

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

EFFECTO DEL NaCN SOBRE EL
ESTREPTOCOCO Y PNEUMOCOCO

T E S I S .

Que presenta

BERTHA RODRIGUEZ LAGUNES.

PARA OBTENER TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.



QUIMICA

MEXICO, D. F.

1950



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

143

6/6 03207

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA
UNIVERSIDAD MOTOLINIA

**EFECTO DEL NaCN SOBRE EL
ESTREPTOCOCO Y PNEUMOCOCO**

BERTHA RODRIGUEZ LAGUNES.



QUIMICA

MEXICO, D. F.

1950

11 quadros d. d. t.
8 grãos u. e. c.

A la memoria de mi Padre:

*A mi Madre con todo mi cariño.
y gratitud*

A MIS HERMANOS.

A MIS TIAS CON GRATITUD..

*A la Srta. Q. B. P. Ma. del Refugio Balcazar
P. Mi agradecimiento por su acertada dirección
en este trabajo.*

*Al "INSTITUTO NACIONAL DE CAR-
DIOLOGIA" por las facilidades que me brin-
dó para el desarrollo de este trabajo.*

*CON TODO RESPETO A MIS
MAESTROS.*

CAPITULOS.

- I.—Introducción.
- II.—Efecto del NaCN sobre Estreptococos del grupo "A".
- III.—Efecto del NaCN sobre Estreptococos de otros grupos.
- IV.—Efecto del NaCN sobre el Estreptococo Viridans y Pneumococo.
- V.—Aislamiento del Estreptococo y Pneumococo de exudados faringeos en medios con NaCN.
- VI.—Aislamiento de Estreptococo y Pneumococo de materias fecales en medios con NaCN.
- VII.—Comentario Bioquímico.
- VIII.—Sumario y conclusiones.
- IX.—Bibliografía

EFFECTO DEL NaCN SOBRE EL ESTREPTOCOCO Y PNEUMOCOCO.

1.—INTRODUCCION.

Desde hace varios siglos es conocido el efecto tóxico del cianuro sobre las células, su uso como microbicida se basa en tal efecto.

Claudio Bernard (1) fué uno de los primeros investigadores que estudió el mecanismo de la acción tóxica del cianuro sobre la respiración.

Aun tratados modernos de Bacteriología (2) consideran el cianuro como un desinfectante que se combina con el hierro componente de pigmentos y enzimas respiratorias.

Zinsser (3) divide a las bacterias en aerobias, anaerobias y anaerobias facultativas, comprendiendo este último grupo organismos que pudiendo multiplicarse en presencia del oxígeno del aire, no lo utilizan por tener metabolismo anaerobio. Dubos y Pappenheimer (4) consideran que también las anaerobias estrictas pueden vivir en presencia del oxígeno del aire cuando el potencial del medio en que se cultivan es suficientemente bajo.

La mayoría de los bacteriólogos (5,6,7 y 8) están de acuerdo en que tanto el pneumococo como el estreptococo son bacterias anaerobias facultativas, y algunas anaerobias estrictas, por otra parte, los estudios espectroscópicos demuestran que estas bacterias no poseen citocromos ni citocromo oxidasa (9), y a estos datos pueden añadirse los que se presentan en una tabla (10) donde se observa que el estreptococo, también carece de catalasa y peroxidasa.

Sabiendo que el cianuro en diversas formas es usado como desinfectante, y por otra parte conociendo que el estreptococo tiene metabolismo anaerobio y carece de los fermentos respiratorios que son inhibidos por el cianuro, se emprendió el siguiente trabajo con objeto de investigar si las diferentes clases de estreptococos y pneumococos pueden multiplicarse en medio con cianuro, lo cual colocaría a tal substancia como ineficaz en su acción como desinfectante y por otra parte utilizar el NaCN para cultivar selectivamente estas bacterias, aislándolas de otras bacterias aerobias, cuya respiración es inhibida por combinarse el NaCN con sus fermentos respiratorios.

II.

Los
En cada
en caldo

Se a
disuelto
sirvió d
bos fue
horas a
ra nefel
de onda
gráfica
molarid

To
Gram (1
el estre
ma, tinc
fica I se
camente
difican
sobre l
las bac
revisad

ma desintec-
metabolismo
nhibidos por
de investigar
ueden multi-
tancia como
ar el NaCN
ras bacterias
CN con sus

II.—EFECTO DEL NaCN SOBRE ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO "A"

Los estreptococos estudiados fueron de la cepa conocida como C-203. En cada uno de once tubos, se colocaron 0.2 cc de cultivo de 24 horas en caldo corazón preparado según la técnica de Todd y Swift (11).

Se añadieron cantidades crecientes desde 0.1 cc hasta 1.5 cc de NaCN disuelto en el mismo caldo en proporción de 1:100. Al tubo No. 1, que sirvió de testigo, no se adicionó NaCN. Los volúmenes de todos los tubos fueron completados con el mismo caldo hasta 10 cc. Se incubaron 24 horas a 37°C y previa agitación, para homogeneizar, se verificó la lectura nefelométricamente en un espectofotómetro Coleman con una longitud de onda de 540 milimicras. Con los resultados obtenidos, se construyó la gráfica No. 1 que representa los millones de bacterias en función de la molaridad de NaCN en 10 de cultivo.

Todos los cultivos fueron controlados por tinción con el método de Gram (Modificado por Emil Weiss) (12). En los frotis se observó que el estreptococo del grupo "A" C-203 no sufrió modificaciones en su forma, tinción etc., con las concentraciones de NaCN estudiadas. En la gráfica I se puede comprobar que el NaCN no inhibe su crecimiento prácticamente hasta una molaridad de 0.03 M. Concentraciones mayores modifican su forma y multiplicación debido tal vez, no a su acción tóxica sobre la respiración sino al efecto inhibitor que tienen las sales sobre las bacterias, las cuales actúan en diversas formas según los trabajos revisados por Topley (13).

III.—EFECTO DEL NaCN SOBRE ESTREPTOCOCOS DE OTROS GRUPOS.

Los estreptococos estudiados pertenecen a los grupos "B" "C" "D" y "M". Se siguió la misma técnica que en el caso de los estreptococos del grupo "A", así mismo se construyeron gráficas No. 2, 3, 4, 5 y 6, con los millones de bacterias en relación a la molaridad del NaCN existente en 10 cc. de cultivo.

Un fenómeno semejante al que se observó en el grupo "A" cepa C-203 se presenta en el grupo "B" donde el NaCN favorece el crecimiento y se encuentra una concentración óptima de esta substancia comprendida entre 0.008 M y 0.01 M.

