

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

Estudio Experimental del Valor que Tiene
el Complejo Vitamínico B en el
Desarrollo o en el Cultivo
de las Bacterias

T E S I S

que presenta

Ma. del Consuelo Trujano Ayala

para su examen profesional de

QUIMICO FARMACEUTICO Y BIOLOGO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A la memoria de mis queridos padres.

A mis tíos:

Francisco J Martínez y Soledad A de Martínez,
con todo cariño e inmensa gratitud.

A mis maestros.

A mis hermanos.

A los Jefes de los Lab ABBOTT.
con todo respeto

SUMARIO

- I.—Qué es el complejo vitamínico "B".
- II.—Sitio en donde se encuentra en la naturaleza el complejo.
- III.—Labor experimental:
Investigación de la forma y proporción en que el complejo B se ha de añadir a los medios de cultivo e influencia que sobre el desarrollo tiene esta adición.
- IV.—Conclusión.

QUE ES EL COMPLEJO VITAMINICO B.

CAPITULO I

Qué es el complejo vitamínico B.

El complejo vitamínico B es un grupo de factores que se encuentran reunidos en la levadura y en el extracto de hígado, solubles en el agua, que reúnen las condiciones necesarias para ser vitaminas (sustancias orgánicas que intervienen en la alimentación en proporción muy reducida, pero que son indispensables para el mantenimiento, el desarrollo y la reproducción normal de los organismos).

Los factores que componen este complejo son varios, pero sólo han sido identificados químicamente 4; de los demás, sólo se ha probado su evidencia fisiológica.

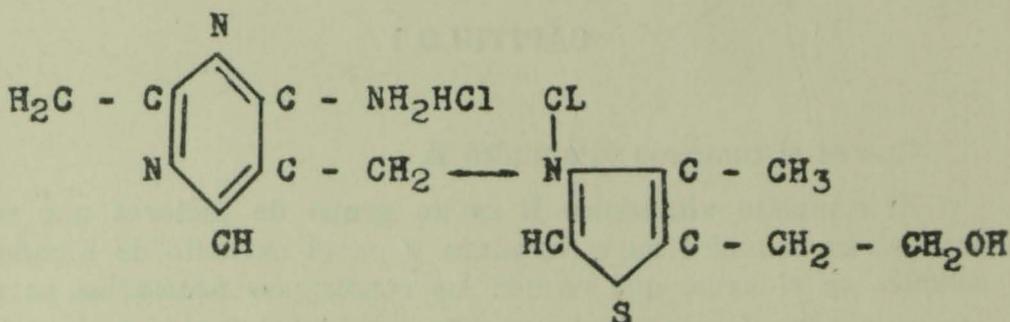
Los que han sido más estudiados e identificados químicamente, son los siguientes:

VITAMINA B₁ (Tiamina).

La carencia de esta vitamina correspondiente al complejo, produce la enfermedad estudiada por Eijkman y conocida en Oriente como ber-beri. Conocida ya por los antiguos chinos, fue detenidamente estudiada por Takaki (1885). Este médico introdujo carne en la dieta de los marinos, constituida en gran parte de arroz, y consiguió así disminuir el ber-beri de 179 a 3 por mil. Hubo otros investigadores que, dándose cuenta e que la enfermedad era causada por la falta de una sustancia contenida en la cascarilla del arroz, buscaron su identificación química y después de muchos trabajos, Funk en 1911 aisló un principio cristalizado

antiberibérico, pero la cristalización real de la vitamina pura, fue obtenida en 1926 por Jansen y Donath. A partir de este producto cristalizado se estudió la estructura y la composición química que fue revelada y comprobada por síntesis merced a los trabajos de Cline y Williams (1937).

La estructura corresponde a la presencia de un núcleo tiazol y uno pirimídico. La fórmula es la siguiente:



Clorhidrato de tiamina.

Cristaliza en agujas finas agrupadas en forma de estrellas. Existen 2 variantes, una funde a 248°-250°C y otra a los 232°-243°C. Las soluciones puras y de reacción ácida se esterilizan a 100°C sin perder su actividad vitamínica; las soluciones neutras y en particular las de reacción alcalina son termolábiles.

Método de dosificación y necesidades en el hombre. Muchos métodos se han propuesto para este objeto, entre otros tenemos el de Sherman y Chase que es de los más conocidos, define como **unidad** de esta vitamina, la cantidad que administrada diariamente a ratas sometidas a dieta carente de este factor, las hace aumentar 5 gramos de peso por semana, durante 4 semanas.

La curación de la polineuritis en la rata y en la paloma, también han sido utilizadas como índice. Peters y colaboradores han basado un método en el aumento de consumo de oxígeno en cerebro de ratas y palomas avitaminadas, al agregarle vitamina B1.

