No se observa desarrollo.

Medio de Petraghani: No se observa desarrollo.

Colonia en agar común: Semejante a tipo gravis.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 37°C.

Temperatura máxima: 40°C.

Relación con el pH del medio: Desarrollándose desde pH 6.0 a 9.0 siendo el punto óptimo 7.0-7.5.

Relación con el oxígeno: Anaerobio facultativo.

Licuefacción de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche: Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono : Fermentan glucosa, levulosa, galactosa, maltosa, dextrina, No fermentan: arabinosa sacrosa, glicerina, manita, sorbita. En el medio aconsejado por Merrill para determinar la utilización de los hidratos de carbono en las micobacterias no desarrolló con ninguno de los azúcares mencionados.

Reducción de nitratos : Negativa.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfúrico : Negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

2. Corynebacterium A.

N° de cepas estudiadas : 5 aisladas de tierra.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Se observan bastones de diferentes tamaño, mucho de ellos deformados, algunos presentan indicios de ramificación y otro ensanchamientos en forma de quistes. Se disponen en la superficie de la gota en cadenas muy cortas y encorvadas o de a dos formando ángulos entre si. Las cadenas son semejantes a las características de las micobacterias.

Dimensiones : Miden 0,6 a 1,4 micrones de ancho por 2,4 a 6,0 micrones de largo.

Coloraciones: No ácido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar común: A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio; a las 48 hs. la colonia es de forma irregular, superficie lisa, brillante, blanca, estructura finamente granulosa; a los 4 días colonia de forma irregular, plana, superficie lisa y brillante, consistencia mantecosa.

Caldo común : A las 24 hs. caldo turbio, película superficial muy tenue, casi invisible, a las 48 hs. caldo muy turbio, ligero depósito; a los 4 días caldo turbio, película superficial muy tenue, depósito escaso, de color blanco crema.

Agar común: A las 24 hs. desarrollo moderado a lo largo de la estría; a los 3 días desarrollo moderado a lo largo de la estría, superficie lisa y brillante, de color blanco crema, consistencia mantecosa blanda a tal punto que el desarrollo se desliza hacia el fondo ~~por~~ la estría.

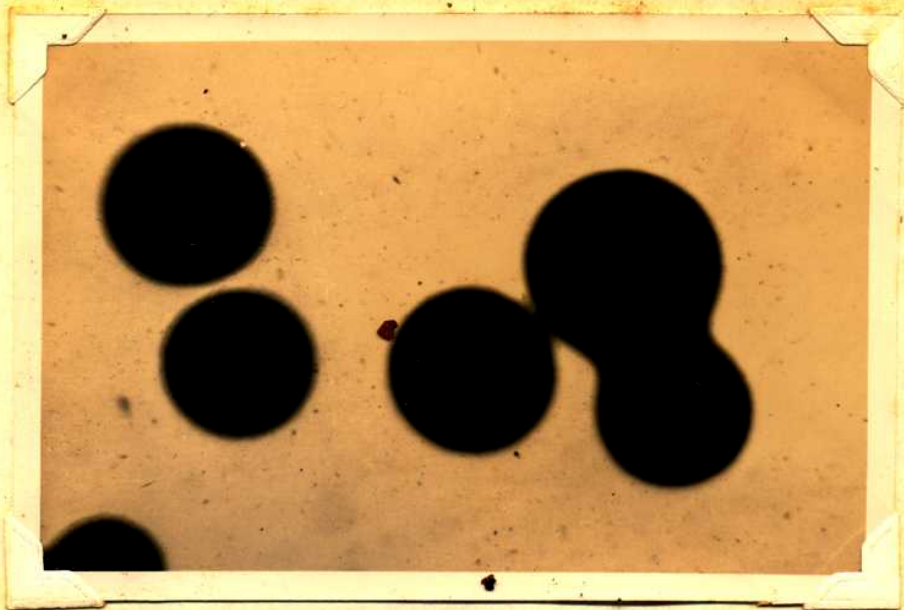


Fig. 5.- *Corynebacterium A* (x 50)



Fig. 6.- *Corynebacterium A* (x 2500)

76

Caldo glicerinado : A las 24 hs. caldo turbio; a los 3 días caldo turbio, sedimento escaso, de color blanco crema, que se diluye en el caldo al agitar.

Agar glicerinado : Semajante a agar común.

Papa glicerinada: A las 24 hs. escaso desarrollo, a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, plano, superficie lisa, lige-
ligeramente brillante, consistencia mantecosa, oscurece el color de la papa.

Medio de Patragiani: A las 24 hs. escaso desarrollo; a los 3 días desarrollo moderado, filiforme, plano, superficie lisa, y brillante de color rosa intenso, consistencia mantecosa.

c.. Fisiología

Temperatura óptima: 30°C.

Temperatura máxima : 45°C/

Relación con el pH del medio: Desarrollan desde pH 5.5 a 9.5, siendo el punto óptimo 8.0.

Relación con el oxígeno: Aerobio.

Licueción de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche: Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Utiliza glucosa, levulosa, sacarosa, arbinosa, galactosa, manita, sorbita.

Reducción de nitratos: Positiva.

Producción de indol: Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico: Negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

Las características descritas, no permitieron identificar a esta especie con ninguna de las mencionadas en la literatura y debido a la consistencia mantecosa de sus cultivos se sugiere llamar a esta especie Corynebacterium butyricum.

II.- Género Mycobacterium Lehmann y Neumann 1896

Diagnosis

Mycobacterium es un nombre genérico propuesto por Lehmann y Neumann (1896) en su Bakteriologische Diagnostik con el organismo de la tuberculosis como tipo, Mycobacterium tuberculosis. El nuevo género fue incluido por estos autores en la familia de las Hyphomycetes. En la segunda edición (1901), lo describen así:

"Bastones que se colorean con dificultad o no se colorean con los colorantes comunes. El método de coloración para el bacilo de la tuberculosis, por ejemplo es el de ácido resistencia. Ensamblamientos en los extremos, en forma de clava son raros en cultivos, pero en tejidos son algo más frecuentes.

Los autores mencionados en la misma edición defienden el nombre de Mycobacterium en contraposición de Sclerothrix dado por Metschnikoff en 1888 aclarando, primeramente que ellos desconocían el nombre propuesto por aquel, pues de lo contrario lo hubieran aceptado. Sin embargo, creen de acuerdo con las reglas de la nomenclatura botánica que su nombre debe ser conservado, basándose en que Metschnikoff hizo solamente una proposición condicional, del género, no dió una definición exacta del mismo y además la denominación de Sclerothrix nunca fue usada ni aun por su propio autor.

Ni Lehmann y Neumann, ni Metschnikoff parecían conocer el uso a priori de Sclerothrix como un género de algas propuesto por Kützing en 1849.

Chester (1898) acepta la acepción de Mycobacterium incluyendo en él, el género Corynebacterium. Es también considerado como un sinónimo de este por Migula (1900).

El género es aceptado por Smith (1902), Kendall (1902) y Miehe (1908).

Vuillemin (1913) rechaza el nombre porque reconoce a Sclerothrix y Coccothrix anteriores a Mycobacterium. Admite, sin embargo, que el primer nombre no es válido, pero afirma que si las bacterias ácido resistentes son reconocidas como un género separado la designación genérica de Coccothrix debería usarse lo cual hace a Mycobacterium un sinónimo sin valor.

Winslow y colaboradores (Committee Soc. Am. Bact. 1917) han usado la definición:

Bastones alargados que se colorean con dificultad, pero una vez coloreados son ácido resistentes. Células mostrando a veces ensanchamientos, formas de clava o de cúnea y aun ocasionalmente filamentos ramificados. Inmóviles. Gram positivos. No producen endosporas. Desarrollan pobremente sobre los medios. Aerobios. Algunas especies son patógenas para los animales. La especie tipo es Mycobacterium Tuberculosis (Koch) Lehmann y Neumann.

Buchanan (1918), Castellani y Chalmers (1919), Bergey y colabor. (1923) aceptan este nombre como válido.

El valor de Mycobacterium como nombre genérico está amenazado únicamente por el más viejo; Coccothrix Lutz. Sin embargo, como este último nombre nunca ha sido usado puede ser rechazado en interés a la estabilidad del género.

1. Mycobacterium tuberculosis var. hominis (Schroeter) L. y N.

Sinonimia: Tuberkelbacillen, Koch, Mitteil. a. d. kaiserlich. Gesundheitsamte, 2, 1884, 6; Bacillus tuberculosis Schroeter, in Cohn, Kryptogamen Flora v. Schlesien, 3, 1886, 164; Bacillus tuberculosis Flügge, Die Mikroorganismen, 1886, 208; Coccothrix tuberculosis Lutz, Dermatol. Studien, 1, 1886, 22; Sclerothrix kochii Metchnikoff, Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol., 113, 1888, 70; Mycobacterium tuberculosis Lehmann y Neumann Bakt. Diag., 1 Aufl., 2, 1896, 363; Human tubercle bacilli, Th. Smith, Trans. Assoc. Am. Phys., 11, 1896, 75; Bacterium tuberculosis Migula, in Engler and Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, I Abt., 1a, 1895, 21; Mycobacterium tuberculosis typus humanus Lehmann y Neumann, Bakt. Diag., 4 Aufl., 2, 1907, 550.

Nº de cepas estudiadas : 1 proveniente de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión: Se observan escasos bastones sueltos dotados de movimiento browniano.

Dimensiones : Bastones de 0,4 a 0,6 micrones de ancho por 1.0 a 4.0 micrones de largo.

Coloraciones: Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonias en agar glicerinado: Las colonias son de desarrollo muy lento, puntiformes, elevadas, de color blanco, mate, estructura nodular.

Caldo glicerinado: A los 7 días no se observa desarrollo; a los 14 días caldo limpio con pequeños islotes secos, blancos, nadando en la superficie, sedimento muy escaso; a los 30 días película superficial incompleta, formada por islotes secos, blancos,

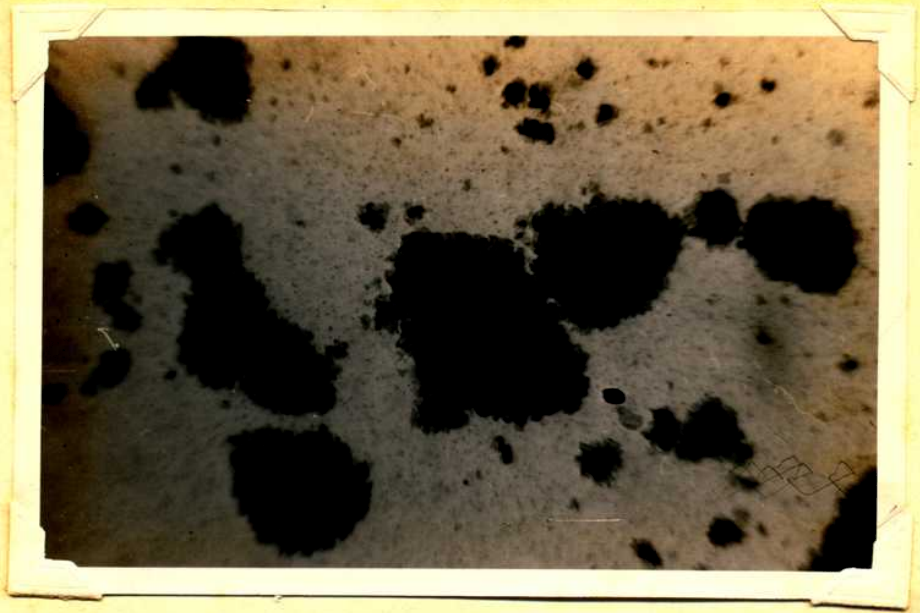


Fig. 7.- Mycobacterium tuberculosis, var. hominis (x 50)



Fig. 8.- Mycobacterium tuberculosis, var. hominis (x 2500)

caldo límpido, sedimento escaso granulosos de color blanco.