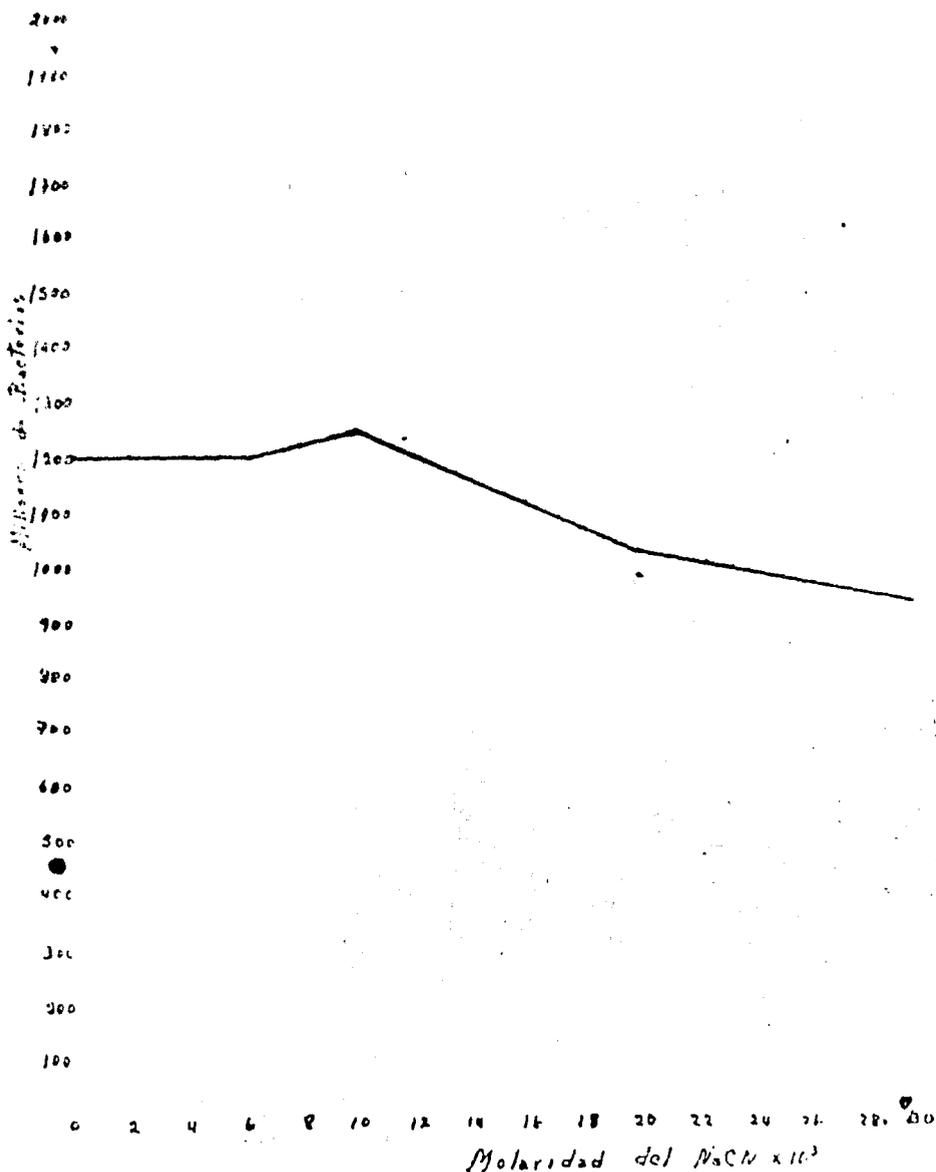
En todos los grupos estudiados se observó una zona donde la inhibición bacteriana, si existe, es tan pequeña que puede considerarse nula.

Esta zona comprende hasta una concentración de 0.012 M.

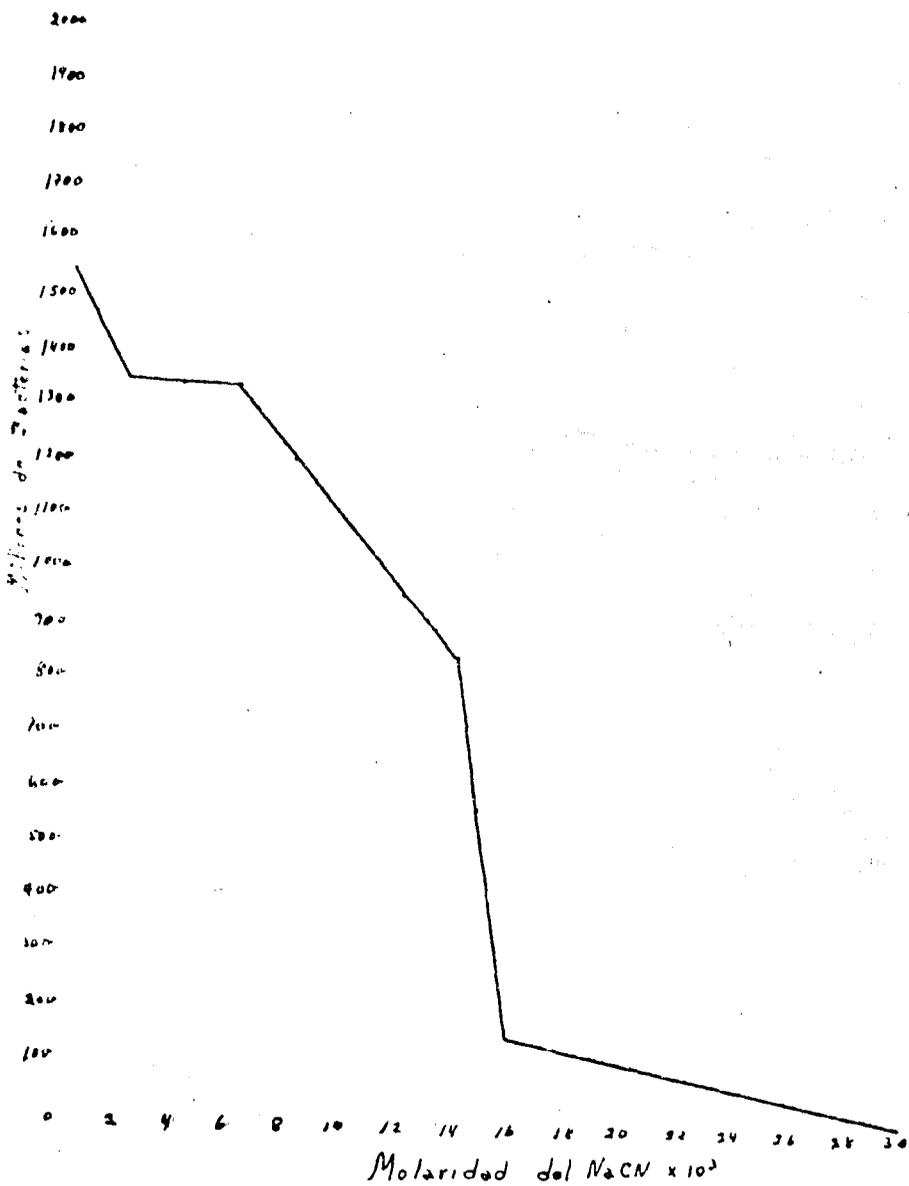
Sobrepasando esta concentración el número de bacterias disminuye hasta llegar a 0 con una concentración de 0.02 M para el grupo "C" y concentraciones de 0.03 M para los demás grupos. Esta caída puede deberse, como ya se ha señalado en el grupo "A" a la acción inhibitoria de las sales y no a su unión con las enzimas respiratorias.