Como métodos químicos, el más usado se basa en la oxidación a tiocromo y medición de la fluorescencia. Otros métodos colorimétricos, con la p-aminoacetofenona en medio alcalino.

El patrón internacional lo constituía el producto de adsorción (en tierra de infusorios) del principio activo extraído del salvado de arroz. La unidad internacional eran 10 mg. de este producto.

La nueva unidad internacional está representada por la actividad de 3 microgramos de cloruro de tiamina (0.003 mg.) puro cristalizado.

Las necesidades atribuídas al adulto, varían según distintos autores. Cowgill, para un adulto de 45 grs. las fija de 135 U. I., para el de 70 Kg. en 280 y para uno de 90 Kg. en 550.

Para la mujer embarazada y lactando, el Comité de Higiene de las Naciones aconseja de 150 a 250 U. I., para dietas de valor calórico comprendido entre 3,000 y 3500 calorías. Cowgill en cambio sugiere de 15 a 20 U. I. por cada 100 calorías.

A los niños en sus primeros años (más o menos hasta 7) se deben administrar de 20 a 25 U. I. por cada 100 calorías en la dieta.

VITAMINA B₂ O RIBOFLAVINA.

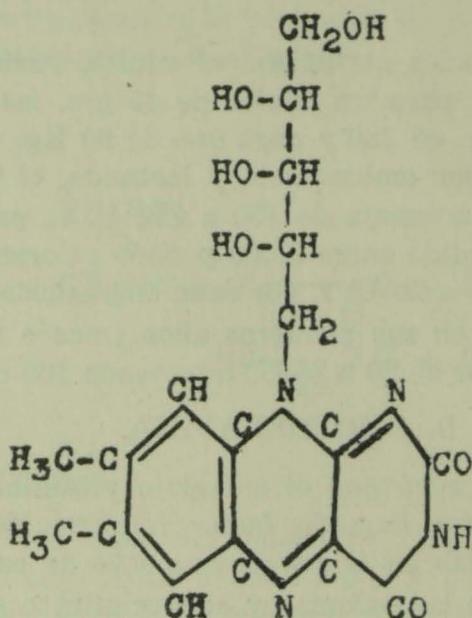
Cuando se creyó que el complejo vitamínico B constaba de un solo factor, fue llamado factor hidrosoluble, pero las discrepancias observadas en el comportamiento de este factor frente a la polineuritis en las palomas y el crecimiento en las ratas, llevaron a pensar en la existencia de dos vitaminas, Emmet y Luros (1920) y posteriormente otros autores, comprobaron que el valor en vitamina B₂ de la levadura, era debido a una sustancia anti-neurítica destruída por calentamiento en autoclave (vitamina B₁) y otro factor termoestable (que se encuentra en la levadura sometida al autoclave) y favorecía el crecimiento.

Este factor de crecimiento fué llamado vitamina B₂ y por los norteamericanos vitamina G, actualmente se hace más usual la denominación de riboflavina, que deriva de su estructura química.

Por haberse aislado y cristalizado primeramente de la leche, se le denominó lactoflavina y a los que se obtuvieron más tarde a partir del huevo y del hígado, se les denominó ovo y hepatoflavinas respectivamente. Se ha demostrado hoy que todos estos pigmentos tienen la misma estructura química, por lo que se ha propuesto denominarlos riboflavina (porque contienen ribosa).

Estos pigmentos constituyen el grupo de los liocromos y presentan una coloración amarilla y fluorescencia verde característica.

Kuhn y colaboradores aclararon la estructura química del pigmento que fue confirmada por síntesis. La fórmula es la siguiente:



Esta substancia deriva del núcleo de las isoaloxinas, con una cadena lateral constituida por ribosa. Al actuar la luz se separa la cadena lateral quedando un grupo CH₃ y transformándose la ribo en lumiflavina. Se han preparado flavins sintéticas que tienen actividad vitamínica, pero siempre menor que la natural.

La riboflavina es ópticamente activa, soluble en agua y alcohol, insoluble en otros disolventes orgánicos, relativamente termoestable, estable en ácidos fuertes, pero sensible a los álcalis. Es reducida reversiblemente por hidrógeno, en presencia de platino o paladio. Forma cristales en forma de agujas amarillas de punto de fusión 293°C.

El ester fosfórico de la riboflavina ligado a una proteína, constituye el llamado fermento amarillo por Warburg y Christian (1932) y descubierto por primera vez en la levadura. Este fermento interviene como transportador de hidrógeno (oxidándose y

reduciéndose por pérdida y fijación de este elemento) en los procesos de oxidación celulares.

Dosificación.

Como método de dosificación se utiliza el efecto de este factor sobre el crecimiento. En el método de Sherman-Bourquin se define como unidad: la cantidad de vitamina capaz de producir un aumento de peso de 3 gr. por semana, durante el período de ensayo (2 a 4 semanas) cuando se adiciona a una dieta carente del mismo factor. La unidad Sherman-Bourquin equivale a 2 ó 2.5 g. (0.002 a 0.0025 mg.) de riboflavina.