Agar glicerinado: A los 7 días nose observa desarrollo; a los 14 días desarrollo escaso a lo largo de la estria formado por colonias pequeñas, de color blanco; a los 30 días desarrollo moderado a lo largo de la estria en forma de colonias puntiformes, elevadas, de color blanco, en algunas zonas las colonias llegan a unirse entre si tomando entonces el desarrollo un aspecto granuloso, mate, de color blanco.

Caldo común : No se observa desarrollo.

Agar común : No se observa desarrollo.

Papa glicerinada: A los 7 días no se observa desarrollo; a los 14 días se observa escaso desarrollo a lo largo de la estria; a los 30 días desarrollo abundante, filiforme, elevado, superficie granulosa, mate de color blanco crema, consistencia quebradiza.

Medio de Petragani: A los 7 días se observa muy escaso desarrollo a los 14 días desarrollo moderado a lo largo de la estria, superficie granulosa, mate, de color blanco; a los 30 días desarrollo abundante, elevado, superficie granulosa mate de color blanco crema, consistencia quebradiza.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 37°C.

Temperatura máxima :40°C.

Relación con el pH del medio : Desarrollan desde pH 6.0 a 8.5, siendo el punto óptimo 7.0.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuaación de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche : Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono : No utiliza glu-
cosa, levulosa, sacarosa, arabinosa, galactosa, manita, sorbita.

Reducción de nitratos : Negativa.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol : Negativa.

2. Mycobacterium tuberculosis var. bovis Lehmann y Neumann 1896.

Sinonimia: Lehmann y Neumann, Bakt. Diag., 1 Aufl., 2, 1896, 363; Bovine tubercle bacilli, Th. Smith, Trans. Assoc. Am. Phys., 11, 1896, 75; 13, 1898, 417; Jour. Exper. Med., 3, 1898, 451; Mycobacterium tuberculosis typus bovinus Lehmann y Neumann Bakt. Diag., 4 Aufl., 2, 1907, 550.

Nº de cepas estudiadas: 1, proveniente de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Se observan bastones algunos de ellos deformados. En la superficie de la gota se observan bastones inmóviles, dispuestos en ángulo o deslizado uno sobre el otro formando especies de cadenas que por su distribución dan al conjunto el aspecto de una red. También se observan algunos dotados de movimiento browniano.

Dimensiones : Miden 0.4 a 0.6 micrones de ancho por 1.0 a 2,4 micrones de largo.

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar glicerinado : Colonias de desarrollo muy lento, puntiformes, elevadas, de color blanco, estructura rugosa.

Caldo glicerinado: A los 7 días no se observa desarrollo; a los 14 días caldo límpido con sedimento muy escaso de color blanco; a los 30 días película superficial incompleta, tenue, con algunos puntos muy pequeños con desarrollo más abundante, de color blanco, caldo límpido, sedimento escaso, blanco.

Agar glicerinado: A los 7 días no se observa desarrollo; a los 14 días desarrollo escaso a lo largo de la estría en forma de colonias muy pequeñas; a los 30 días desarrollo escaso, a lo largo de la estría formado por colonias pequeñas, de color blanco

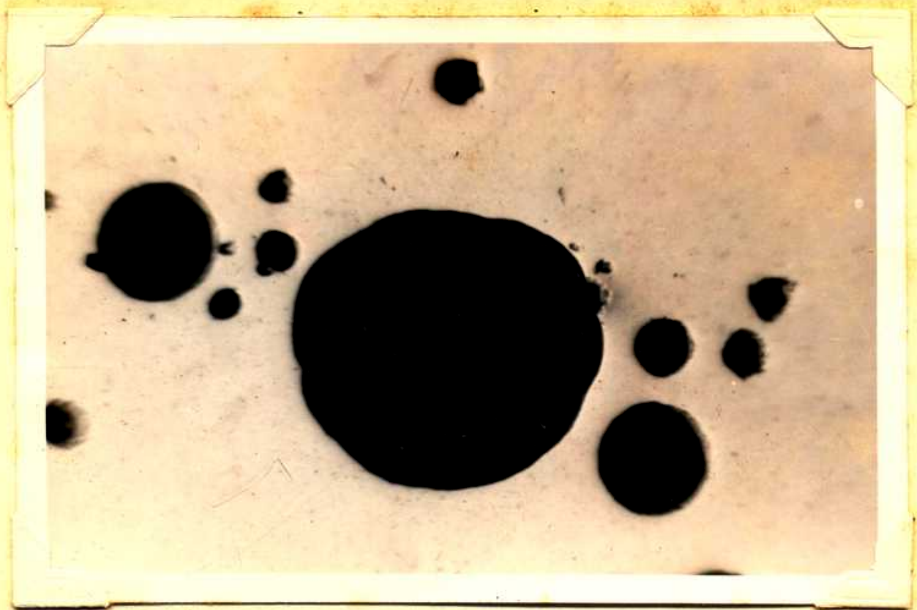


Fig. 9.- *Mycobacterium tuberculosis*, var. *bovis* (x 50)



Fig. 10.- *Mycobacterium tuberculosis*, var. *bovis* (x 2500)

mate.

Caldo común : No se observa desarrollo.

Agar común : No se observa desarrollo.

Papa glicerinada : No se observa desarrollo.

Medio de Petraghani: A los 7 días se observan colonias muy pequeñas a lo largo de la estria, a los 14 días desarrollo moderado, filiforme, de color blanco crema; a los 30 días desarrollo abundante, filiforme, plano, superficie ligeramente irregular, mate, de color blanco, consistencia mantecosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima : 37°C.

Temperatura máxima : 40°C.

Relación con el pH del medio: Desarrollan desde pH 6.5 a 8.5 siendo el punto óptimo 7.0.

Relación con el oxígeno: Aerobio.

Licuefacción de la gelatina : Negativa.

Acción sobre la leche : Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono : No utilizan glucosa, levulosa, sacarosa, arabinosa, galactosa, manita, sorbita.

Reducción de nitratos : Negativa.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

3. Mycobacterium A.

N° de cepas estudiadas: 37 aisladas 29 de ellas de diferentes muestras de tierra, 3 de agua y 5 de excrementos de animales.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Se observan bastones de diferentes tamaño, algunos de ellos deformados. Los bastones se disponen formando ángulo entre si o bien se desliza uno sobre el otro.

Dimensiones: Miden desde 0,6 a 0,8 micron de ancho por 1,4 a 2,2 micrones de largo.

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar glicerinado: A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio. a los 7 días la colonia es de forma circular y mide de 0,5 a 1,5 mm de diámetro, elevada, superficie rugosa, mate de color blanco.

Caldo glicerinado: A las 24 hs caldo límpido con escaso s copos blancos nadando en el; a los 3 días aparece una película superficial, incompleta formada por pequeños islotes de color blanco, sedimento moderado, blanco; a los 7 días película superficial que sube por las paredes del tubo, seca, mate, de color blanco, la que se rompe con facilidad en pequeñas escamas que caen al caldo límpido, sedimento abundante, escamoso, de color blanco.

Agar glicerinado: A las 24 hs. desarrollo escaso, filiforme, de color blanco; a los 4 días el desarrollo es moderado; a los 9 días desarrollo abundante, algo extendido, elevado, superficie granulosa mate, de color blanco, consistencia membranosa, desarrollo fuertemente adherido al agar.

Caldo común Semejante a caldo glicerinado, pero el desarrollo es más moderado.

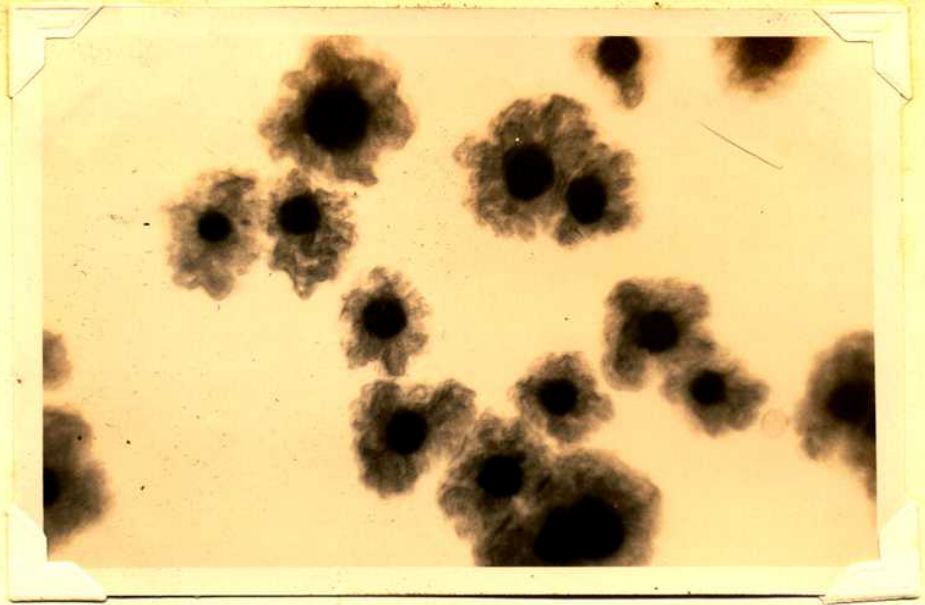


Fig. 11.- *Mycobacterium smegmatis* (x 50)

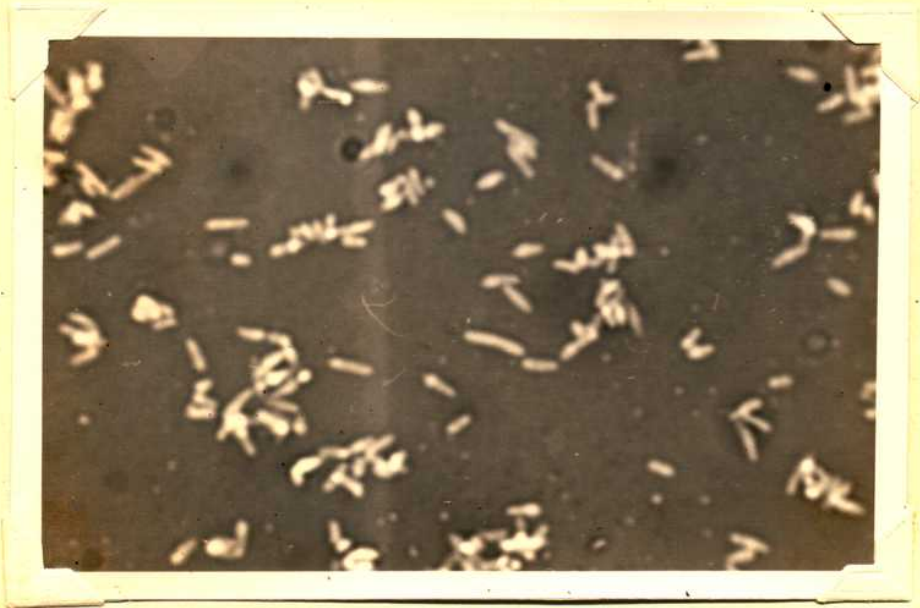


Fig. 12.- *Mycobacterium smegmatis* (x 2500)

Agar común : Semejante a agar glicerinado, pero el desarrollo es más moderado.