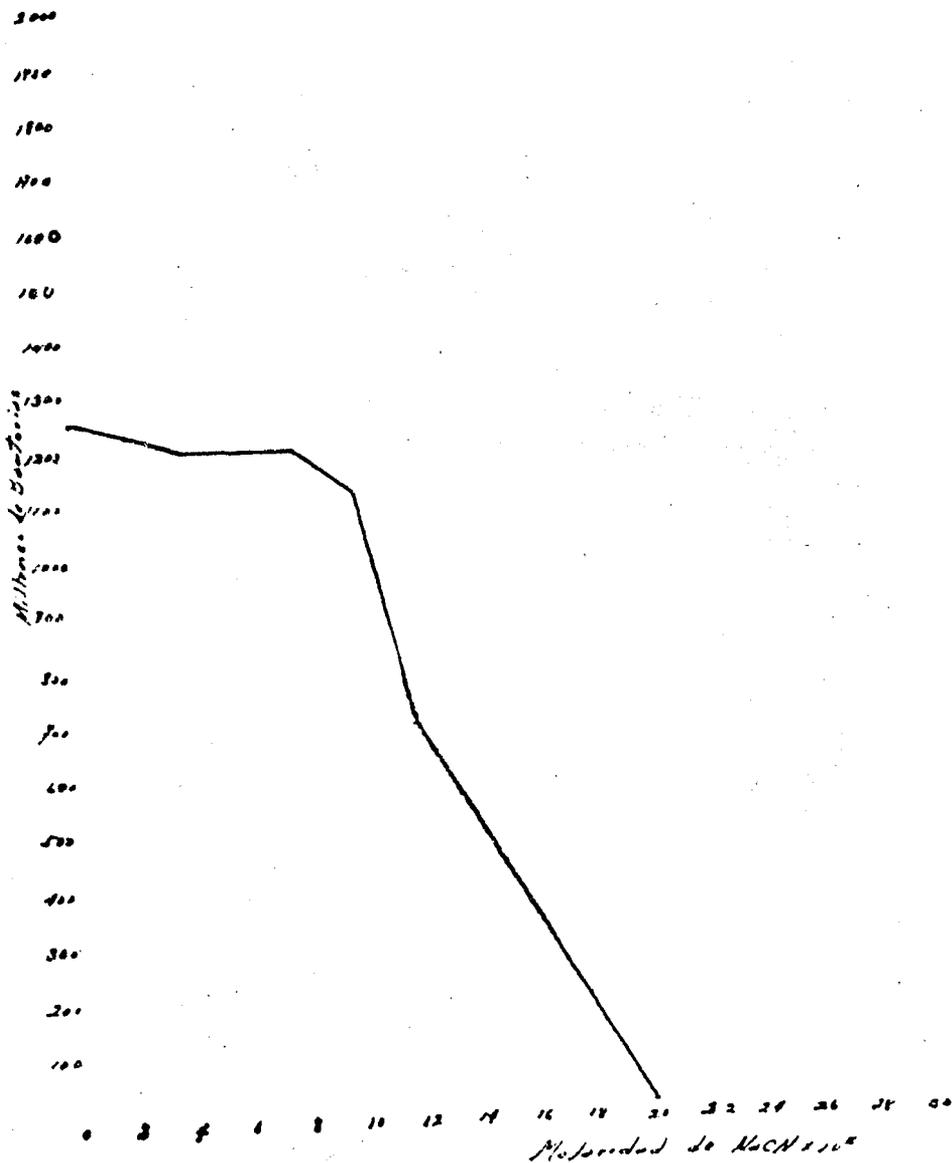
Efecto del NaCN sobre el Estreptococo C- 203



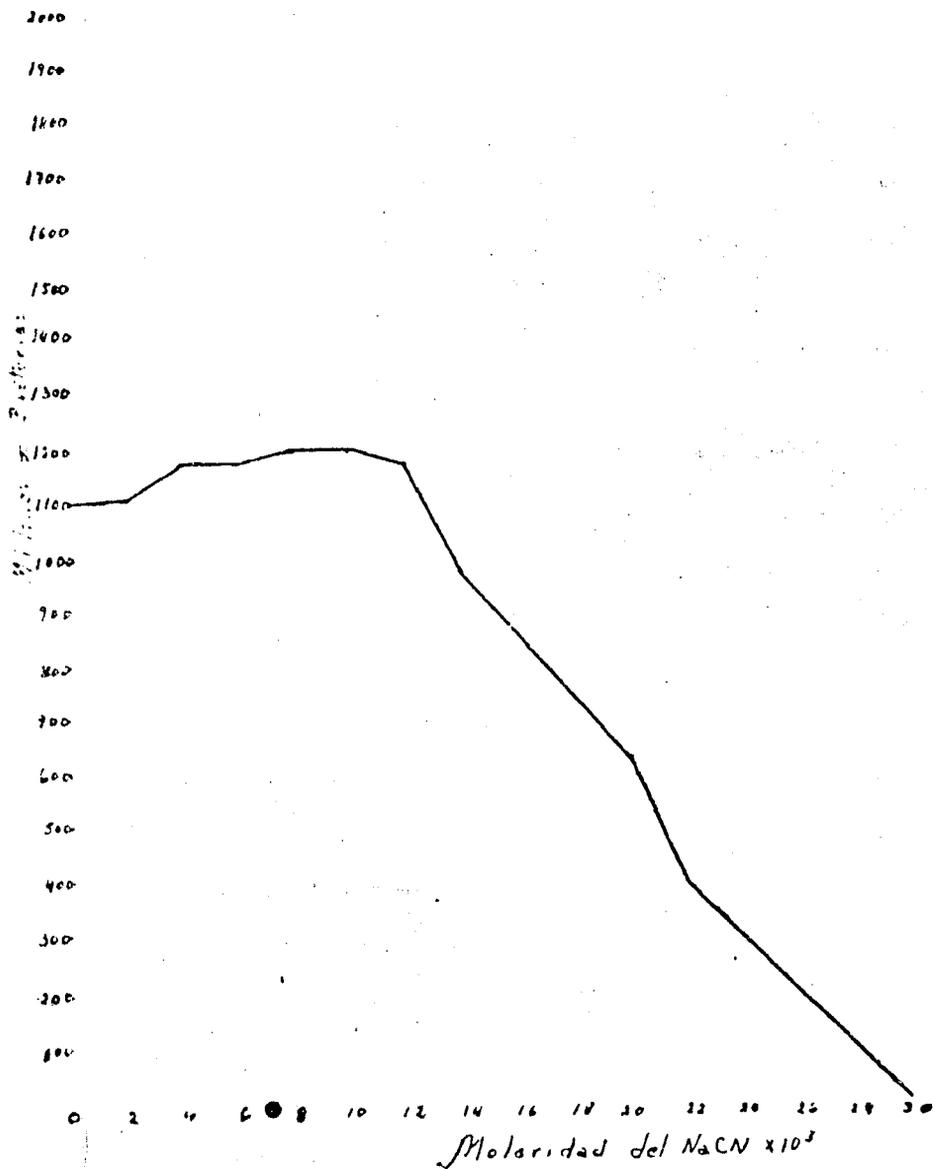
Efecto del NaCN sobre el Estreptococo del grupo B