Como métodos de dosificación, también se han propuesto a algunos colorimétricos, fluorométricos y otros en que se emplean bacterias (*Lactobacillus casei* E).

Cantidades necesarias al hombre.

Rose sugiere 400 unidades (Sherman-Bourquin) para niños hasta 10 años o 20 unidades por cada 100 calorías, si se consumen más de 2,000 calorías y para adultos 20 unidades por cada 100 calorías. Para el tratamiento de la "arriavinosas" se recomiendan de 3 a 5 mg. de riboflavina diarios, de preferencia por boca por no ser soluble en agua.

VITAMINA ANTIPELAGROSA O FACTOR P-P.

(Acido nicotínico y nicotinamida.)

Goldberger y colaboradores, experimentando en el hombre en los Estados Unidos, comprobaron que ciertas dietas provocan la aparición de la pelagra y que ciertos alimentos y entre otros la levadura fresca, seca o sometida al autoclave, hacían desaparecer los síntomas. Además observaron que las mismas dietas que producían la pelagra, hacían aparecer la "lengua negra" en el perro y que los alimentos que curaban a una de ellas, también lo hacían con la otra. Así quedó demostrado que la pelagra y la "lengua negra" del perro tenían un mismo origen.

Se atribuyeron propiedades antipelagrosas a la vitamina B₂ pero una vez aislada la riboflavina, se ha comprobado que no cura la pelagra. La carencia de vitamina B₆ que como sabemos

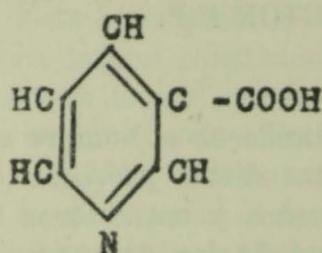
produce dermatitis en las ratas, se supuso que era la causante. Hoy se ha demostrado que ni la vitamina B₆ que como sabemos la antipelagrosa, ni la dermatitis de la rata tiene qué ver con la pelagra.

A la sustancia que evitaba la pelagra, Goldberger le denominó "pelagra-preventive" o P-P.

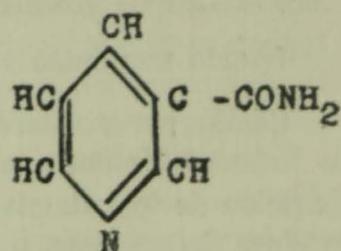
En realidad la pelagra es una polivitaminosis. Varios autores hacen notar que la carencia de ácido nicotínico es sólo un factor y que los pelagrosos pueden presentar deficiencia de tiamina, riboflavina y en cierto grado de ácido ascórbico.

Aislamiento de la vitamina.—Goldberger y Sebrell (1930), observaron que los extractos hepáticos usados en el tratamiento de las anemias, son muy ricos en factor P-P. Es a partir de estos extractos, que Elvehjem y colaboradores (1937) consiguieron aislar la amida del ácido nicotínico y el mismo ácido y probar que curaban la "lengua negra" en el perro. Posteriormente Spies y otros autores, obtuvieron el mismo resultado con la pelagra humana.

El ácido nicotínico y la nicotinamida derivan del núcleo piridínico y responden a las siguientes estructuras:



ácido nicotínico ó m-pirindin-carboxílico



nicotinamida

Antes de que se descubriera la naturaleza vitamínica de la nicotinamida, ya se había descubierto su presencia en las coencimas o codehidrasas I y II. Estos nucleótidos se oxidan y reducen reversiblemente y desempeñan un papel importante, como transportadores de hidrógeno, en los procesos de óxido-reducción en los tejidos, de manera semejante al fermento amarillo de War-

burg. Interviene particularmente en la degradación de los glúcidos. Después del proceso de fosforilación con formación de exosafosfato y desintegración de ésta a triosafosfato, esta última se oxida por pérdida de hidrógeno, que cede a los piridinnucleóticos.

Dosificación.—El valor de los alimentos como antipelagrosos, se ha determinado ensayándol en la pelagra humana la “lengua negra” en el perro. La acción sobre el crecimiento de microorganismos (*shigella paradysenterice*) y la reacción que da con el cloro 2, 4-dinitrobenceno; también se han empleado en la dosificación. Además de esta reacción, las que da el ácido nicotínico con aminas primarias y secundarias aromáticas (anilina y p-metilaminofenol) en presencia de bromuro de cianógeno, se han utilizado para el método de dosificación colorimétrico.

No existe unidad biológica, la potencia se expresa en gramos o miligramos.