Papa glicerinada: A las 24 hs. escaso desarrollo; a los 4 días desarrollo moderado, filiforme, blanco; a los 9 días desarrollo abundante, filiforme, superficie ligeramente granulosa, mate, de color blanco, consistencia mucosa, oscurece la papa.

Medio de Petragani : A las 24 hs. escaso desarrollo, a los 4 días desarrollo moderado, blanco; a los 9 días desarrollo abundante, extendido, superficie granulosa, mate, de color blanco crema, consistencia quebradiza, desarrollo muy adherido al medio de cultivo.

c. Fisiología

Temperatura óptima.: 30-37°C.

Temperatura máxima: 45°C.

Relación con el pH del medio : Desarrollan desde pH 5.0 a 9.5, siendo el punto óptimo 7.5.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuefacción de la gelatina : Negativa.

Acción sobre la leche : Alaliniza ligeramente la leche.

Acción sobre los glóbulos rojos : Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono : Utiliza glucosa, levulosa, sacarosa. No utiliza arabinosa, galactosa, manita.

Reducción de nitratos : Positiva.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Negativa.

Producción de acetil- metil- carbinol : Negativa.

d. Disociación

De las cepas estudiadas correspondientes a esta especie se pudo aislar una variante; a continuación se describen las cae

racterísticas que presenta en los diferentes medios de cultivo.

Colonia en agar glicerinado : A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio; a los 7 días la colonia es circular, elevada y brillante en el centro mientras en los bordes es plana, mate formando un halo por transparencia, el borde es ligeramente irregular; la estructura interna se caracteriza por una zona central opaca y una zona periférica en la cual los gérmenes están dispuestos de tal manera que parecen filamentos enrollados sobre sí mismos.

Caldo glicerinado. : A las 24 hs. se observan copos muy pequeños en el líquido que es límpido, a las 48 hs. se observa un depósito escaso; a los 6 días valdo aparentemente turbio por la gran cantidad de pequeños copos blancos que se encuentran en él, sedimento moderado de color blanco, ligeramente viscoso al agitar.

Agar glicerinado : A las 24 hs; desarrollo escaso, filiforme; a los 3 días desarrollo moderado, de color blanco, a los 8 días desarrollo abundante, filiforme, superficie ligeramente rugosa, brillante, de color blanco, consistencia mantecosa.

Caldo común : Semejante a caldo glicerinado, pero el desarrollo es más moderado.

Agar común ; Semejante a agar glicerinado, pero el desarrollo es más moderado.

Medio de Petragani: A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 4 días desarrollo moderado, filiforme, blanco; a los 8 días desarrollo abundante, algo extendido, superficie irregular, brillante, de color blanco, consistencia mantecosa.

Por algunos caracteres fundamentales, que coinciden con los correspondientes a *Mycobacterium smegmatis*, referidos por Moeller (1902), se considera a la especie aquí descrita afin de aquella.

2. Mycobacterium B

N° de cepas estudiadas : 1 proveniente de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Se observan bastones cortos, deformados y encorvados los cuales en el borde de la gota son más largos. En la superficie de la gota los gérmenes se disponen en cadenas cortas, típicas de las micobacterias.

Dimensiones : Miden desde 0,6 a 0,8 micrón de ancho por 1,6 a 3,2 micrones de largo.

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar glicerinado : A las 24 hs. solo son visibles al microscopio. A los 5 días se observan dos tipos de colonias: una de forma circular, elevada, superficie lisa y brillante, de color blanco, bordes enteros, estructura interna finamente granulosa. El otro tipo de colonia esta caracterizado por una zona central puntiforme, elevada, brillante y una zona periférica en forma de halo; es de color blanco y observada al microscopio con poco aumento se observa una zona central opaca y una zona periférica lobulada y transparente.

Caldo glicerinado : A las 24 hs. el caldo es ligeramente turbio; a los 7 días se observa una membrana superficial gruesa, seca, blanca, que se rompe con facilidad, caldo ligeramente turbio, depósito moderado, granuloso, blanco.

Agar glicerinado : A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 7 días desarrollo moderado, filiforme, plano, superficie rugosa, brillante, húmeda, de color blanco.

Caldo común : Semajante a caldo glicerinado, pero el de-

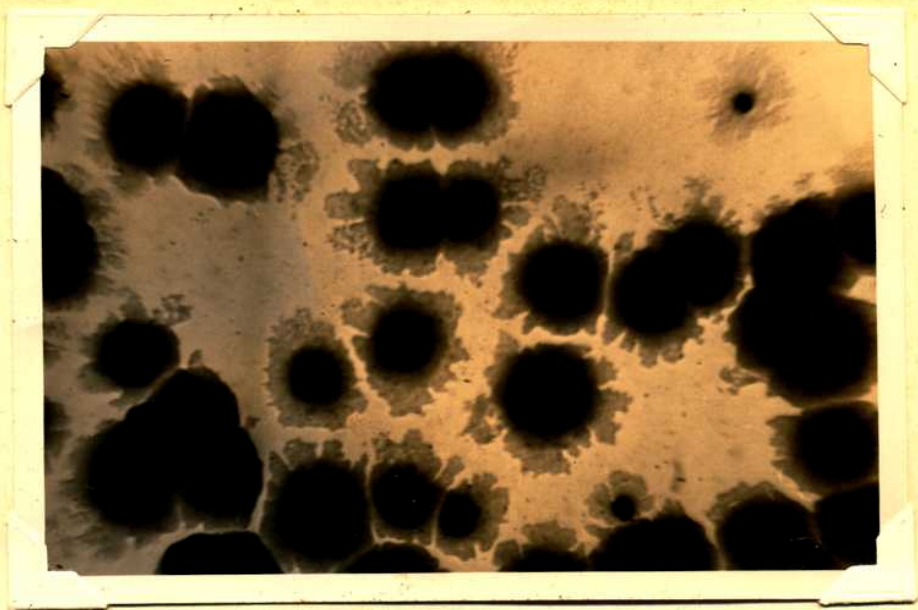


Fig. 13.- *Mycobacterium albus* (x 50)

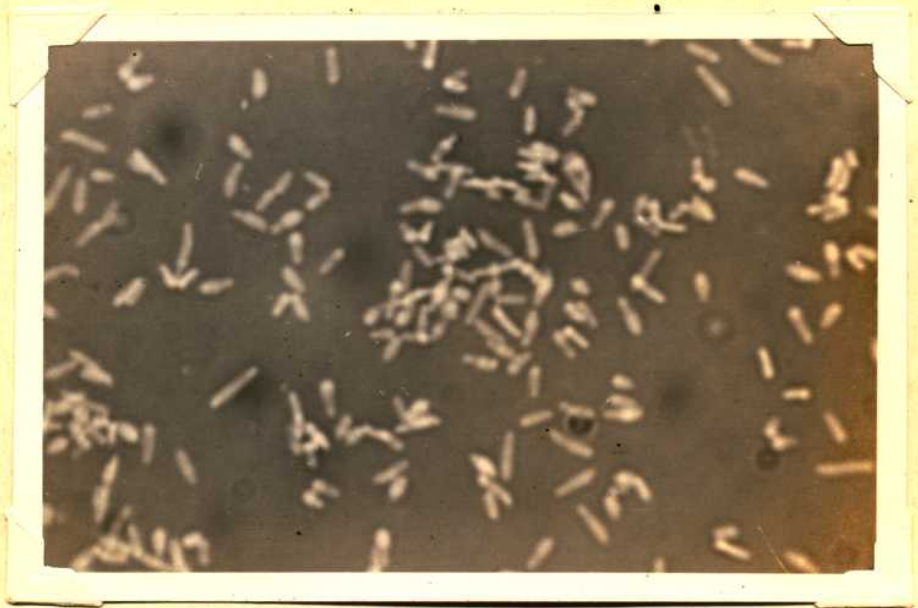


Fig. 14.- *Mycobacterium albus* (x 2500)

desarrollo moderado.

Agar común : Similar a agar glicerinado, pero el desarrollo más moderado.

Papa glicerinada : A las 84 hs. el desarrollo es escaso; a los 7 días desarrollo abundante, algo extendido, superficie fuertemente plegada, arte de color blanco consistencia mucradizada.

Medio de Petragiani : A las 14 hs. escaso desarrollo; a los 5 días desarrollo abundante, filiforme, plano, superficie ligeramente rugosa, brillante, de color blanco.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 37°C.

Temperatura máxima: 45°C.

Relación con el pH del medio: Desarrollan desde pH 4.5 a 9.5, siendo el pH óptimo 7.5-8.0.

Relación con el oxígeno: Aerobio.

Licuefacción de la gelatina : Negativa.

Acción sobre el leche: Alcaliniza fuertemente la leche.

Utilización de los hidratos de carbono: Utiliza glucosa, levulosa, sacarosa, glicérol, arabinosa,

Reducción de nitratos: Negativa.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico: F.

Producción de acetil-pétil-ribitol: Negativa.

Las características descritas, no permitieron identificar esta especie con ninguna de las mencionadas en la literatura y debido al color blanco de sus cultivos se sugiere llamar a esta especie *Mycobacterium albus*.

Mycobacterium lacticola Lehmann y Neumann

Sinonimia : Tuberkelähnlichen Bacillen, Rabinowitsch, Ztschr. f. Hyg., 26, 1897, 90; Butter Bacillus, Petri, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte, 14, 1898, 1; Mist Bacillus, Moeller, Berlin. thierärztl. Wochenschr., 1898, 100; Grasbacillus II, Moeller Cent. f. Bakt., I Abt., 25, 1899, 369; Mycobacterium lacticola α planum Lehmann y Neumann, Bakt. Diag., 2 Aufl., 2, 1899, 408; Mycobacterium lacticola β perrugosum Lehmann y Neumann, Bakt. Diag. 2 Aufl., 2, 1899, 410; Bacillus friburgensis Korn, Cent. f. Bakt. I Abt., 25, 1899, 532; Mycobacterium lacticola γ friburgensis Lehmann y Neumann, Bakt. Diag., 2 Aufl., 2, 1899, 411; Mycobacterium graminis Chester, Manual of Determ. Bact., 1901, 358; Mycobacterium friburgensis Chester, Manual of Determ. Bact., 1901, 359; Mycobacterium berolinensis Bergey y colabor., Manual. 1° edic., 1923, 377; Mycobacterium butyricum Bergey y colabor., Manual 1° edic. 1923, 377; Mycobacterium stercusis Bergey y colab. Manual 1° edic. Mycobacterium stercoris Bergey y colabor., Manual 4° edic., 1934, 542.

N° de cepas estudiadas : 4, provenientes de tierras.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Se observan bastones cortos, algunos aparentemente cocoides. Muchos de estos bastones están dotados de movimiento browniano muy intenso, en cambio otros están inmóviles en la superficie de la gota, dispuestos en ángulo o deslizados uno sobre el otro, formando especies de cadenas cortas. El número de estas cadenas aumenta a medida que el cultivo envejece.

Dimensiones: Miden desde 0.8 a 1.0 micrón de ancho por 2 a 2.8 micrones de largo.



Fig. 15.- *Mycobacterium lacticola*, tipo S. (x 2500)

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos.