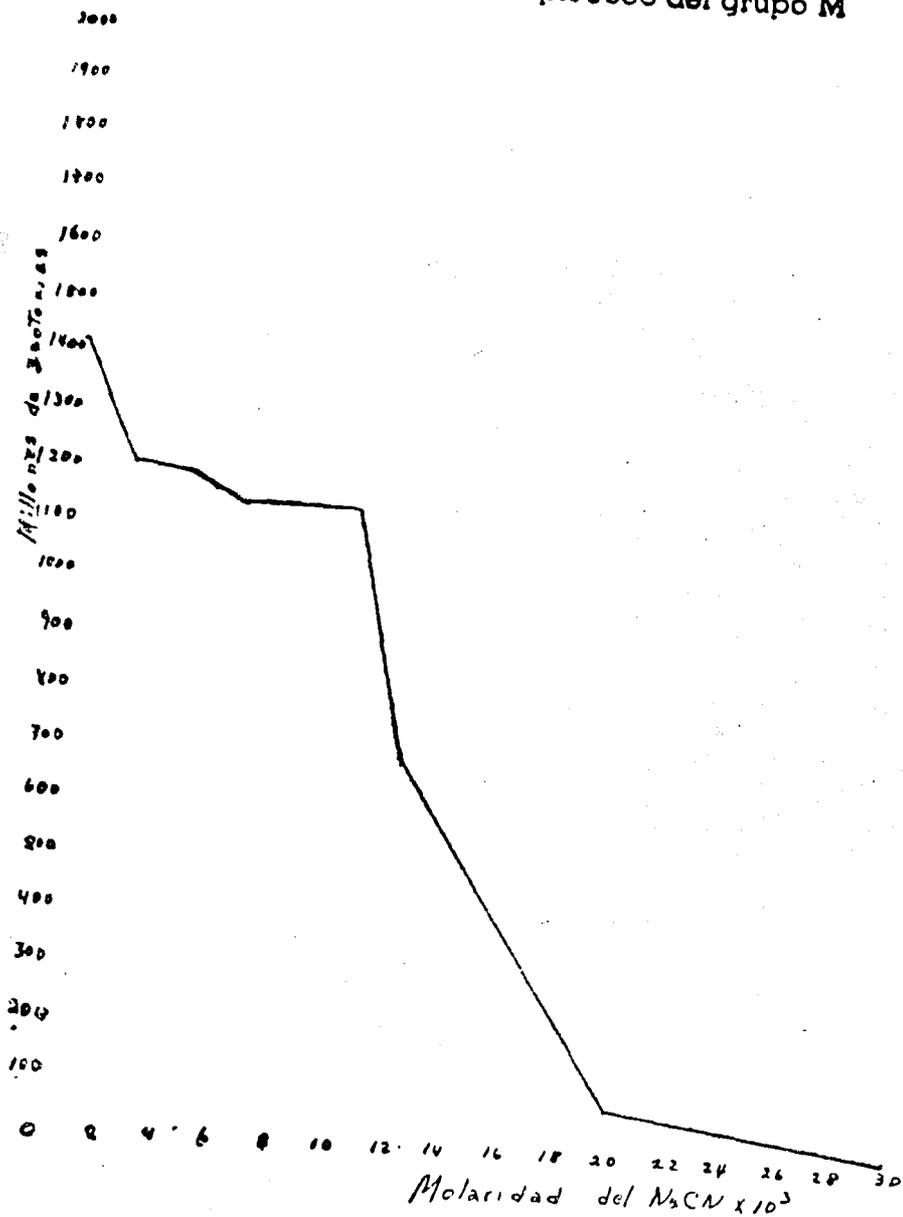
Efecto del NaCN sobre el Estreptococp del grupo C



Efecto del NaCN sobre el Estreptococo del grupo D



Efecto del NaCN sobre Estreptococo del grupo M



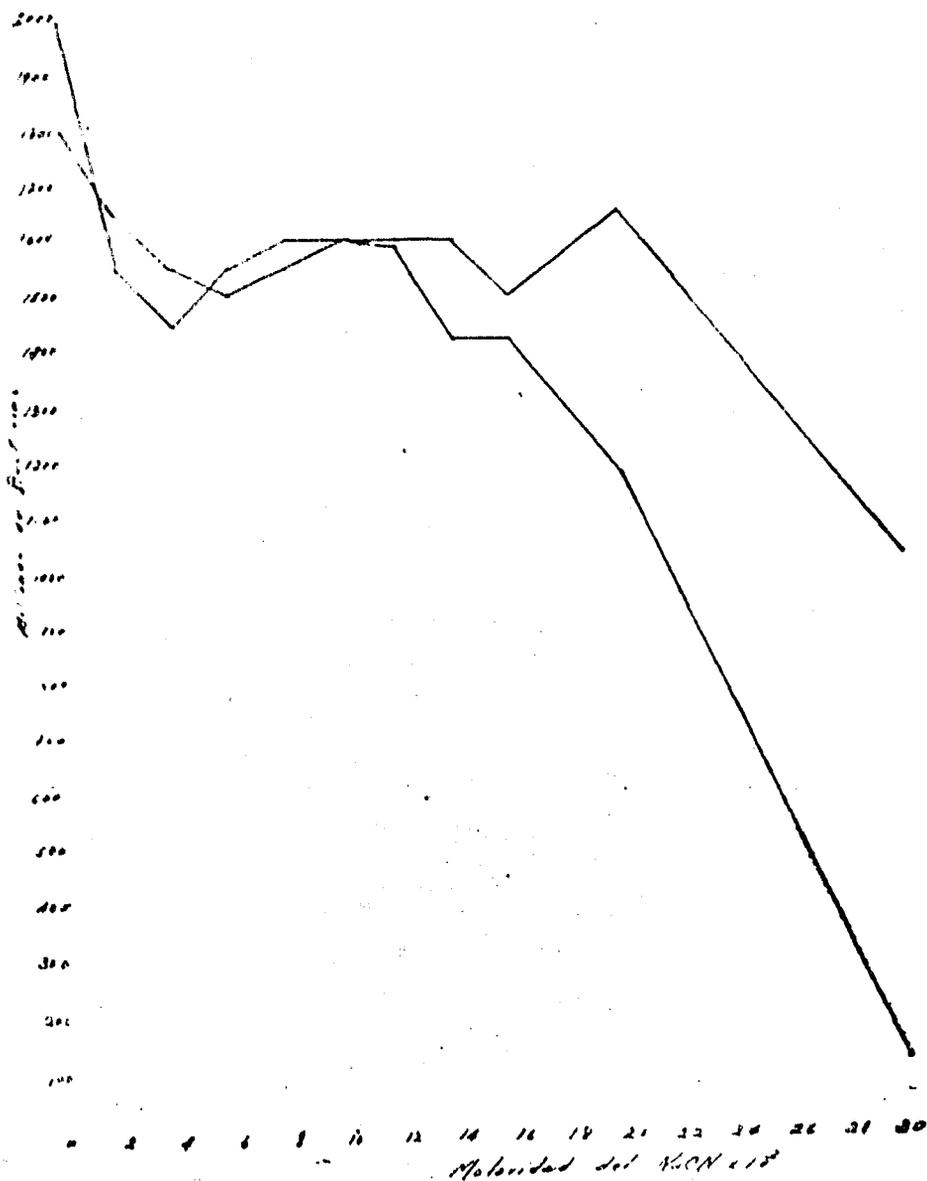
IV.—EFECTO DEL NaCN SOBRE ESTREPTOCOCO VIRIDANS Y PNEUMOCOCO.