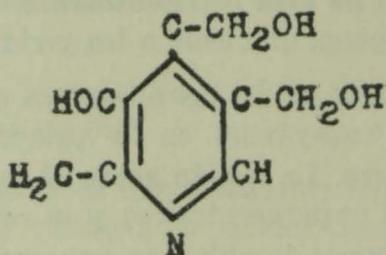
VITAMINA B₆ o antidermítica en la rata (piridoxina).

Necesidades en el hombre.—Las necesidades normales, parecen estar alrededor de los 25 miligramos diarios de ácido nicotínico.

En 1935 Gyorgy, demostró que la vitamina B₁ y la riboflavina no eran capaces de evitar la dermatitis en la rata, pero que en cambio un extracto de levadura, privado de estas vitaminas sí lo hacía. Este factor fue denonado B₆ y se supuso que evitaría la pelagra humana. Se ha probado ya definitivamente, que la vitamina B₆ no cura la pelagra ni la lengua negra y con más razón puede suponerse esto, desde que el maíz (que produce pelagra es buena fuente de B₆ y que el ácido nicotínico que cura la pelagra y la lengua negra en el perro, no cura la dermatitis de la rata.

Ultimamente se ha demostrado que no sólo cura la dermatitis en la rata, sino que también es necesari al hombre para ciertas afecciones que no se presentan en la piel, sino en la sangre y en el sistema nervioso.

Ha sido cristalizada y su estructura química determinada gracias a los trabajos de Harris, Kuhn y colaboradores.



Forma cristales prismáticos de punto de fusión 204°-206°C, fácilmente soluble en agua y alcohol. Resiste el calentamiento aun en medio alcalino. El compuesto cristalino es dializable y se adsorbe de las soluciones ácidas por tierra de infusorios, es fácilmente destruída por la luz solar y los rayos ultra violeta y precipita por el ácido fosfotúngstico. Se supone que guarda cierta relación al metabolismo de los lípidos (probablemente en la utilización de los ácidos grasos no saturados).

Schneider (1939) definió la unidad, como la cantidad necesaria para curar la acrodinia moderada de una rata en tres semanas. Gyorgy (1934) y Wilson y Roy (1938) usaron una unidad un poco diferente, llamándola a la cantidad necesaria para curar la acrodinia en dos semanas. Descubrieron que la cantidad era de 0.1 mg. de cristales puros.

OTROS FACTORES DEL COMPLEJO B. E

Estos otros factores del complejo B sólo han sido identificados fisiológicamente.

Pruebas de la presencia de otros factores, además de los estudiados se han tenido sometiendo a diversos tratamientos los extractos (de levadura, de salvado, de arroz, etc.) y ensayándolos en diversas especies: ratas, palomas y pollos. A continuación daremos una reseña muy breve de los mejor conocidos.

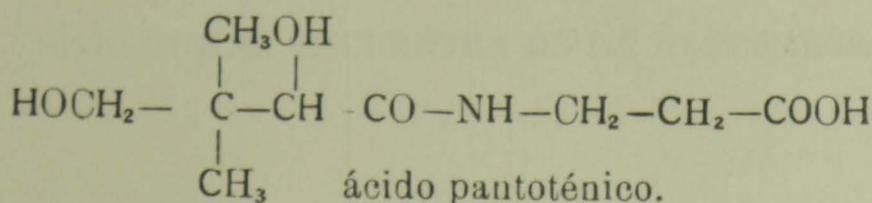
VITAMINA B₃.—Descrita por Williams y Waterman, es un factor de crecimiento en las palomas, termolabil y que puede obtenerse del hígado y la levadura.

VITAMINA B₄.—Su carencia produce parálisis en ratas y pollos. Se encuentra en la levadura e hígado y es destruída por calentamiento en autoclave en medio alcalino.

VITAMINA B₅.—Evita la pérdida de peso en las palomas, pero no favorece al crecimiento, y es más resistente al calor y a los álcalis que la B₃.

FACTOR FILTRABLE.—Así llamado porque queda en los extractos de levadura, después de haber eliminado las vitaminas B₁, la riboflavina y la B₆, por adsorción con tierra de infusorios. Su carencia provoca una dermatosis característica en el pollo, con erupciones alrededor de los ojos, boca y patas. Este factor II en cuanto a su actividad dermatítica y a su comportamiento químico, es idéntico al "ácido pantoténico" de Williams.

Esta sustancia ha sido cristalizada y se ha probado que contiene alanina. Williams y Major han determinado su estructura química comprobándola por síntesis.



VITAMINA B₇ o vitamina 1.—Centanni (1935) reclama haber aislado del extracto alcohólico de corteza de arroz, una sustancia que no tenía efecto en la prevención del beri-beri o polineuritis, pero prevenía algunos disturbios digestivos en los pájaros. Este factor puede ser idéntico al descrito por Carter (1930) y por Rosedale (1927). Es poco conocido en estos tiempos y no tiene valor humano.