Colonias en agar glicerinado : A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio y estan formadas por gérmenes dispuestos arbitrariamente, algunos de los cuales son más refringentes; a las 48 hs. se observan, con poco aumento, colonias pequeñas aparentemente formadas por filamentos que se enrollan sobre si mismos; a los 9 días las colonias son de forma circular y miden de 1 a 2,5 milímetros de diámetro estan formadas por una zona central puntiforme, elevada brillante de color amarillo, rodeada por un halo translúcido, mate, incoloro. La estructura interna es groseramente granulosa y elevada en el centro, elevación que disminuye hacia los bordes que son irregulares y aparentemente filamentosos.

Caldo glicerinado: A las 24 hs. enturbia el caldo; a las 48 hs. aparece una película superficial fina y translúcida, caldo turbio con algunos pequeños copos nadando, sedimento muy escaso; a los 9 días membrana superficial translúcida, amarillenta, ligeramente rugosa que sube por las paredes del tubo, agitando suavemente se desprenden de ella pequeños copos algodonosos que aumentan la turbidez del caldo, sedimento moderado amarillento.

Agar glicerinado : A las 24 hs. desarrollo escaso a lo largo de la estria; a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, amarillento; a los 10 días desarrollo abundante, filiforme, elevado, superficie ligeramente rugosa, mate, de color amarillo, consistencia mantecosa.

Caldo común : Semejante a caldo glicerinado, pero en este la película no sube por las paredes del tubo.

Agar común ; Semejante a agar glicerinado, pero el desarrollo es más moderado.

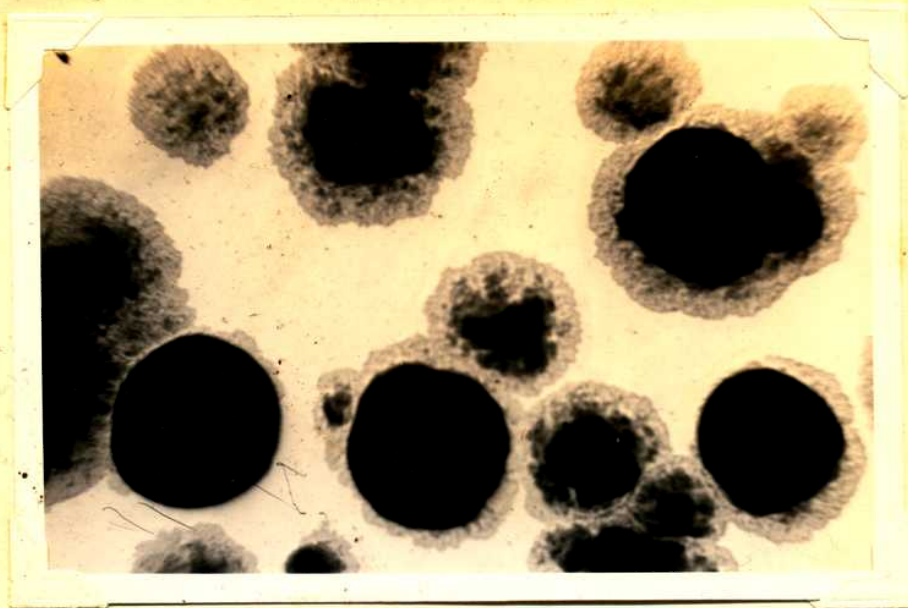


Fig. 16.- *Mycobacterium lacticola*, tipo R. (x 50)

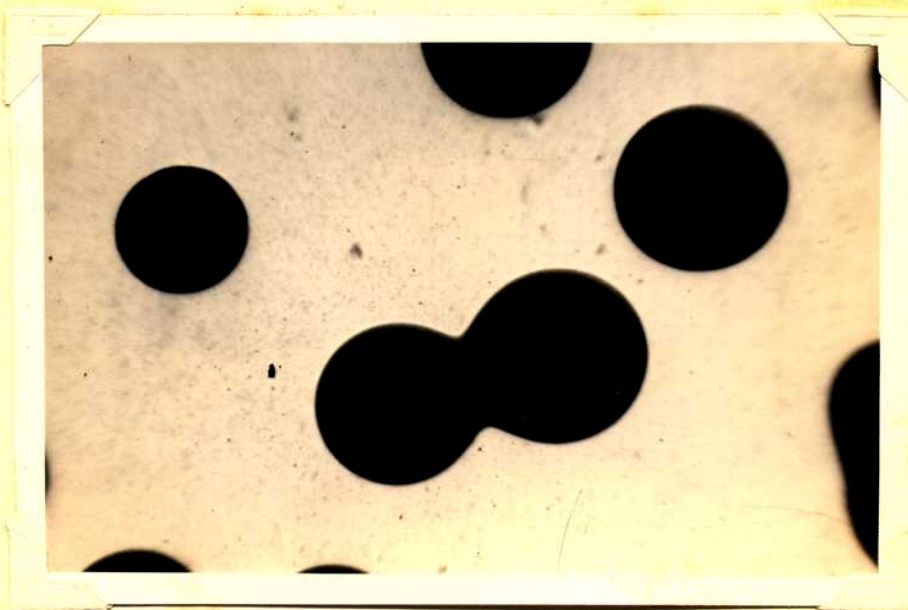


Fig. 17.- *Mycobacterium lacticola*, tipo S. (x 50)

Papa glicerinada: A las 24 hs. desarrollo muy escaso; a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, de color amarillo, oscurece la papa, a los 10 días desarrollo abundante, filiforme superficie ligeramente rugosa, mate, de color amarillo, consistencia quebradiza, oscurece la papa.

Medio de Petragiani: A las 24 hs. escaso desarrollo; a los 4 días desarrollo abundante, filiforme, superficie irregular ligeramente plegada, amarillenta; a los 11 días desarrollo abundante, algo extendido, elevado, superficie ligeramente rugosa, de color amarillo, bordes ligeramente ondulados, consistencia manetecosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima : 30°C.

Temperatura máxima : 50°C.

Relación con el pH del medio : desarrollan desde pH 5 a 9.5 siendo el punto óptimo 6.5 a 7.5.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuección de la gelatina; Negativa.

Acción sobre la leche: Alcaliniza la leche.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Utilizan arabinosa, glucosa, levulosa, galactosa, sacarosa, manita, ~~Herbitálica~~

Reducción de nitratos: Positiva : Positiva.

Producción de indol : Negativa

Producción de ácido sulfhídrico : Negativa.

Producción de acetyl-metil-carbinol : Negativa.

b. Disociación

De las cepas estudiadas, correspondientes a esta especie, se consiguió aislar una variante; a continuación se describen los caracteres que presentan en los diferentes medios de cultivos usados.

Colonia en agar glicerinado : A las 48 hs. las colonias solo son visibles al microscopio y se distinguen dos tipos diferentes: una muy pequeña, de forma circular y otra un poco más grande que la anterior y de forma irregular; a los 9 días se observa un tipo de colonia de forma circular, elevada, superficie lisa y brillante, de color amarillo, bordes enteros, estructura finamente granulosa; el otro tipo de colonia es de forma circular, elevada, superficie lisa con brillo semejante al de la porcelana, de color amarillo oro, estructura interna finamente granulosa con algunas granulaciones más grandes en el centro.

Caldo glicerinado: A las 24 hs. enturbia el caldo; a las 48 hs. se observa un escaso sedimento; a los 5 días el caldo es muy turbio y el sedimento escaso; a los 9 días no se observa desarrollo superficial, la turbidez es abundante, sedimento escaso, amarillento viscoso al agitar.

Agar glicerinado. A las 24 hs. desarrollo escaso a lo largo de la estría; a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, de color amarillento; a los 9 días desarrollo abundante, filiforme, elevado, superficie lisa y brillante, de color amarillo, consistencia mantecosa.

Caldo común Semejante a caldo glicerinado.

Agar común Semejante a agar glicerinado, pero el desarrollo más moderado.

Papa glicerizada : A las 24 hs. desarrollo muy escaso; a los 5 días desarrollo moderado, oscurece el color de la papa; a los 11 días desarrollo abundante, algo extendido, superficie irregular, brillante, de color amarillo, consistencia mantecosa, oscurece el color de la papa.

Medio de Petragani : A las 24 hs. escaso desarrollo; a los 4 días desarrollo abundante, filiforme, superficie lisa, brillante, de color amarillo, consistencia mantecosa; a los 11 días desarrollo abundante, extendido, superficie lisa, brillante, de color amarillo consistencia mantecosa.

6. Mycobacterium phlei Lehmann y Neumann

Sinonimia : Timothy hay bacillus or grass bacillus I, Moeller, Therapeutischen Monatsheften, 12, 1898, 607; Moeller, Deut. med. Wochenschr., 24, 1898, 376; Lehmann y Neumann, Bakt. Diag., 2 Aufl., 2, 1898, 411; Mycobacterium moelleri Chester, Manual of Determ. Bact. 1901, 358.

N° de cepas estudiadas: 3, aisladas de diferentes muestras de tierras.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : A las 24 hs. se observan bastones sueltos o aglomerados dotados de movimientos browniano y en la superficie de la gota se ven pequeños islotes, en los cuales los gérmenes se encuentran aparentemente en un mismo plano, adosados de tal manera que no se llega a distinguir bien su forma. A medida que el cultivo envejece de estos islotes nacen especies de ramificaciones que se extienden en todas direcciones. En estas ramificaciones los gérmenes se disponen en la misma forma que en los islotes.

Dimensiones : Miden de 0.6 a 1.0 micron de ancho por 1.6 a 2,4 micrones de largo.

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar glicerinado : A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio. A los 10 días las colonias son de forma circular, y miden de 1 a 5 mm de diámetro, son elevadas en el centro y con bordes irregulares, superficie rugosa, mate, de color anaranjado.

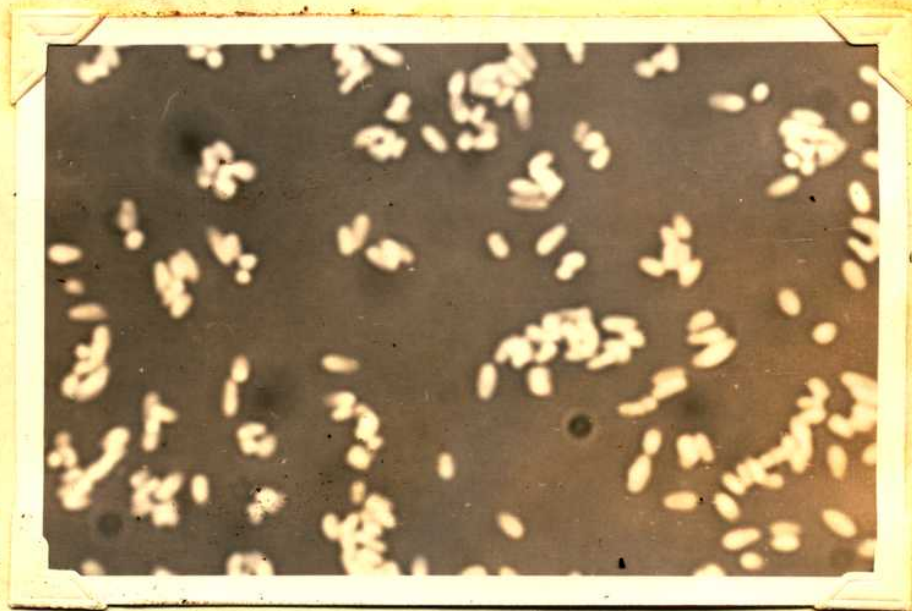


Fig. 18.-Mycobacterium phlei, tipo S. (x 2500)

5

Caldo glicerinado : A las 24 hs. enturbia el caldo; a los 3 días aparece una película superficial tenue, continua e incolora; a los 7 días el caldo es turbio con una membrana superficial que sube por las paredes del tubo, translúcida, rugosa, con algunas zonas muy pequeñas en las cuales el desarrollo es más abundante, de color amarillo anaranjado, sedimento escaso granuloso de color amarillo a anaranjado.