El estreptococo viridans usado en el presente trabajo fué aislado de un caso de endocarditis bacteriana y la cepa de pneumococo utilizada se obtuvo de un cultivo de exudado faringeo.

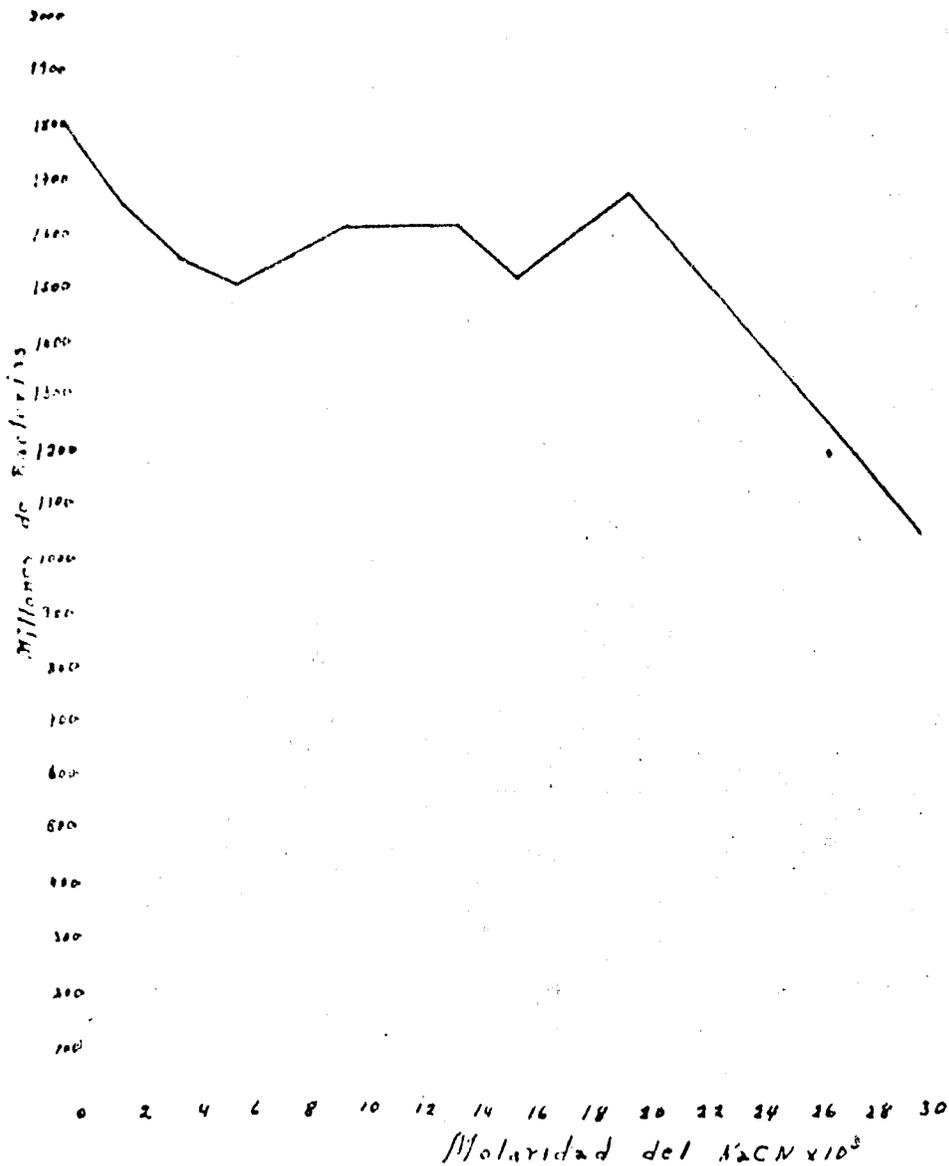
La técnica seguida para estudiar el efecto del NaCN sobre estas bacterias fué la misma que en los casos anteriores. En los frotis coloreados por el método de Gram, se observó que tanto los estreptococos viridans como el pneumococo tienden a formar cápsula cuando se cultivan en presencia de NaCN. El Pneumococo presentaba mayor tamaño que el normal y su forma ligeramente alargada cuando la concentración de NaCN era superior a 0.006 M.

Las gráficas adjuntas No. 7 y 8 muestran el efecto del NaCN sobre el estreptococo viridans y pneumococo respectivamente; la cepa de pneumococo estudiada resultó ser más resistente que la de E. viridans, La gráfica No. 9 representa el comportamiento de las dos bacterias con respecto a la molaridad del NaCN.

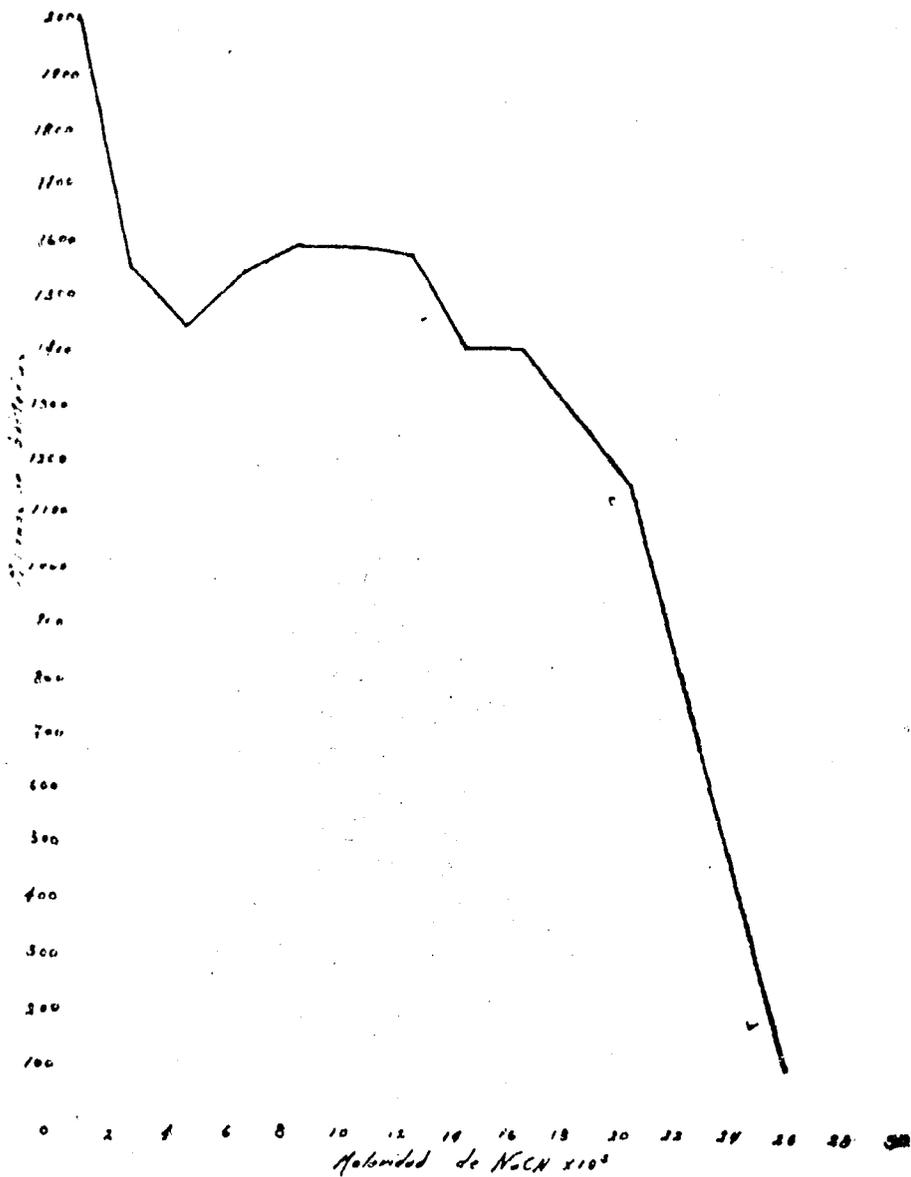
Efecto del NaCN sobre el Estreptococo Viridans y Pneumococo