VITAMINA H (Biotina).—Parsons y sus socios (1934, 1937) reportaron un tipo de dermatitis en ratas producida por comer clara de huevo cruda y curada por una inyección de un material obtenido por la digestión de extracto de hígado con papaina, extractándolo con agua y re-extractando el extracto seco con meta-

nol. Este producto es probablemente idéntico al producto de Stepp; Gyorgy (1937) encontró el factor más adelante y obtuvo preparaciones efectivas en dosis de 3 a 5 mg., dándole a esto el nombre de factor vitamina H.

La sustancia es dializable, termoestable e hidro y alcohol soluble, pero no es soluble en éter o cloroformo. Es prontamente adsorbido por carbón vegetal, pero no precipitado por acetato de plomo. Es inactivado por el ácido nítrico y por acetilación, puede existir en combinación con proteína u otro coloide.

Otros factores del complejo que sólo tienen importancia en los animales son:

Vitamina J.—Factor Von Euler, antiguinea-pig-pneumonía.

Vitamina L_1 y L_2 .—Factor de lactación.

Vitamina M.—Factor antipelagroso del mono.

Vitamina W y Bw.—Factor filtrable del crecimiento de la rata.

SITIO QUE SE ENCUENTRA EN LA NATURALEZA.

ALTO QUE EN ENCUENTRA EN LA NATURALEZA

CAPITULO II

Sitio que se encuentra en la naturaleza

Todos los factores del complejo vitamínico B se encuentran reunidos en la levadura de cerveza, extracto de hígado y salvado de arroz, pero cada factor por separado se encuentran en distintas partes de los reinos vegetal y animal; así tenemos que la vitamina B₁ se encuentra en la levadura, germen de trigo, salvado de arroz y en las semillas de ciertas leguminosas como lentejas, arbejas, etc. además se encuentra en todas las partes vivas de las plantas de mayor grado evolutivo aún en las plantas parasitarias que no poseen clorofila. Pero la síntesis se efectúa únicamente en la hoja y tan sólo con irradiación, de donde se transporta a las partes que la necesitan para estimular su crecimiento como semillas, retoños y raíces.

También en los órganos animales se encuentra la vitamina B₁ en cantidades decrecientes a saber: hígado, corazón, riñones, cerebro, musculatura esquelética, bazo, pulmones y sangre.

La vitamina B₂ en los vegetales predomina en las partes verdes y disminuye cuando se disecan. Entre los productos más ricos se encuentran: carne, huevos, hígado, repollo, espinacas, germen de trigo y levadura y en mayor proporción se encuentra en el corazón, sustancia gris del cerebro, bazo y las semillas no germinadas.

Las vitaminas B₁ y B₂ no siempre se presentan juntas como se supone a veces. La clara de huevo rica en B₂ no contiene B₁, en tanto que el trigo, las patatas, las zanahorias, los tomates y cebollas que son buenas fuentes de B₁, solamente contienen vestigios de B₂.

Vitamina P-P.—Son fuentes excelentes de esta vitamina la levadura y extractos de hígado y buenas fuentes el germen y salvado de cereales, hígado, leche, carne, pescado y legumbres verdes en general.

La vitamina B₆ se puede encontrar en el maíz en melasa de remolacha, hígado, carne de pescado y verduras, leche de vaca y leche materna.

Los demás factores como ya dijimos, se encuentran en el extracto de hígado, levadura, salvado de arroz y algunos como el ácido pantoténico se encuentran en todos los organismos vivos vegetales y animales.

LABOR EXPERIMENTAL

LABOR EXPERIMENTAL

CAPITULO III

Labor Experimental

Para observar la influencia del complejo vitamínico B en el crecimiento y desarrollo de las bacterias utilicé:

Primero.—Extracto del complejo B marca Abbot que se encuentra como líquido muy espeso de color café oscuro. Por ser un producto de una casa tan seria y que garantiza la identidad de sus productos no tuve necesidad de comprobar que realmente era complejo B el que utilicé en mi prueba.

No teniendo una base fija de donde partir para hacer las primeras pruebas, hice una solución muy diluída. Pesé 0.05 grs. de complejo y lo diluí en 500 cc. de agua q. p. procedí a esterilizar esta solución para agregarla a los medios de cultivo ya estériles. Usé tres métodos de esterilización para ver cuál método resultaba más cómodo y que no alterase la naturaleza del complejo. Los métodos fueron los siguientes:

I.—Por filtración en bujía Chamberlain estéril.