Agar glicerinado : A las 24 hs. se observa desarrollo escaso, a lo largo de la estria; a los 5 días desarrollo algo extendido superficie ligeramente rugosa, mate, con bordes plegados, translúcida amarillenta observandose gránulos brillantes de color anaranjado; a los 9 días desarrollo abundante, algo extendido, presenta el aspecto de una membrana ligeramente rugosa, mate de color amarillento, consistencia que bradiza y sobre esta membrana se elevan gránulos de color anaranjado y consistencia cremosa.

Caldo común : Semejante a caldo glicerinado pero el desarrollo es más moderado.

Agar común : Semejante a agar glicerinado pero el desarrollo más moderado.

Papa glicerinada : A las 24 hs. desarrollo muy escaso; a los 3 días desarrollo moderado a lo largo de la estria; a los 7 días desarrollo abundante, filiforme, superficie granulosa, mate, de color anaranjado, consistencia que bradiza oscurece el color de la papa.

Medio de Petragani : A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 4 días desarrollo moderado, filiforme; a los 7 días desarrollo abundante algo extendido, superficie irregular, granulosa, seca, mate de color anaranjado, con bordes de color más claro formando co-



Fig. 19.- *Mycobacterium phlei*, tipo R. (x 50)

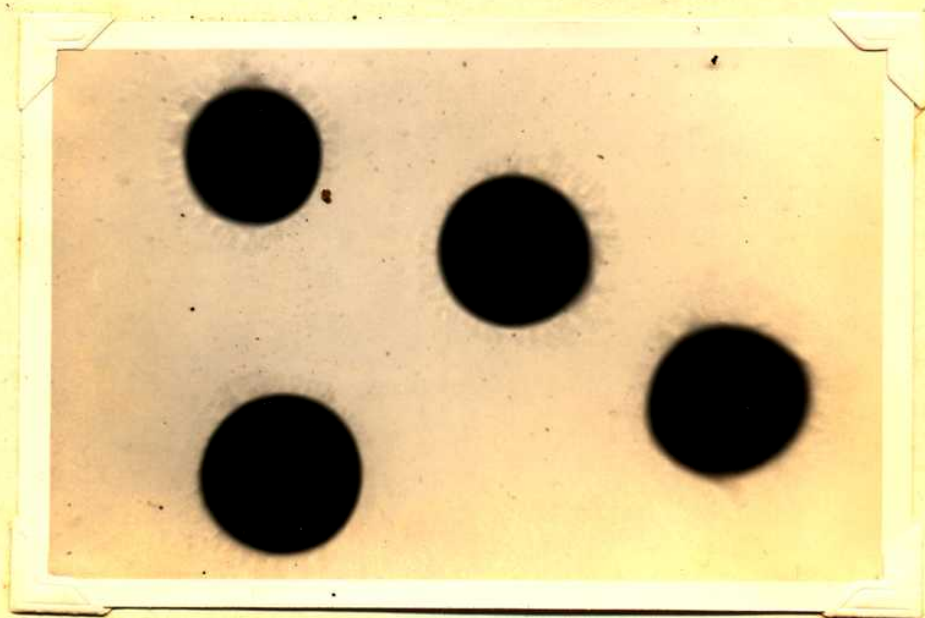


Fig. 20.- *Mycobacterium phlei*, tipo S. (x 50)

como un halo alrededor de toda la estria, consistencia membranosa, desarrollo adherido al medio de cultivo.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 37°C.

Temperatura máxima: 45°C.

Relación con el pH del medio : Desarrollan desde pH 5.5 a 9.5, siendo el punto óptimo 6,5-7.0.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuefacción de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche : Alcaliniza la leche.

Acción sobre los glóbulos rojos: Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Utilizan arabinosa, levulosa, galactosa, glucosa, manita, sorbita. No utiliza sacarosa.

Reducción de nitratos: Positiva.

Producción de indol: Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Positiva.

Producción de acetil-metil-carbinol : Negativa.

c. Disociación

De las cepas estudiadas correspondientes a esta especie, se consiguió aislar una variante, cuyas características en los diferentes medios de cultivos usados se dan a continuación.

Cultivos de adhesión: A las 24 hs. se observan bastones cortos, algunos de ellos con ensanchamientos en uno o ambos extremos, no se observan ramificaciones, muchos de ellos estandotados de movimiento browniano y otros se disponen en especies de cadenas de diferentes tamaños siguiendo líneas sinuosas. El número de estas cadenas aumenta a medida que el cultivo envejece tomando enton-

ces el aspecto de una red. En estas cadenas los gérmenes se disponen en ángulos o se delizan uno sobre el otro.

Colonia en agar glicerinado: A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio; a los 7 días las colonias son pequeñas, de forma circular, elevadas, superficie pulida y brillante, bordes enteros, de color amarillo oro, estructura interna finamente granulosa. Se observan otras colonias que tienen un halo translúcido alrededor observadas al microscopio el borde estransparente y lobado.

Caldo glicerinado : A las 24 hs. enturbia el caldo; a las 48 hs. se observa un sedimento escaso; a los 6 días el caldo es turbio con escaso depósito, de color amarillo; a los 8 días caldo muy turbio con formación de una película superficial, muy tenue y translúcida, sedimento escaso, amarillo oro, ligeramente viscoso al agitar.

Agar glicerinado : A las 24 hs desarrollo escaso, filiforme, a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, a los 7 días desarrollo abundante, filiforme, plano, superficie lisa y brillante de color amarillo oro, consistencia mantecosa.

Caldo común: Semajante a caldo glicerinado pero el desarrollo es más moderado.

Agar común : Semejante a agarglicerinado pero el desarrollo es más moderado.

Papa glicerinada: A las 24 hs. desarrollo muy escaso; a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, oscurece la papa; a los 8 días desarrollo abundante, superficie lisa y brillante, de color anaranjado consistencia mantecosa, oscurece la papa.

Petragnani:

Medio de Petragiani: A las 24 hs. desarrollo escaso;
a los 4 días desarrollo moderado, filiforme, superficie lisa y brillante, de color anaranjado; a los 8 días desarrollo abundante, filiforme, superficie lisa y brillante, de color anaranjado, consistencia mantecosa.

7. Mycobacterium E.

N° de cepas estudiadas : 2 provenientes de colección.

a. Morfología

Cultivo de adhesión : Se observan gran cantidad de gérmenes sueltos o de a dos formando angulos dotados de movimiento browniano muy intenso. En la superficie de la gota se observan las cadenas características de las micobacterias. Estas son cortas y formadas por bastones de diferentes tamaño algunos de ellos con uno o ambos extremos ensanchados.

Dimensiones : Miden desde 0,6 a 0,8 micrones de ancho por 1,6 a 4 micrones de largo.

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar glicerinado : Son colonias de desarrollo lento y se observan dos tipos; una de ellas puntiforme, plana, incolora, mate, observada al microscopio se distingue una zona central más elevada y opaca que la periférica, los bordes son irregulares. El otro tipo de colonia es más grande, de forma circular y mide de 1 a 2 mm. de diámetro, elevada, ligeramente brillante de color anaranjado y con un pequeño halo, incoloro,

Caldo glicerinado : A las 24 hs. caldo ligeramente turbio, a los 7 días caldo levemente turbio, película superficial incompleta, tenue, translúcida, incolora, sedimento escaso, amarillo, viscoso al agitar.

Agar glicerinado : A las 24 hs. desarrollo escaso a lo largo de la estría; a los 7 días desarrollo filiforme, algo extendido translúcido, incoloro, con granulaciones de diferentes tama-

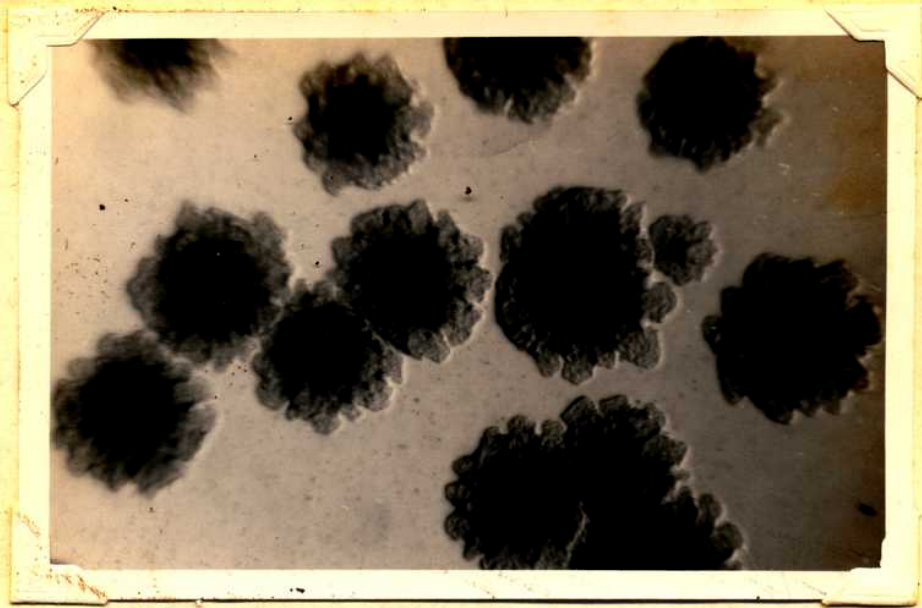


Fig. 21.- *Mycobacterium adherens* (x 50)



Fig. 22.- *Mycobacterium adherens* (x 2500)

ño, superficie lisa y brillante, de color anaranjado, distribuidas en toda la superficie del desarrollo; a los 15 días desarrollo abundante con el aspecto de una membrana gruesa, seca, plegada, muy adherida al medio de cultivo, de color anaranjado, en el borde se observa una zona más clara, consistencia membranosa.

Caldo común: Semejante a caldo glicerinado pero el desarrollo es más moderado.

Agar común : Semejante a agar glicerinado pero el desarrollo es más moderado.

Papa glicerinada: A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 7 días desarrollo moderado, filiforme, membranosos, seco, mate, de color anaranjado, consistencia quebradiza.

Medio de Petraghani: A las 24 hs. escaso desarrollo; a los 7 días desarrollo abundante, filiforme, ligeramente extendido, superficie granulosa, mate, seca, de color anaranjado; a los 15 días el desarrollo es abundante y tiene el aspecto de una membrana gruesa, seca, ligeramente plegada, muy adherida al medio de cultivo, de color anaranjado, consistencia membranosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima : 37°C.

Temperatura máxima : 45°C.

Relación con el pH del medio : Desarrollan desde pH 5.0 a 9.5, siendo el punto óptimo 7.5.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuefacción de la gelatina : Negativa.

Acción sobre la leche : Alcaliniza la leche

Acción sobre los glóbulos rojos : Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono : Utilizan levu-

losa, galactosa. No utilizan arabinosa, glucosa, sacarosa, manita, sorbita.

Reducción de nitratos : Positiva.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico: Positiva.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

Las características descritas, no permitieron identificar esta especie con ninguna de las mencionadas en la literatura y por adherirse su desarrollo fuertemente a los medios de cultivo sólidos se sugiere llamar a esta especie Mycobacterium adhaerens.