Efecto del NaCN sobre el Pneumococo



Efecto del NaCN sobre el Estreptococo Viridans



V.—AISLAMIENTO DEL ESTREPTOCOCO Y PNEUMOCOCO DE EXUDADOS FARINGEOS EN MEDIOS CON NaCN.

Existen medios selectivos para numerosas especies bacterianas, pero las bacteriologías conocidas no presentan ninguno para el estreptococo y pneumococo. La flora bacteriana del exudado faringeo es variada y abundante, lo cual hace más difícil la obtención de cultivos puros de las bacterias mencionadas.

Conociendo por los resultados obtenidos, presentados en los capítulos anteriores, que todos los estreptococos estudiados y el pneumococo son resistentes a altas concentraciones de NaCN, se procedió a cultivar exudados de la rinofaringe en un medio sin NaCN y en el mismo medio conteniendo concentraciones variables de esta substancia.

Los medios de cultivo utilizados fueron: caldo glucosado y gelosa sangre.

Para los cultivos en medio líquido la técnica seguida consistió en recoger exudado de la rinofaringe con isopo estéril que se introdujo en un tubo conteniendo 10 cc. de caldo glucosado. De este caldo se tomaron 0.2 cc para cada uno de 12 tubos a los cuales se les añadió cantidades crecientes de NaCN al 5% disuelto en el mismo caldo en la siguiente forma: 0.1 cc al tubo N° 1, 0.2 cc al tubo No. 2, 0.3 cc al tubo No. 3 y así sucesivamente hasta el tubo No. 10 al cuál se le pusieron 1.0 cc y al No. 11, 1.5 cc. El tubo No. 12 que sirvió de testigo no contenía NaCN. Los volúmenes de todos los tubos se completaron a 10 cc con caldo glucosado. Se incubaron 24 horas a 37° C y previa centrifugación, se coloreó con Gram un frotis de cada tubo. Al microscopio se pudo observar, que la mayoría de las bacterias comunes en la rinofaringe, son inhibidas con excepción

del tetrágeno que se encontró en dos casos. Un bacilo esporulado semejante al *B. subtilis* persistió en otro caso.

El estreptococo y pneumococo fueron aislados en medio líquido usando una concentración de 0.01 M. La molaridad del NaCN no afectó el crecimiento de estas bacterias hasta 0.05 M. Concentraciones mayores modifican su forma e inhiben su crecimiento.

Es de importancia hacer notar que estos estreptococos y pneumococos soportaron mayores concentraciones que los de cepas conocidas y almacenadas por años en el Laboratorio previa desecación como las de C-203 y las pertenecientes a los grupos B.C.D y M así como la de estreptococo viridans y pneumococo.

Para los cultivos en medio sólido se emplearon en cada caso dos cajas Petri conteniendo 10 cc. de gelosa simple y 1 cc. de glóbulos rojos de carnero. El exudado faríngeo se recogió por medio de un isopo estéril haciéndose la siembra con dicho isopo; a una de las cajas Petri, se le adicionó 0.6 cc de NaCN al 1% disuelto en caldo glucosado. Sirviendo de testigo la otra caja que no contenía NaCN. Se incubaron 24 horas a 37°C, verificándose la coloración de Gram en el frotis obtenido del cultivo de cada una de las cajas.

En los cuadros adjuntos se anotan los resultados obtenidos. De ellos se deduce que el estreptococo y pneumococo no son inhibidos por el NaCN y por lo tanto pueden ser aislados selectivamente en el medio descrito sin sufrir cambios en su forma o crecimiento.

CULTIVOS DE EXUDADO FARINGEO EN CALDO GLUCOSADO CONTENIENDO DISTINTAS MOLARIDADES DE NaCN.

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Culivo No. I.	Cultivo No. II	Cultivo No. III
0	Neisserias. Bacilos G- Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.	Neisserias. Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.	Neisserias. Estafilococos. Estreptococos. Tetrágeno.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Pneumococos. Estreptococos.	Estreptococos. Tetrágeno.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Tetrágeno.
0.03 M.	Pneumococos. Estreptococos.	Pneumococos. Estreptococos.	Estreptococos. Tetrágeno.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Tetrágeno.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Tetrágeno.
0.06 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Tetrágeno.
0.07 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Tetrágeno.
0.08 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Tetrágeno.
0.09 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Tetrágeno.
0.1 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Tetrágeno.
0.2 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Tetrágeno.

(x) Escasos.

(-) Deformados

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. IV	Cultivo No. V	Cultivo No. VI
0	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻ Estafilococos.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.1 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.15 M.		Estreptococos (x). Pneumococos (x).	

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. VII	Cultivo No. VIII	Cultivo No. IX
0	Neisserias. Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.	Neisserias. Estafilococos. Bacilos G- Bacilos G+ Estreptococos.	Neisserias. Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Bacilos G+	Estreptococos. Pneumococos.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Bacilos G+	Estreptococos. Pneumococos.
0.03 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Estreptococos Pneumococos.	Estreptococos.	Estreptococos (x) (-) Pneumococos.
0.07 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos.	Estreptococos (x) (-) Pneumococos.
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x) (-)	Estreptococos (x) (-) Pneumococos.
0.09 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x) (-)	Estreptococos (x) (-) Pneumococos.
0.1. M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x) (-)	Estreptococos (x) (-) Pneumococos.
0.2 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x) (-)	Estreptococos. Pneumococos.

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. X	Cultivo No. XI	Cultivo No. XII
0	Neisserias. Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Neisserias. Bacilos G-	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.

Molaridades de NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. X	Cultivo No. XI	Cultivo No. XII
0	Neisserias. Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Neisserias. Bacilos G.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.03 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.
0.06 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x). Tetrágeno.
0.07 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x). Tetrágeno.
0.08 M.	Estreptococos (-) (x) Pneumococos (x) (-)	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x). Tetrágeno.
0.09 M.	Estreptococos (-) (x). Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x). Tetrágeno.
0.1. M.	Estreptococos (x) (-) Pneumococos (-) (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x). Tetrágeno.
2 M.	Estreptococos. Pneumococos.		

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. XIII	Cultivo No. XIV	Cultivo No. XV
0	Estreptococos. Pneumococos. Neisserias. Bacilos G-	Estreptococos. Pneumococos. Neisserias.	Estreptococos. Pneumococos.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.03 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.07 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.09 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	
0.1 M.			
0.2 M.			