La bujía Chamberlain metida en un cilindro de cristal tapado con un tapón bihoradado, por una de las horadaciones pasé un codo de vidrio para que penetrara la solución y llenara el cilindro, por la otra perforación salía otro codo de vidrio conectado por un extremo al cuello de la bujía (todas las conexiones las hice con tubo de hule), el otro extremo iba conectado a un codo que penetraba hasta el cuello de un matraz Erlen Mayer de 500cc. para recibir la solución que pasaba a través de la bujía, este

matraz estaba tapado con tapón bihoradado para que penetrara el codo ya mencionado, por la otra perforación hice pasar otro codo que conecté a un dispositivo hecho en una alargadera llena de algodón (para filtrar el aire), tapada con un tapón de hule perforado para hacer pasar un tubo de vidrio por el que se hacía la conexión, por el otro extremo de la alargadera se conectaba todo este dispositivo a la bomba del vacío para hacer pasar la solución a través de la bujía Chamberlain por medio de succión. Una vez dispuesto todo el aparato lo esterilicé en el autoclave a 120°C por 30 minutos.

Ya estéril el dispositivo, hice pasar por medio de un sifón el líquido no estéril, al cilindro en que estaba la bujía y el extremo libre de la alargadera la conecté con la bomba del vacío para hacer succión, recogí 150 cc. de la solución ya estéril, desconecté la bomba, desmonté el aparato; al matraz que contenía la solución la cambié el tapón que tenía por uno bihoradado con un codo de vidrio tapado por un extremo con algodón y un sifón de ramas largas, una de las cuales penetraba al fondo del matraz, todo esto estéril en el autoclave. Por medio del sifón saqué la solución del matraco y lo envasé en frascos pequeños de 10 cc. con tapón de hule y esterilizados también. Envasada la solución, cogí al azar tres frasquitos y con una jeringa estéril le saqué a cada uno 2 cc. de los cuales agregaba medio centímetro en tubos de fermentación llenos de caldo simple y estériles, una vez así sembrados, los llevé a la incubadora a 35°C, los observé todos los días y viendo que no había desarrollo, comprobé que la solución estaba estéril.

II.—Tomé otros 150 cc. de la solución aun no estéril y llené con ella frasquitos con tapón de hule de 10 cc., les aseguré el tapón con anillos de estaño para evitar que se destaparan, y los metí en el autoclave por 30 minutos a 120°C e hice la misma prueba de esterilidad que en el caso anterior.

III.—El resto de la solución envasada como en el caso anterior, la esterilicé en Baño María a 70°C por una hora, también hice la prueba de esterilidad sembrando solución de tres frasquitos en tubos de caldo y observándolos diariamente por ocho días sin encontrar desarrollo. Así vi que en los tres métodos de esterilización empleados, la solución quedaba estéril.

Preparado de este modo el extracto de complejo B, procedí a hacer los primeros trabajos, pero llegué a agregar 1 cc. de solución sin obtener resultados apreciables, no seguí agregando más solución por no alterar la naturaleza de los medios sólidos, mejor preparé otra solución diez veces más concentrada. Pesé 0.5 grs. del complejo, lo diluí en 500 cc. de agua q. p. de modo que quedó la dilución de 0.05 mgrs. por vigésimo de cc. Esta nueva dilución la esterilicé y envasé como ya expliqué.

2o. Medios de cultivo.—Preparación de caldo simple: Se ponen a macerar en 800 cc. de agua, 500 grs. de carne de ternera picada exenta de tendones y aponeurosis, se dejan por doce horas en el refrigerador, pasado este tiempo, se calienta a 80°C y se filtra recogiendo el filtrado en un recipiente de 1000 cc., se vuelve a calentar y se le agregan 10 grs. de peptona y 5 grs. de cloruro de sodio, se disuelven con un agitador y se deja hervir durante 20 minutos, se ajusta el volumen a 1000 cc. habiéndole ajustado el pH a 7, se pone en el autoclave a media atmósfera durante 20 minutos, para que precipiten los fosfatos, se saca, se filtra, y se coloca en recipientes más pequeños una parte, con la otra se ponen tubos de ensaye con 15 cc. y se esteriliza todo en el autoclave media hora a 120°C.

Preparación de gelosa.—A partir del caldo preparado, se toman 1000 cc., se le agregan 18 grs. de agar, se pone en el autoclave para que se disuelva, se ajusta el pH a 7, se filtra, y se envasa en tubos de ensaye poniendo 15 cc. de gelosa en cada tubo, se esterilizan a 120°C por media hora.

Preparación de gelatina.—Se prepara con caldo simple al 22% se disuelve en Baño María, se ajusta el pH de 7, se filtra, se pone en tubos de ensaye y se esteriliza en el autoclave a 110°C por 20 minutos.