8. Mycobacterim F.

N° de cepas estudiadas 6 aisladas 3 de ellas de tierra y 1 de agua.

a. Morfología

Cultivos de adhesión : Se observan bastones deformados con ensanchamientos en uno o ambos extremos o bien en el centro, son encorvados y la mayor parte de ellos están sueltos o agrupados dotados de movimiento browniano muy pronunciado; otros inmóviles se disponen en la superficie de la gota en cadenas cortas que describen pequeñas curvas. Los gérmenes en estas cadenas no se disponen por sus extremos, sino que forman ángulos entre sí o bien uno se desliza sobre el otro. El número de estas cadenas aumenta a medida que el cultivo envejece y se distribuyen de tal manera que el conjunto de ellas tiene un aspecto característico.

Dimensiones : Miden desde 0,8 a 1,0 micron de ancho por 1,6 a 4,0 micrones de largo.

Coloraciones : Acido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar glicerinado: Son colonias de formación lenta. A las 24 hs. solo son visibles al microscopio y están formadas por bastones dispuestos en ángulo o deslizados uno sobre el otro formando especies de cadenas que se dirigen en todas direcciones; hacia el tercer día el número de gérmenes aumenta formándose una zona central finamente granulosa de la que parten gran cantidad de cadenas de gérmenes; por multiplicación de los gérmenes las cadenas aumentan en espesor adoptando entonces la colonia la forma que recuerda a la de una ameba con sus pseudopodios; a los 9 días la colonia es de forma circular, superficie lisa, brillan-

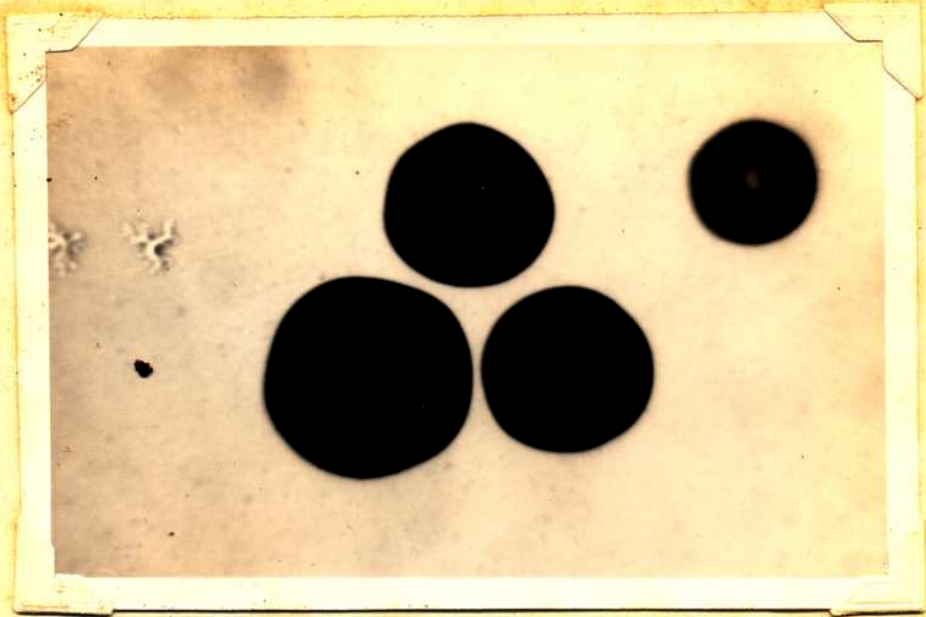


Fig. 23.- *Mycobacterium mucosum* (x 50)



Fig. 24.- *Mycobacterium mucosum* (x 2500)

te, de color anaranjado, bordes enteros; el tamaño de la colonia varía desde 1 hasta 5 mm de diámetro conservando las más pequeñas el aspecto semejante al de las amebas.

Caldo glicerinado : A las 24 hs. enturbia el caldo; a las 48 hs. se observa un sedimento muy escaso; a los 5 días aparecen algunas partículas escamosas flotando en la superficie; a los 9 días el caldo es turbio con una película superficial seca de color amarillo anaranjado, que sube por las paredes del tubo, sedimento escaso, de color amarillo anaranjado, ligeramente viscoso al agitar.

Agar glicerinado : A las 24 hs. escaso desarrollo a lo largo de la estría; a los 3 días desarrollo moderado, filiforme, de color amarillo anaranjado; a los 6 días desarrollo abundante, algo extendido, plano, superficie lisa y brillante, de color anaranjado, consistencia mantecosa blanda a tal punto que el desarrollo se desliza hacia abajo por la superficie de la estría.

Caldo común: A las 24 hs. enturbia el caldo; a las 48 hs se observa un pequeño depósito; a los 6 días caldo turbio con película superficial formada por islotes, translucidos, sedimento moderado amarillo anaranjado, viscoso al agitar.

Agar común : Semejante a agar glicerinado, pero el desarrollo es más moderado.

Papa glicerinada: A las 24 hs. el desarrollo es muy escaso; a las 48 hs. el desarrollo es escaso, filiforme, amarillo anaranjado, a los 5 días el desarrollo es moderado, filiforme, superficie lisa y brillante, de color anaranjado, consistencia mucosa oscurece el color de la papa.

Medio de Petragani : A las 24 hs. el desarrollo es escaso; a los 4 días el desarrollo es moderado, filiforme, superficie lisa y brillante de color anaranjado; a los 11 días el desarrollo es abundante, filiforme, superficie irregular, brillante, de color anaranjado, consistencia mantecosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima : 30°C.

Temperatura máxima : 45°C.

Relación con el pH del medio : Desarrollan desde pH 5.0 a 9.5, siendo el punto óptimo 6.5-7.0.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuefacción de la gelatina : Negativa.

Acción sobre la leche : Alcaliniza ligeramente la leche.

Acción sobre los glóbulos rojos : Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono : Utilizan glucosa, levulosa, manita. No utilizan arabinosa, sacarosa, galactosa, sorbita.

Reducción de nitratos : Negativas

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Positiva.

Producción de acetil-metil-carbinol : Negativa.

d. Disociación

En agar glicerinado se han observado características distintas a la descrita, las que se dan a continuación.

Agar glicerinado : A las 24 hs. desarrollo escaso a lo largo de la estria, a los 3 días desarrollo moderado, filiforme, de color anaranjado; a los 9 días desarrollo abundante, filiforme,

superficie ligeramente rugosa, mate, de color anaranjado, consistencia quebradiza.

Las características descritas, no permitieron identificar esta especie con ninguna de las mencionadas en la literatura y por caracter que presenta en agar común de deslizarse por la estría hacia abajo se sugiere llamar a esta especie Mycobacterium laben.

III.- Género Proactinomyces Jensen 1931

Diagnosis

Proactinomyces es un género de bacterias establecido por Jensen (1931) para designar todas aquellas formas filamentosas, ramificadas, capaces de producir un micelio aéreo divisible en segmentos parecidos a bacterias e incapaces de producir conidios.

Umbreit (1936) acepta el género sugiriendo una subdivisión del mismo de acuerdo a determinados caracteres de los cultivos y fisiológicos en α y β Proactinomyces.

Bergey y colaboradores (1939) aceptan el género con la siguiente definición:

Bastones o filamentos alargados, frecuentemente hinchados y ocasionalmente ramificados, generalmente forman en el primer estado del desarrollo un micelio muy pequeño el cual, sin embargo pronto asume la apariencia de desarrollo semejante a bacterias. Bastones más cortos y formas cocoides se encuentran en cultivos más viejos. No forman conidios. Se colorean fácilmente y a veces muestran un ligero grado de ácido resistencia. Inmóviles. No forman esporas. Aerobios. Gram positivos. Las colonias son similares en apariencia a aquellas del género Mycobacterium. Parafina, fenol, m-cresol son frecuentemente utilizados como fuente de energía. La especie tipo es Proactinomyces agrestis (Gray y Thornton) Jensen.

Waksman (1940) acepta el género con las sugerencias de Umbreit.

1. Proactinomyces agrestis (Gray y Thornton) Jensen

Sinonimia: Mycobacterium agreste Gray y Thornton, Cent. f. Bakt.; II Abt., 73, 1928, 84; Actinomyces agrestis Bergey y colaboradores, Manual 3a. edic., 1930, 472; Jensen, Proc. of Linnean Soc. N.S. W. 56, 1931, 345.

N° de cepas estudiadas : 20 aisladas 12 de ellas de diferentes muestras de tierra, 3 de agua y 5 de excrementos de animales.

a. Morfología

Cultivos de adhesión : Se observan bastones gruesos de diferentes tamaño y también formas cocoides. En la superficie de la gota se disponen en especies de cadenas cortas y encorvadas, en las cuales los gérmenes se deslizan uno sobre el otro o forman ángulos entre sí. En el borde de la gota estas cadenas terminan en filamentos, a medida que el cultivo envejece se observa en ellos indicio de ramificación.

Dimensiones : Miden de 0,6 a 1,0 micrón de ancho por 0,6 a 12 micrones de largo.

Coloración: No ácido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonias en agar común : A las 24 hs. las colonias solo son visibles al microscopio; a las 48 hs se observan colonias pequeñas, las que observadas con poco aumento presentan una estructura granulosa, con bordes enteros o ramificados variando el número de ramificaciones de colonia a colonia; observadas con gran aumento se distingue el cuerpo de la colonia constituido por bastones cortos y gruesos y formas cocoides y las ramificaciones estan

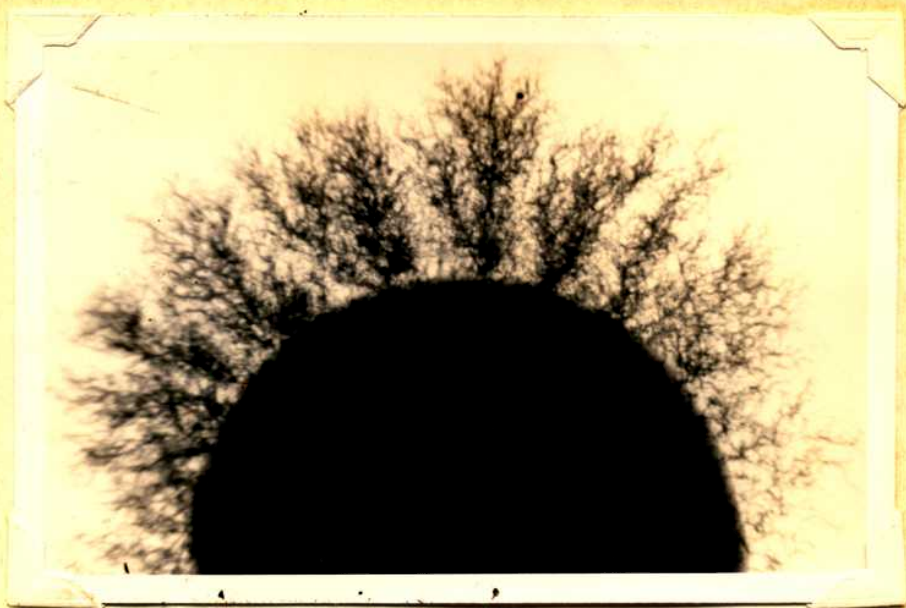


Fig. 25.- *Proactinomyces agrestis* (x 50)



Fig. 26.- *Proactinomyces agrestis* (x 2500)

formadas en su base por los mismos elementos terminadas por un filamento, a veces ramificado; a los 7 días se observan colonias circulares, planas, lisas, brillantes, de color rosa carne, bordes enteros. A los 15 días muchas colonias presentan un halo incoloro formado por ramificaciones.

