

**L'experiència del Sanatori
de l'Esperit Sant en la bacil·lè-
mia tuberculosa pel mètode
de Löwenstein**

per

J. M. BARJAU

Publicat a "Annals de Medicina"

Agost de 1935

L'EXPERIENCIA DEL SANATORI DE L'ESPERIT SANT EN LA BACIL·LEMIA
TUBERCULOSA PEL METODE DE LÖWENSTEIN



R. 16474

Sessió del 27 de novembre de 1934

L'experiència del Sanatori de l'Esperit Sant en la bacil·lèmia tuberculosa pel mètode de Löwenstein

per JOSEP M. BARJAU

Des del mes de febrer d'enguany he estat treballant, en el laboratori de l'Hospital de l'Esperit Sant, per tal d'estudiar la bacil·lèmia dels nostres malalts hospitalitzats, havent realitzat en el termini d'aquests mesos fins a 100 hemocultius pel mètode de Löwenstein.

La meua intenció era, primerament, comprovar en malalts tuberculosos confirmats, molts d'ells oberts i greus, les afirmacions de l'autor de Viena, i, segonament, mirar de treure alguna conseqüència pràctica d'un gran nombre de bacil·lèmies, en les formes més diverses del procés tuberculós pulmonar, intentant descobrir possibles relacions entre ells, entre els diferents brots, molts d'ells hematògens, i el fet bacil·lèmic.

Per base tècnica he pres, per una banda, la publicació de Löwenstein en el núm. 2 dels *Annals de l'Institut Pasteur*, del febrer del 1933, on l'autor descriu la tècnica amb tot detall, i per altra banda els ensenyaments que gentilmente m'ha volgut fer el nostre company Dr. Domingo —que com és sabut ha viscut la tècnica de l'autor en el propi laboratori de Viena—, el qual, no sols ens ha donat les primeres lliçons, sinó que ha posat a la meua disposició el seu personal subaltern, que m'ha ensenyat els detalls tècnics que es segueixen en el Laboratori Municipal de Barcelona. No puc menys que manifestar el meu agraïment públic al Dr. Domingo per la seva gentilesa.

TÈCNICA

D'entre les moltes tècniques descrites per Löwenstein, he triat, com queda dit, la que està descrita en el treball dels *Annals de l'Institut Pasteur*: "El mètode d'hemocultiu del virus tuberculós i els seus resultats."

No cal, doncs, que m'entretingui en detalls tècnics, i em limitaré a descriure el més sobresortint:

De la solució mare, l'asparagina sembla tenir la màxima importància, ja que és a ella que es deu principalment la bondat del medi de Löwenstein, medi que molts autors tenen pel millor dels medis de cultiu del bacil de Koch. Hem emprat, per indicació del Dr. Domingo, el verd de malaquita, ja que, segons aquest autor, el medi així preparat s'altera menys que el preparat amb roig congo. Al medi he afegit polpa de tomàtec, car Löwenstein creu favorable al creixement del bacil, l'addició de vitamines.

El medi que he obtingut, en res no es diferencia del que he vist al Laboratori Municipal del Parc, i a l'Institut Pasteur de París, preparat pel Dr. Sàenz. Posat quaranta vuit hores a l'estufa, a 37°, ha demostrat mantenir-se perfectament estèril, i no ha sofert la més petita alteració. Ha estat llavors que l'he emprat amb tota confiança.

Per a l'obtenció de les mostres de sang he utilitzat un procediment original que m'ha semblat reunir les màximes garanties d'esterilitat. Aquest procediment l'he pogut posar en pràctica, mercès a la facilitat de tenir els malalts sempre a la meua disposició, en el mateix edifici on està instal·lat el laboratori.