De cada uno de estos medios dejé una parte de tubos con el medio simple par que sirvieran de testigos. A otro grupo de tubos de cada medio le agregué 1 cc. de sangre de conejo (medio con sangre) y en seguida preparé series de tubos de cada medio con diferentes dosis de la solución en estudio, a una serie le agregué

0.05 cc. (0.05 mgrs. de complejo) a cada tubo, una segunda serie fue preparada con 0.1, y así sucesivamente le fuí agregando a distintas series 0.15 cc., 0.2 cc. 0.25 cc., 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 5, 0.55 cc. etc.

30. Bacterias.—Seleccioné cepas de gérmenes de fácil desarrollo como bacilo coli y estafilococo y gérmenes de desarrollo en medias especiales como estreptococo gonococo y B. Pfeiffer.

Una vez preparado todo el material, procedí a hacer las siembras.

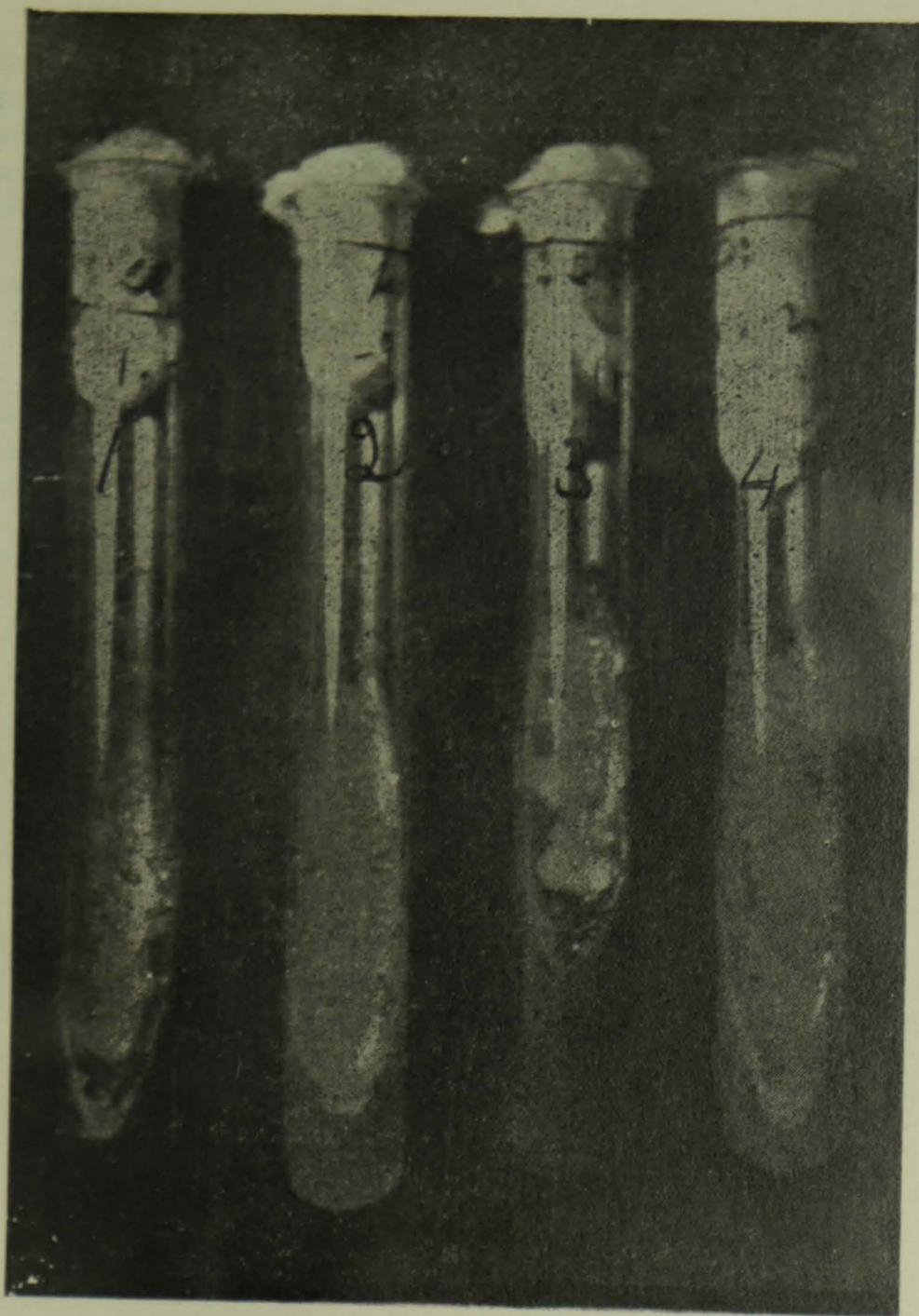
Sembré cada uno de los gérmenes en tubos testigos y en cada tubo con diferente cantidad de complejo. El gonococo, estafilococo y B. Pfeiffer, también los sembré en tubos con medio con sangre.