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. XVI	Cultivo No. XVII	Cultivo No. XVIII
0	Estreptococos. Pneumococos. Estafilococos.	Estreptococos. Pneumococos. Estafilococos.	Estreptococos. Pneumococos. Estafilococos. Neisserias.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.03 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.07 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).		Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.09 M.			Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.1 M.			Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.2 M.			Estreptococos (x). Pneumococos (x).

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. XIX	Cultivo No. XX
0	Estreptococos. Pneumococos. Neisserias. Estafilococos.	Estreptococos. Pneumococos. Estafilococos. Neisserias.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.03 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.07 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.09 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos. Pneumococos.
0.1 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.2 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	

AISLAMIENTO EN GELOSA SANGRE DE EXUDADO FARINGEO.

Cultivo No. I		Cultivo No. II	
Sin NaCN.	Con NaCN.	Sin NaCN.	Con NaCN.
Estreptococos.	Estreptococos.	Estreptococos.	Estreptococos.
Pneumococos.	Pneumococos.	Pneumococos.	Pneumococos.
Bacilos G-		Tetrágeno.	Tetrágeno.
Neisserias.		Neisserias.	
Cultivo No. III		Cultivo No. IV	
Sin NaCN.	Con NaCN.	Sin NaCN.	Con NaCN.
Difteroides.		Estafilococos.	
Neisserias.		Neisserias.	
Bacilos G-		Bacilos G-	
Estreptococos.	Estreptococos.	Difteroides.	
Pneumococos.	Pneumococos.	Estreptococos.	Estreptococos.
Tetrágeno.	Tetrágeno.	Pneumococos.	Pneumococos.

VI.—AISLAMIENTO DE ESTREPTOCOCO Y PNEUMOCOCO DE MATERIAS FECALES EN MEDIOS CONTENIENDO NaCN

El medio de cultivo usado fué caldo glucosado con pH de 8. Se tomó una pequeña porción de heces fecales suspendiéndola en caldo. De la suspensión se añadió 0.2 cc. a cada uno de 7 tubos adicionales además cantidades crecientes desde 0.2 c.c. hasta 1.5 c.c. de NaCN disuelto en el mismo caldo en proporción de 5%. El tubo testigo no llevó NaCN. Los volúmenes de todos los tubos fueron completados con el mismo caldo a 10 c.c. Se incubaron 24 horas a 37 grados C. y previa centrifugación se hicieron frotis de todos los tubos coloreándolos con Gram. Se observó al microscopio que la mayoría de las bacterias comunes en las heces fecales son inhibidas por el NaCN con excepción del tetrágeno que persistió en dos casos y algunos bacilos Gram-positivos.

Como se puede ver en los cuadros adjuntos, el estreptococo y pneumococo fueron aislados puros usando concentraciones desde 0.01 M. La molaridad del NaCN no afectó el crecimiento de estas bacterias hasta 0.05 M.

CULTIVOS DE HECES FECALES EN CALDO GLUCOSADO
CONTENIENDO DISTINTAS MOLARIDADES DE NaCN.

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. I	Cultivo No. II	Cultivo No. III
0	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻ Tetrágeno.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻ Bacilos G ⁺	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁺	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos. Tetrágeno.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁺	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Tetrágeno. Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x) Pneumococos (x).	Pneumococos Estreptococos
0.08 M.	Tetrágeno. Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.1 M.	Tetrágeno. Estreptococos (x). Pneumococos (x).		Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.15 M.			Estreptococos (x). Pneumococos (x).

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. IV	Cultivo No. V	Cultivo No. VI
0	Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.	Estafilococos. Baciles G- Estreptococos. Pneumococos.	Neisserias. Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.
0.01 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.03 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.05 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.07 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.09 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.1 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.2 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. VII	Cultivo No. VIII	Cultivo No. IX
0	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻	Bacilos G ⁻ Estafilococos. Estreptococos. Pneumococos.	Bacilos G ⁻ Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ^{- +}
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ^{- +}
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ^{- +}
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos. Pneumococos.
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos. Pneumococos.
0.1 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	
0.15 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	

Molaridades del NaCN en 10 c.c. de cultivo.	Cultivo No. X	Cultivo No. XI	Cultivo No. XII
0	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁻ Bacilos G ⁺
0.02 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁺
0.04 M.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos.	Estreptococos. Pneumococos. Bacilos G ⁺
0.06 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.08 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.1 M.	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).	Estreptococos (x). Pneumococos (x).
0.15 M.			Pneumococos (x). Estreptococos (x)

VII.—COMENTARIO BIOQUIMICO.

Todos los investigadores están de acuerdo en que los cianuros inhiben la respiración, siendo ésta uno de los fenómenos bioquímicos más complejos. Se tienen pocos datos exactos sobre la forma en que los cianuros actúan sobre la respiración, no obstante los numerosos trabajos desarrollados sobre este tema.

Antes de entrar en terrenos de la Bioquímica, se debe recordar que un cianuro alcalino en solución, se hidroliza en la siguiente forma:

$$\text{CN}^- + \text{H}_2\text{O} \dots\dots\dots \text{OH}^- + \text{HCN}$$

Comportándose como un hidróxido alcalino que contiene HCN (14), por lo tanto al hablar de NaCN en solución, debe entenderse que también hay HCN presente.

Los resultados obtenidos en este trabajo dejan en la mente varias interrogaciones:

1.—¿Por qué pueden desarrollarse los estreptococos y pneumococos en presencia de NaCN?

2.—¿A qué es debido que el NaCN inhibe la respiración de la mayoría de los organismos?

3.—¿Cómo actúa el NaCN en la inhibición de la respiración de tales organismos?

La primera cuestión planteada no es difícil de explicar, puesto que ya se ha señalado que los estreptococos y pneumococos carecen de citocromos, oxidasas, catalasas y peroxidasas, factores que intervienen en la respiración y son afectables por el NaCN. Estos organismos respiran

posiblemente por medio de enzimas del tipo de las flavoproteínas que no pierden su actividad en presencia de cianuros (15).

Pocos organismos se conocen como resistentes al HCN, entre ellos se encuentra el *Paramecium* estudiado por Gerad (16). Castor (17) por su parte, describe una levadura cuya respiración no es afectada por el NaCN y en un trabajo muy interesante verificado por Allen y Goddard (18) sobre la acción de los cianuros en los tejidos vegetales jóvenes y adultos demostraron que la respiración de las hojas maduras del trigo no es inhibida por el NaCN, sucediendo lo contrario con las hojas jóvenes. La respiración de las semillas es parcialmente inhibida por el HCN. Revisando los trabajos sobre otros tejidos vegetales, los mismos autores hacen notar que la respiración de las yemas de plantas superiores es resistente al NaCN, desconociendo con exactitud el desarrollo de tal fenómeno solamente suponen que la respiración en este caso es debida a flavoproteínas.

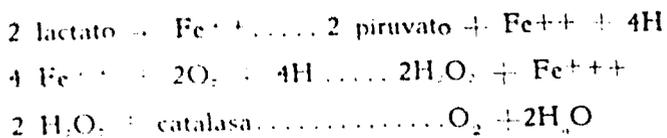
Es importante hacer notar que Guzmán Barrón (16) cita al B. del *bürkii* que no es afectado por el NaCN, explicando el hecho como la sustitución del sistema citocrómico por el aloxazin-dinucleótido.