Caldo común : A las 24 hs. caldo turbio; a las 48 hs. s sedimenta escaso; a los 5 días película superficial tenue, incolora, con algunas zonas más gruesas de color rosa intenso, caldo turbio, sedimento abundante, blanco rosado.

Agar estria A las 24 hs. desarrollo moderado, filiforme; a los 3 días, desarrollo moderado, filiforme, superficie lisa y brillante de color rosa intenso, consistencia mantecosa; a los 8 días desarrollo abundante, filiforme, plano, superficie lisa y brillante, de color rosa intenso, consistencia mantecosa.

Caldo glicerinado : Semejante a caldo común.

Agar glicerinado : Semejante a agar común.

Papa glicerinada : A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 5 días desarrollo moderado, filiforme, plano, superficie lisa, mate, de color rojo oscuro, desarrollo adherido a la papa.

Medio de Petragiani: A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 3 días desarrollo moderado, a lo largo de la estria, formado por colonias desarrolladas una al lado de la otra lo que le da un aspecto de superficie granulosa, ligeramente brillante, consistencia mantecosa. A los 6 días desarrollo abundante, filiforme, elevado, superficie granulosa, mate, de color rosa intenso, consistencia mantecosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima : 30°C.

Temperatura máxima: 45°C.

Relación con el pH. del medio: Desarrollan desde pH 5,5 a 9.5, siendo el punto óptimo 7.5.

Relación con el oxígeno : Aerobio.

Licuefacción de la gelatina : Negativa.

Acción sobre la leche ; Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos : Negativa.

Utilización de hidratos de carbono: Utilizan glucosa, levulosa, sacarosa, manita, sorbita. No utilizan arabinosa, galactosa.

Reducción de nitratos : Positiva.

Producción de indol : Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico : Positiva.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

2. Proactinomyces A.

Nº de cepas estudiadas : 2 aisladas de diferentes muestras de tierra.

a. Morfología

Cultivo de adhesión: Se observan bastones dispuesto en ángulo en toda la superficie de la gota y algunos bastones largos, con ensanchamientos o bien filamentos ramificados.

Dimensiones : Miden 0,6 a 1,0 micrón de ancho por 2 a 15 micrones de largo.

Coloraciones: No ácido resistente, Gram positivo.

b. Caracteres de los cultivos

Colonia en agar común : A las 24 hs. colonia solo visible al microscopio; a los 5 días colonias puntiformes, circulares, elevadas, brillantes, de color amarillo oro, estructura groseramente granulosa.

Caldo común: A las 24 hs. caldo turbio, película superficial tenue, ligero depósito; a los 3 días película superficial tenue, caldo turbio depósito moderado amarillento; a los 7 días película superficial incompleta, gresa, amarilla, caldo turbio, depósito abundante, amarillo, viscoso.

Agar común: A las 24 hs. desarrollo escaso, filiforme; a los 3 días desarrollo moderado, filiforme, amarillo ocre, a los 5 días desarrollo abundante, filiforme, superficie lisa, brillante de color amarillo ocre, consistencia mantecosa.

Caldo glicerinado: Semejante a caldo común.

Agar glicerinado: Semejante a agar común.

Papa glicerinada : A Las 24 hs. desarrollo escaso; a los 5 días desarrollo abundante, filiforme, superficie lisa, mate, de

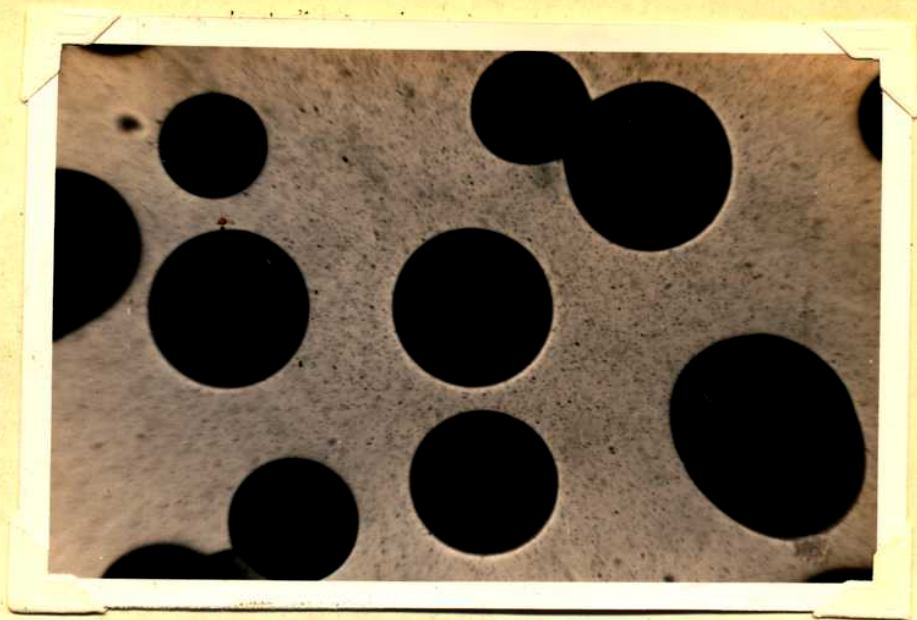


Fig. 27.- *Proactinomyces paraffinae* (x 50)

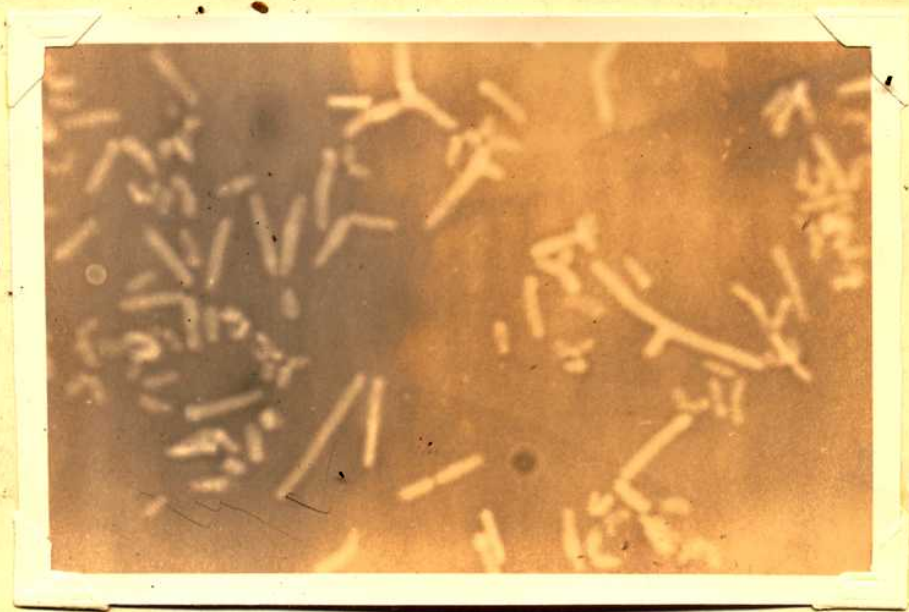


Fig. 28.- *Proactinomyces paraffinae* (x 2500)

66
color amarillo ocre, consistencia mucosa.

Medio de Petraghani: A las 24 hs. desarrollo escaso; a los 3 días colonias de color amarillento desarrolladas a lo largo de la estría; a los 6 días desarrollo moderado, superficie ligeramente granulosa, de color anaranjado, consistencia mantecosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima: 30°C.

Temperatura máxima : 45°C.

Relación con el pH del medio: Desarrollan desde pH 5.5 a 9.5, siendo el punto óptimo 8.0.

Relación con el oxígeno: Aerobio.

Licuefacción de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche:

Acción sobre los glóbulos rojos : Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Utilizan arabinosa, glucosa, levulosa, galactosa, sacarosa, manita. No utiliza sorbita.

Reducción de nitratos: Negativa.

Producción de indol: Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico: Positiva.

Producción de acetil-metil-carbinol: Negativa.

Al Por algunos caracteres se considera a esta especie afin Proactinomyces paraffinae Jensen (1931).

3. Proactinomyces B.

Nº de cepas estudiadas: 13 aisladas de diferentes muestras de tierra.

a) Morfología

Cultivo de adhesión: Se observan gérmenes sueltos o aglomerados dotados de movimiento browniano y bastones inmóviles solos o dispuestos de tal manera que recuerdan las letras chinas. Estos bastones son encorvados, deformados, a veces con ensanchamientos en forma de quistes, se observan también formas filamentosas en el borde de la gota en las que se distingue también formas ramificadas.

Dimensiones: Miden 0,8 a 1,0 micrón de ancho por 4,0 a 16,0 micrones de largo.

Coloraciones : Debilmente ácido resistente, Gram positivo

b. Caracteres de los cultivos.

Colonia en agar glicerinado: A las 24 hs. solo son visibles al microscopio; a los 7 días las colonias son redondas elevadas, superficie lisa y brillante, de color blanco crema, estructura finamente granulosa con ramificaciones cortas y opacas en el centro.

Caldo común: A las 24 hs. caldo turbio con película superficial muy tenue; a los 5 días película superficial tenue, incolora, caldo turbio, sedimento abundante, de color blanco crema, viscosa al agitar.

Agar común : A las 24 hs. desarrollo escaso a lo largo de la estría; a las 48 hs. desarrollo moderado, filiforme de color blanco crema; a los 4 días desarrollo moderado, filiforme, filiforme superficie lisa, ligeramente brillante, de color blanco crema,

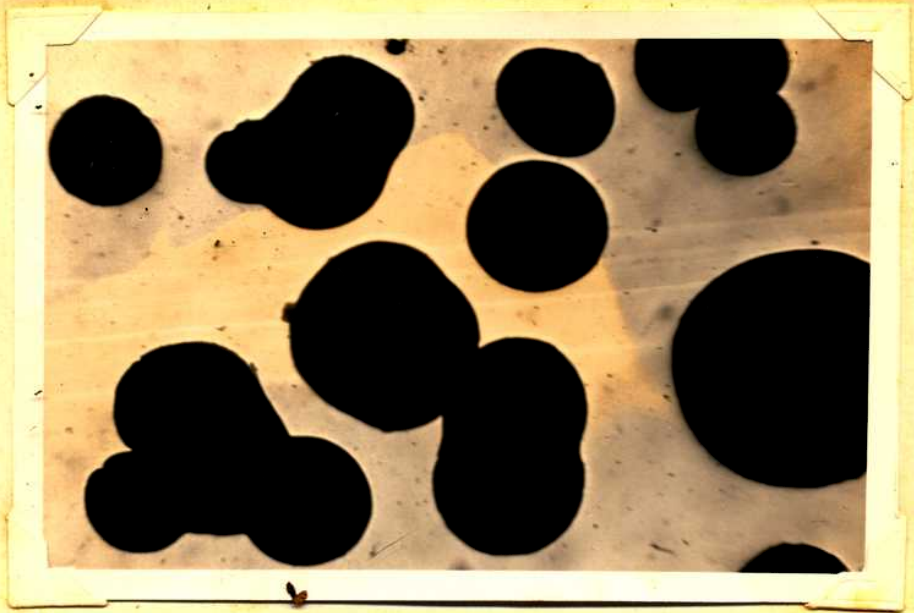


Fig. 29.- *Proactinomyces globerulus* (x 50)



Fig. 30.- *Proactinomyces globerulus* (x 2500)

a los 12 días el desarrollo presenta el mismo aspecto pero los bordes son ligeramente ramificados.