A fi d'evitar manipulacions amb la sang, l'he recollida directament en els tubs de centrífuga, on havia de tenir lloc el tractament previ d'aquella, abans de procedir a la sembra. A aquest efecte m'he construït jo mateix una flèbula amb els tubs de centrífuga en la següent forma: El tub on s'hi han posat prèviament tres c. c. de solució al 10 per 100 de citrat de sosa, ha estat tapat hermèticament amb un tap de cautxú fort, cobrint tota l'extremitat del tub així tapat amb un caputxó, així mateix de goma. Aquest tap ha estat travessat per una agulla unida, per un tub de goma, a una peça record amb aixeta, i, aquesta, al seu torn, amb una agulla de punció venosa. Es fa el buit en aquests tubs de centrífuga així preparats —prèviament esterilitzats—, i tenim la flèbula a punt de funcionar.

En el moment de l'extracció de la sang, basta fer una punció de la vena, amb les precaucions normals, amb l'agulla lliure de la

flèbula, obrir l'aixeta del record, i hom veurà com la indicada flèbula aspira fortament la sang de la vena escollida. La quantitat de sang recollida ha oscil·lat entre els 10, els 15 i els 20 c. c., quantitat perfectament suficient per a complir els requisits exigits per Löwenstein.

Tenim, doncs, ja la sang en el tub de centrífuga, on hi ha anat directament de la vena, i podem procedir a les manipulacions prèvies a la sembra.

No m'entretinc a descriure aquestes manipulacions prèvies, que es troben detallades en l'article tantes vegades citat de l'autor del mètode. Centrifugació a fi d'obtenir el sediment, rentat d'aquest, hemòlisi amb àcid sulfúric al 15 per cent, rentat diverses vegades per deslliurar el sediment de totes les traces d'àcid sulfúric, i, quan l'hemòlisi és completa i el sediment és prou net, es procedeix a la sembra dels tubs. Com a terme mig he sembrat dos tubs amb cada mostra de sang. Es lacren els tubs i es porten a l'estufa.

MATERIAL ESCOLLIT

Llevat d'una bacil·lèmia que he fet de la sang d'un cadàver d'una noia tot just morta de tuberculosi pulmonar, tota la resta de bacil·lèmies ha estat feta en malalts tuberculosos confirmats de pulmó.

Les formes clíniques del procés, i l'estat dels malalts objecte de l'estudi, han estat les més diverses.

M'he fixat en tres dades principals, l'estat de progressió de la malaltia, dividint els malalts segons estiguessin més o menys avançats. La divisió és, com es pot veure, força arbitrària, però l'he creguda pràctica per al meu cas concret. Segonament he tingut en compte la temperatura del pacient en el moment de la presa de sang. I per fi, m'he fixat en l'existència o no de bacil de Koch en els esputs.

He fet, com queda dit, exactament 100 bacil·lèmies, una de sang de cadàver i 99 de malalts. El quadre adjunt mostra els detalls dels malalts estudiats:

Apirètics	65
Febrils	34
	99
Amb bacil de Koch als esputs	68
Sense bacil de Koch als esputs	29
No expectoraven	2
	99

Malalts de començ	39
Malalts avançats	29
Malalts molt avançats	23
Malalts <i>in extremis</i>	8
	99

Com es pot veure, el nombre de malalts greus, febrils i amb bacil als esputs és molt considerable i àdhuc predominant.

RESULTATS

He dividit les bacil·lèmies fetes, en dues sèries. En la primera sèrie he fet 41 bacil·lèmies; en la segona n'he fetes 58.

La diferència entre l'una i l'altra sèrie ha estat tan sols un detall tècnic, que he constatat que és de molta importància. En la primera sèrie he emprat tot el material de vidre netejat amb aigua corrent i esterilitzat convenientment, i l'aigua destil·lada utilitzada ha estat la que es troba en el comerç, prèviament esterilitzada, com es suposa.

En la segona sèrie tot el material de vidre ha estat netejat i mantingut durant un mínim de vint-i-quatre hores en solució d'àcid sulfúric; abans del seu ús ha estat esbandit amb aigua bidestil·lada i esterilitzat. I —detall importantíssim—, l'aigua emprada ha estat bidestil·lada, i la segona destil·lació ha estat practicada amb l'aparell de vidre Femel, en el nostre mateix laboratori.