Los resultados fueron los siguientes:

Bacilo coli.—A las doce horas el desarrollo en los primeros tubos era igual al desarrollo en el tubo testigo, notándose mayor desarrollo desde el tubo que contenía 0.25 cc. (0.25 mgr. de complejo) aumentando en los siguientes tubos hasta llegar a un máximo en el tubo que contenía 0.5 cc. (0.5 mg.) después del cual se apercibía igual desarrollo en los tubos que tenían igual concentración. A las 24 horas había aumentado el desarrollo, pero con las mismas diferencias que en la observación anterior. Al hacer la observación microscópica de un frotis del desarrollo testigo y otro del desarrollo problema, en **aquel** los bacilos eran normales, en tanto que en **éste** los bacilos eran más grandes más gruesos, algunos casi degenerados en cocos.

Estafilococo.—Al observar macroscópicamente en los tubos, encontré las mismas diferencias de desarrollo, llegando el máximo de desarrollo también en el tubo con medio más 0.5 mgr. de complejo. Al ver al microscopio los frotis (testigo y problema) en el desarrollo problema también había un ligero aumento de tamaño.

Bacilo Pfeiffer.—Para hacer la prueba con este germen, sembré un tubo con medio simple, uno con medio sangre y la misma serie de tubos con medio más complejo vitamínico B ya descrita. A las doce horas, en los tubos testigos y en los primeros de la serie no había ningún desarrollo, notándose uno muy ligero en



- 1.—Cultivo de *B. Pfeiffer* en medio gelosa sangre.
- 2.—Cultivo de *B. Pfeiffer* en medio gelosa más 0.5 mg. de extracto de complejo vitamini B.
- 3.—Cultivo de *Gonococo* en medio gelosa sangre.
- 4.—Cultivo de *Gonococo* en medio gelosa más 0.5 mg. del mismo extracto.

El tiempo de cultivo en los 4 tubos es de 48 horas.

los tubos en que el medio tenía una concentración de 0.5 mg. de complejo. A las 24 horas ya hubo desarrollo en los tubos con medio sangre y en los de medio más 0.25 a 0.45 de complejo siendo normal el desarrollo, aumentó en los tubos con medio de concentración 0.5 mg. en adelante permaneciendo igual en todos ellos, es decir, el desarrollo fué máximo a partir de una concentración de 0.5 mg. En el tubo con medio simple y en los de primera concentración, no hubo desarrollo, sino hasta después de las 24 horas y muy ligero.

En la fotografía adjunta, el tubo 1 contiene gelosa sangre, el tubo₂ gelosa más 0.5 mg. de complejo sembrados ambos con B. Pfeiffer. El tubo 3, es de gelosa sangre, el tubo 4 gelosa más 0.5 mg. de extracto de complejo vitamínico B. Estos dos tubos están sembrados con gonococo. La fotografía fue tomada a las 48 horas de haber sido sembrados. Como puede verse, el desarrollo es mucho más abundante en el medio vitamínico con complejo B.

En la observación hecha al microscopio se encontraron en el frontis problema bacilos que habían aumentado de tamaño y otros en via de reproducción. Normales en el frontis testigo.

Estreptococo y gonococo.—También se sembró un tubo con medio simple, uno con medio sangre y la serie de tubo con medio más complejo B. Las observaciones también fueron hechas a las 12 y 24 horas. Encontrándose los mismos resultados que en el caso del bacilo Pfeiffer.

CONCLUSIONES

Copyright 1900

CONCLUSIONES

CAPITULO IV

- I.—El complejo vitamínico B tiene influencia en el crecimiento y desarrollo de las bacterias.
- II.—El medio más complejo vitamínico B puede sustituir en algunos casos al medio con sangre.
- III.—Hay mayor abundancia en el desarrollo.
- IV.—El desarrollo es más rápido.
- V.—Es un medio de fácil preparación.

CONTENTS

PART I

1. The History of the 1

2. The 10

3. The 20

4. The 30

5. The 40

6. The 50

7. The 60

8. The 70

9. The 80

10. The 90

BIBLIOGRAFIA

UNIVERSITY OF TORONTO

BIBLIOGRAFIA

- Vitamins and Vitamin Deficiencia. By Leslie J. Harris
- Vitamins in Theory Practice. By Leslie J. Harris, Sc. D., D. SC.
- Vitamins and others Dietary Essentials. By W. R. Aykroyd, M. D.
- Vital Factors of Foods Vitamins and Nutriotion. By Carleton
Ellis S. B.; F. C. S.
- Las vitaminas y su empleo clínico. Prof. Dr. W Stepp Doz Dr.
J. Huhmann, Dr. H. Schroeder.
- What are the Vitamins? Walter H. Eddy, Ph. D.
- Chemistry and Physiology of the Vitamins. H. R. Rosemberg,
Sc. D.
- Vitaminas, R. H. de Meio.