Caldo glicerinado: Semejante a caldo común.

Agar glicerinado: Semejante a agar común.

Papa glicerinada: A las 24 hs desarrollo escaso; a los 6 días desarrollo abundante, elevado, superficie ligeramente granulosa, mate, de color blanco crema, consistencia mantecosa, oscurece el color de la papa.

Medio de Petraghani: A las 24 hs. escaso desarrollo; a los 3 días desarrollo abundante a lo largo de la estria formado por colonias que al unirse le dan un aspecto granuloso, mate, de color blanco crema, consistencia mantecosa.

c. Fisiología

Temperatura óptima : 30°C.

Temperatura máxima : 45°C.

Relación con el pH del medio: Desarrolla desde pH 5,0 a 9,5 siendo el punto óptimo 7.5.

Relación con el oxígeno: Aerobio.

Licuefacción de la gelatina: Negativa.

Acción sobre la leche : Negativa.

Acción sobre los glóbulos rojos : Negativa.

Utilización de los hidratos de carbono: Utilizan glucosa, levulosa, sacarosa, arabinosa, manita, sorbita.

Reducción de nitratos : Negativa.

Producción de indol: Negativa.

Producción de ácido sulfhídrico: Positiva.

Producción de acetyl-metil-carbinol: Negativa.

Por algunos caracteres fundamentales que coinciden con los correspondientes de Proactinomyces globerulus, Gray (1928) se considera la especie aquí descrita afin de a ualla.

Capítulo VI

CONSIDERACIONES

Desde Lachner-Sandoval (1898) que fue el primero en reunir en una sola familia los géneros Corynebacterium, Mycobacterium, y Actinomyces han sido muchas las clasificaciones que han mantenido reunidos a estos géneros ya en una familia, ya en un orden. Sin embargo, otros sistemas los han separado, considerando los géneros Corynebacterium y Mycobacterium como pertenecientes al orden de las Bacteriales y reuniendo el género Actinomyces y formas afines en una familia o un orden aparte.

El carácter más importante en el que se fundó la reunión de los géneros Corynebacterium, Mycobacterium y Actinomyces ha sido indudablemente el morfológico, por considerar a los representantes de los dos primeros capaces de producir formas filamentosas y ramificadas y por observarse en los del último, el polimorfismo característico de aquellos.

En los cultivos de adhesión en los que se observa el desarrollo característico de las Coryne- y Micobacterias, los gérmenes se disponen generalmente, de una manera especial, simulando cadenas en las que los elementos no se unen por sus extremos, sino que parecen haberse deslizado uno sobre el otro o bien forman ángulos entre sí. En las proactinomicas también se observa una disposición semejante, pero generalmente en el borde de la gota las cadenas terminan dando formas filamentosas. Estas formas filamentosas son más abundantes a medida que el cultivo envejece observándose también en ellas un indicio de ramificación.

Estas diferencias también se observan en cajas de Petri sembradas en estría, apoyando sobre la superficie un cubreobjeto

y observando con lente de inmersión. A las 24 hs. en las corine- y micobacterias los gérmenes se disponen en ángulo o se deslizan unos sobre los otros, formando empalizadas o cadenas semejantes a las observadas en los cultivos de adhesión; no se observan nunca formas filamentosas, ni ramificadas, si bien en la única forma de Corynebacterium aislada, en este trabajo, se observaron algunas células que presentan principios de ramificación.

Este carácter no es exclusivo, sin embargo, de las Actinomyceales, pues también se observa en otros géneros de las Eubacteriales, como en Propionibacterium. En cambio en el género Proactinomyces las formas filamentosas y ramificadas son las que predominan y en ellas se observa la formación de un micelio.

Otro carácter que ha servido para reunir los tres géneros mencionados ha sido la propiedad de resistir a la decoloración por los ácidos que presentan algunas Actinomyces y que es característica de los representantes del género Mycobacterium, sin embargo no se puede considerar este carácter de mucho valor para mantener reunidos los géneros Corynebacterium, Mycobacterium y Actinomyces, sobre todo si se tiene en cuenta que la ácidorresistencia es débil y podría considerarse como el resultado de una decoloración insuficiente. En las micobacterias, la misma, es fuertemente positiva lo que se comprobó en todas las cepas correspondientes a este grupo de microorganismos estudiados en el presente trabajo.

Concordante con este carácter se observaron, en estos gérmenes, otros como el desarrollo lento en los medios comunes sobre todo inmediatamente después de ser aislados y la influencia de la glicerina que resultó siempre favorable.

Es por eso que el criterio de Stanier y Van Niel (1941) de separar los géneros Corynebacterium y Mycobacterium de las Actinomyetales parece muy acertado. En la presente investigación todas las observaciones realizadas apoyan un punto de vista semejante,

Los autores citados, separan los géneros Corynebacterium y Mycobacterium de las Actinomyetales, en su clasificación del reino de las Moneras colocándolos en el orden de las Eubacteriales. A continuación de estos estaría el orden de las Actinomyetales pudiendo considerarse las corine- y micobacterias como un lazo de unión entre estas y aquellas.

Capítulo VII

CONCLUSIONES

Las experiencias realizadas en la presente investigación permiten deducir las siguientes conclusiones:

1) El aislamiento de los organismos ácido resistentes solo fue posible previo enriquecimiento de los mismos. En cambio los representantes de los géneros Corynebacterium y Proactinomyces pudieron ser aislados directamente.

2) Para conseguir el aislamiento de los gérmenes ácido resistentes fue necesario modificar la técnica de Söhngen, pues el método original no dió resultados satisfactorios.

3) El empleo de los cultivos de adhesión ha resultado util para el estudio morfológico de las cepas aisladas.

4) Las formas de disociación estudiadas, en este trabajo, solo se diferencian entre si por los caracteres de los cultivos y no generalmente por sus características morfológicas y fisiológicas.

5) El estudio morfológico, fisiológico y de los caracteres de los cultivos de las 98 cepas consideradas en este trabajo, ha permitido agruparlas en 12 especies, de las cuales 2 pertenecen al género Corynebacterium, 8 al género Mycobacterium y 3 al género Proactinomyces. Las cuatro especies nuevas correspondientes, una de ellas al primero de los géneros nombrados y las otras tres al segundo, han sido consideradas así, por que algunos de sus caracteres fundamentales no coincidieron con los de las descritas hasta la fecha..

Capítulo VIII

RESUMEN

El objeto de este trabajo ha sido realizar el estudio sistemático de los géneros correspondientes al Orden de las Actinomyetales no productoras de conidios, aislados de muestras de tierra, agua y excrementos de animales.

Para proceder al aislamiento de estos microorganismos se utilizaron dos técnicas: la de Söhngen que fue necesario modificar en parte, para los organismos ácido resistentes y la de Orskov para los no ácido resistentes.

El estudio de las 98 cepas consideradas en este trabajo, realizado de acuerdo con las técnicas descritas en el Manual de métodos de la Sociedad de Bacteriólogos Americanos, permitió separar 12 especies de las cuales 2, corresponden al género Corynebacterium, 7, al género Mycobacterium y 3, al género Proactinomyces.

Las observaciones efectuadas en el presente trabajo, apoyan el criterio de Stenier y Van Niel de separar los géneros Corynebacterium y Mycobacterium de las Actinomyetales, incluyéndolos en las Eubacteriales, por no existir razones suficientes para mantenerlos reunidos con el género Actinomyces.

Samuel J. ...
José ...

Clina L. Tacónis.

BIBLIOGRAFIA

- Bergey D. H. y colabor. 1923-1939.- Manual of Determinative Bacteriology.
Baltimore.
- Buchanan R. E. 1917.- Studies in the nomenclature and classification of the bacteria.
Jour. of Bact. 2: 155-162; 347-350; 603-617.
- Buchanan R. E. 1927.- General Systematic Bacteriology.
Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Cohn F. 1875.- Untersuchungen über Bakterien.
Beitr. Biol. Pflanz. 1:141-208.
- Chester F. D. 1899.- Studies in systematic bacteriology.
Ann. Rep. Del. Coll. Agr. Exp. Sta. 11:36.
- Gasperini G. 1895.- Discussione.
Atti dell'XI congresso med. internaz. Roma. 6:(Igiene) 80-82.
- Harz G. O. 1877-1878.- Actinomyces bovis, ein neuer Schimmel in dem Gewebe des Rindes.
Jahresber. d. muenchener Central-Thierarzneischule p.125-140.
- Jensen H. L. 1931.- Contribution to our knowledge of the Actinomycetales. II. The definition and subdivision of the genus Actinomyces with a preliminary account of Australian soil actinomycetes.
Proc. of Linn. Soc. N. S. W. 56: 345-370.
- Jensen H. L. 1932.- The identity of certain species of Mycobacterium and Proactinomyces.
Proc. of Linn. Soc. N. S. W. 57: 364-376.
- Jensen H. L. 1933.- Corynebacteria as an important group of soil microorganism.
Proc. of Linn. Soc. N.S.W. 58: 181-185.
- Jensen H. L. 1934.- Studies on saprophytic Mycobacteria and Corynebacteria.
Proc. of Linn. Soc. N. S. W. 59: 19-61.
- Kuyver y Van Niel C. B. 1936.- Prospects for a natural system of classification of bacteria.
Centr. f. Bakt. IIAbt. 94: 369-403.
- Lachner-Sandoval V. 1898.- Ueber Strahlenpilze.
Inaugural Diss. Strassburg.
- Lehmann K. B. y Neumann R. 1896.- Atlas und Grundriss der Bakteriologie.
Muncheu.

- 76
- Lehmann K. B. y Neumann R. 1927.- Bakteriologische Diagnostik.
München.
- Lindner P. 1893.- Die Einzellkultur im hängenden Tropfen.
Wochenschr. f. Brauerei.
- Ludwig F. 1892.- Lehrbuch der niederen kryptogamen.
- Merrill M. H. 1931.- Studies on carbon metabolism of genus Myco-
bacterium. II. Utilization of organic compounds in a
synthetic medium.
Jour. of Bact. 21: 361-375.
- Orla Jensen 1909.- Die Hauptlinien des natürlichen Bakterien sys-
tems.
Centr. f. Bakt. IIab. 22: 305-346.
- Orskov J. 1923.- Investigation into the morphology of the ray
fungy.
Levin and Munksgaard. Copenhagen.
- Orskov J. 1938.- Untersuchungen über Strahlenpilze reingezüchtet
aus dänischen Erdproben.
Zentr. f. Bakt. II abt. 98: 344-357.
- Society of American Bacteriologist Committee on Bacteriological
Technic. Manual of Methods for pure culture study
of bacteria.
Geneva, New York. 1923-1939.
- Söhngen H. L. 1913.- Benzin, Petroleum, Paraffine als Kohlenstoff
und Energiequelle für Mikroben.
Centr. f. Bakt. II abt. 37: 595.
- Soriano S. 1935.- Dispositivo sencillo para micromanipulación.
Folia Biológica N° 46; 47; 48; 49; :205-210.
- Soriano S. 1938.- Estudio microbiológico del proceso de fermenta-
ción de la "chicha".
Rev. del Inst. Bact. (D.N.E.) 8: 231-321.
- Stanier R. J. y Van Niel C. B. 1941.- The main outlines of bacte-
rial classification.
Jour. of Bact. 41: 437-466
- Terzi C. 1894.- Actinomyces Gruberii.
Atti dell'XI congresso med. internaz. Roma. 6: Igiene
79.
- Trevisan V. 1889.- I genera e le specie delle Batteriacee.
Milan.