Los componentes del sistema citocrómico son las proteínas-heme más universales por su distribución. Su intervención en las distintas fases de la respiración ha sido objeto de incontables trabajos, especialmente los de Keilin que son del conocimiento de todos los bioquímicos. Por lo tanto en este comentario sólo se revisarán brevemente tales compuestos desde el punto de vista de su inhibición por los cianuros.

En una revisión sobre citocromos Jeffries Wyman (19) opina que el citocromo A es incapaz de unirse al HCN, que el B puede oxidarse aún en presencia de grandes concentraciones de NaCN y en cuanto al citocromo C asienta que no se combina con el cianuro ni cuando se encuentra en la forma oxidada. Esto no está de acuerdo con las investigaciones de Horecker y Kornenberg (20) por las cuales demostraron que el NaCN se une al citocromo C en proporciones equimoleculares formando un complejo llamado cianuro-ferricitocromo C con una constante de disociación medida a diferentes temperaturas y pH.

Otro compuesto del sistema citocrómico es el A, que se identifica por sus propiedades con el fermento respiratorio de Warburg que contiene Fe, con la Indofenol-oxidasa, y con la citocromo-oxidasa (21). Es

evidente que esta enzima tiene un papel muy importante en la respiración ya que sirve de intermediario entre el oxígeno molecular y otros compuestos oxidables. Según Guzmán Barrón (16) cataliza la reducción del oxígeno molecular. Como ejemplo clásico de la acción de esta enzima presenta la del gonococo:



Es interesante el trabajo de Albaum (22) demostrando la inactivación "in vivo" de la glicolisis del cerebro por la acción del cianuro sobre la citocromo-oxidasa.

Es perfectamente claro que las bacterias con metabolismo aerobio son afectadas por el cianuro en su respiración porque esta se efectúa con la intervención del sistema cíclico, oxidasas, catalasas, peroxidasas, que poseen en su molécula porfirinas de Fe. La acción del cianuro sobre el sistema citocromico ha sido estudiada en varios compuestos (23) pero especialmente su acción ha sido determinada sobre el citocromo C y sobre la citocromo oxidasa. No hay explicación exacta sobre la forma de acción del NaCN sobre esta enzima. Sin embargo se podría suponer que el HCN al combinarse con ella baja su potencial de óxido reducción impidiendo la oxidación de los citocromos que quedarán con potencial relativamente superior. Pero esta explicación queda descartada por la opinión de Guzmán Barrón (16) que hace notar que un sistema de potencial negativo puede oxidar a otro sistema de potencial menos negativo con respecto a él.

Como ejemplo presenta el del sistema piruvato-lactato que es oxidado por el sistema difosfopiridin-nucleótido de potencial más negativo.

Toca a otras investigaciones resolver la forma exacta en que la citocromo oxidasa y otras enzimas y pigmentos respiratorios son afectadas por el cianuro impidiendo así la respiración celular de los organismos que los poseen.

VIII.—SUMARIO Y CONCLUSIONES.

1.—Se estudia el efecto del NaCN sobre estreptococos pertenecientes al grupo "A".

2.—Se demuestra que no son inhibidos por el NaCN.

3.—Se demuestra que la cepa de estreptococo hemolitico C-203 se desarrolla mejor en presencia de NaCN en concentraciones de .008 M a .01 M.

4.—Se estudia el efecto del NaCN sobre estreptococos pertenecientes a otros grupos.

5.—Se demuestra que los estreptococos estudiados no son inhibidos por el NaCN y que los estreptococos del grupo "D" se comportan como los de la cepa C-203 perteneciente al grupo "A".

6.—Se estudia la acción del NaCN sobre el Estreptococo viridans y el Pneumococo.

7.—Se encuentra que no son inhibidos por el NaCN.

8.—Se demuestra que la cepa de estreptococo C-203 cultivada durante 30 días en NaCN no sufrió alteración aparente.

9.—Buscando un medio selectivo para el estreptococo y pneumococo se encuentra que esta substancia añadida en proporciones adecuadas puede ser útil para aislarlos de fuentes contaminadas, debido a que la mayoría de las bacterias son inhibidas por el NaCN.

10.—Se comenta bioquímicamente el comportamiento de los organismos estudiados frente al NaCN.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.—Albaum H. J. Tepperman J. Bodansky O.
"The "in vivo" inactivation by cyanide of brain cytochrome oxidase and its effect on glycolysis and on high energy phosphorus compound in brain. J. of Biol. Chem 164:45, 1946.
- 2.—Clifton C. E.
The Bacteria.
Mc. Graw-Hill Book Co. New York 1950 Pág. 281.
- 3.5.—Smith and Martin.
Metabolism of Bacteria: Respiration.
Zinsser's Text book of Bacteriology.
Appleton-Century-Crofts, New York 1948. Pág. 52.
- 4.6.—Dubos R. J. Pappenheimer A. M.
The Morphology and Physiology of Bacteria.
J. B. Lippincott C. Philadelphia, 1948 Pág. 27.
- 5.7.—Sherman J. M.
The Streptococci.
J. of Bacteriology 1: 3-97, 1937.
- 8.—Frost W. D. Engelbrecht M. A.
The Streptococci.
Willdof Book Co. Wisconsin 1940. Pág. 7.
- 9.—Dubos R. J. and Pappenheimer.
The Morphology and Physiology of Bacteria.
J. B. Lippincott Co. Philadelphia, 1948. Pág. 35.

- 10.—Zinsser's.
Ibid. Pág. 52.
- 11.—Tood E. E. Hewitt L. F.
J. Path. & Bact. 35 1002. 1932.
- 12.—Weiss E.
A modification of the Gram method.
J. Lab. and Clin. Med. 26:1518-1519 1941.
- 13.—Topley and Wilson's.
Principles of Bacteriology and Immunity.
London Arnold & Co. 1947. Pág. 127 Vol. 1.
- 14.—Fearon Robert William.
An introduction Biochemistry (to).
William Heinemnn Medical Books L. T. D. 1948 pág. 216.
- 15.—Haurowitz Félix.
Progress in Biochemistry.
Since 1930-1950 Pág. 275.
- 16.—Barrón Guzmán E. S.
The role of iron-porphyrin compound in Biological oxidation Vol.
VII. 1939 pág. 155.
- 17.—Whelton Rita and Phaff H. J.
A. Nonrespiratory variant of *Saccharomyces cerevisiae*.
Science 105: 44 1947.
- 18.—Merry I. and Goddard D. R.
A. Respiratory study of Barley grain and Seedlings.
Proc. Rochester Acad. Sc. 8:28, 1941.
- 19.—Wyman Jeffries.
Cytochromes.
Advances in protein Chemistry. Vol. IV pág. 426.
- 20.—Horecker B. L. and Kornberg.
The Cytochrome C. Cyanide complex.
Journal of Biological Chemistry. 165: 11-20. 1946.
- 21.—Haurowitz Félix.
Ibid Pág. 277.
- 22.—Albaum H. J. Tepperman J. Bodansky O.

23.—Cohen P.P.

Cyanides.

Respiratory Enzymes, Elvehjem C. A. and Wilson P. W.
Burgess Publishing Co. Minneapolis 1944.