Les colònies obtingudes les dividiré en macro i en microcolònies. Aquestes darreres són les que solament es poden posar en evidència per rascat dels tubs de cultiu, i examen microscòpic, prèvia coloració pel Ziehl-Neelsen.

Modernament, els autors neguen tot valor a aquestes microcolònies, que sols accepten com a positives quan, ressemblades, donen ressembres de colònies visibles a simple vista, de bacils que, indiscutiblement, es puguin identificar com a bacils de Koch. Bocquet, Kolle, Küster, Ockell, Olbrich, Sàenz, Schwabacher i Wilson, entre altres, creuen que no cal donar valor a les colònies microscòpiques no ressemblables.

Els tubs han estat guardats a l'estufa un mínim de tres mesos, en el decurs dels quals han estat rascats de quatre a cinc vegades, en busca de les microcolònies.

Primera sèrie:

En tres casos, en alguna de les preparacions fetes, s'ha trobat

una que altra formació bacillar, acidoalcoholresistent. Més concretament: en dos casos he trobat un sol bacil semblant morfològicament i tintorialment al bacil de Koch. En un altre cas n'he trobat tres en tota la preparació. Cap d'aquestes, mal anomenades microcolònies, no ha pogut ésser ressemblada. He dit mal anomenades microcolònies, ja que mal es pot parlar de colònia quan el nombre de bacils és tan exigu (un en dos casos, tres en l'altre).

Crec, per tant, que aquests resultats s'han de donar com a negatius.

En un altre cas he obtingut una colònia macroscòpicament visible. És tractava d'una colònia grossa com un cap d'agulla, groga. A l'examen microscòpic ha demostrat estar formada per bacils acidoresistents, en abundància suficient per poder parlar de colònia. La ressembla i la inoculació han estat negatives.

Altrament, l'aspecte macroscòpic de la colònia no corresponia en cap manera a l'aspecte que ens presenten les colònies de bacil de Koch; tenia tot el tipus de les colònies anomenades cromogèniques, de bacils acidoresistents saprofítics, dels quals parlaré més endavant.

Precisament, aquest fet de trobar un cas de creixement visible d'un acidoresistent, amb seguretat saprofític, i provenint, amb tota probabilitat de l'aigua destil·lada del comerç, m'ha decidit a fer la segona sèrie, prenent moltes més precaucions, tal com queda apuntat.

Cap dels tubs de la primera sèrie no s'ha infectat.

Segona sèrie:

He fet, en la segona sèrie 58 bacil·lèmies, que representen 116 tubs sembrats. D'aquests se n'han infectat quatre.

En cap dels tubs sembrats no he pogut veure colònies de bacils acidoresistents ni macroscòpicament ni microscòpicament.

BACILS ACIDORESISTENTS SAPROFÍTICS TROBATS AL LABORATORI

Els resultats de la primera sèrie de bacil·lèmies, i la lectura del llibre de Wilson i col·laboradors: *Tuberculous Bacillaemia*, m'ha induït a comprovar l'afirmació d'aquests autors, de la freqüència amb què es troben bacils acidoresistents saprofítics en les aixetes, en les aigües del laboratori, i en l'aigua destil·lada que prové dels aparells metàl·lics de destil·lació.

He fet el rascat de gran nombre d'aixetes, així del Sanatori, com del meu domicili particular i d'altres cases, i en la gairebé totalitat

de les aixetes, particularment les d'aigua freda, he trobat un bacil acidoresistent, el qual he pogut cultivar en estat de puresa, que dona colònies grogues, cromogèniques, en un tot semblants a la macrocolònia que vaig trobar en la primera sèrie de les meves bacillèmies.

Aquests bacils han crescut molt bé en els medis habituals del bacil de Koch: medi de Löwenstein, medi de Petagnani, i patata glicerina-da. No han crescut en agar T.

Tant les colònies com els bacils que les integren, són enterament semblants a les que estan descrites en el llibre de Wilson, al qual m'he referit suara.

He fet la inoculació massiva —de dos centígrams— de cultiu pur, en tres conills porquins, i mai no he obtingut, no ja llur tubercultització, ni tan sols lesions ganglionars en el gangli regional del punt inoculat.

Com a testimonis, he inoculat tres conills, amb dos mil·lígrams de cultiu pur de bacil de Koch (raça Pla), i he obtingut la tubercultització dels conills en tots els casos, comprovada almenys per l'infart caseós del gangli regional i de la cadena limfàtica preaòrtica, amb bacils acidoresistents, comprovats microscòpicament.

CONCLUSIONS

Les conclusions que trec de la meua experiència en el Sanatori són ben senzilles:

1.^a En cap de les cent mostres de sang cultivades pel mètode de Löwenstein no he pogut trobar bacils que es poguessin identificar amb el bacil de Koch.

2.^a L'única macrocolònia obtinguda, i les tres mal anomenades microcolònies, corresponen indubtablement a bacils acidoresistents saprofítics, provinents, amb tota seguretat, de l'aigua destil·lada del comerç, o de l'aigua de rentat dels tubs, i del material de vidre emprat en les manipulacions.

3.^a A fi d'evitar aquesta causa d'error, cal que, així en fer el medi de cultiu, com en el curs de les manipulacions dels hemocultius, s'empri aigua destil·lada en aparells de vidre, i que tot el material de vidre utilitzat sigui prèviament tractat en forma que quedin amb seguretat destruïts tots els gèrmens acidoresistents saprofítics que puguin falsejar els resultats.

Discussió:

ARGEMÍ. — El Dr. Barjau, ve a acabar en la conclusió que el mètode de Löwenstein no és res. Tot i reconèixer l'habilitat tècnica del Dr. Barjau, i trobar encertades les seves mesures per a protegir-se dels errors possibles, crec que no s'ha d'ésser tan simplista. És possible que els resultats no siguin el que afirma Löwenstein, però tampoc el que nega Kolle. Cal no desconfiar encara. En el Servei de l'Hospital Clínic, hem pogut observar casos positius, confirmats independentment pel propi Löwenstein, l'Institut Pasteur de París, i el Dr. Domingo, del Laboratori Municipal de Barcelona.

Rèplica:

BARJAU. — Agraeixo al Dr. Argemí la seva intervenció, però, qui no s'havia d'entusiasmar al començament? Si hagués sabut que els resultats havien d'ésser tan negatius, no hauria emprès la comprovació. Löwenstein ha afirmat coses d'una gosadia extraordinària i ha sentat doctrines que revolucionen diversos capítols de la Patologia. No sé el que s'obtindrà més endavant, però 100 resultats tots negatius, francament no estimulen a continuar treballant. Kolle, Wilson, l'Institut Pasteur de París, han deixat de banda l'estudi de la bacil·lèmia tuberculosa. Hi ha forces causes d'error. (El Dr. Sàenz ha trobat també aquestes colònies cromogèniques.) No essent positiva la inoculació dels cultius en el conill, no es pot dir que es tracti de bacil de Koch. Per a establir noves doctrines, cal valer-se d'una tècnica impecable, totes les precaucions són poques.

RESUMEN

El autor ha practicado la siembra por el método de Löwenstein de la sangre de 100 enfermos tuberculosos comprobados.

En ninguno de los cultivos pudo ser identificado ningún bacilo de Koch propiamente dicho y sólomente microcolonias de bacilos acidorresistentes saprofiticos procedentes con toda seguridad del agua destilada del comercio o del lavado de los tubos y material de vidrio empleado en las manipulaciones, puesto que ninguno de estos bacilos tuberculizó a los cobayos inoculados con su emulsión.

RIASSUNTO

L'A. ha praticato la semina con il metodo di Löwenstein del sangue di 100 tubercolosi accertati.

In nessuno dei terreni poté essere identificato il B. di Koch propiamente detto, ma solo microcolonie di bacilli acidoresistenti saprofitici, procedenti con tutta sicurezza dell'acqua distillata del commercio o dal lavaggio dei tubi e materiale di vetro impiegato nelle manipolazioni, dato che nessuno di questi bacilli tuberculizzò le cavie inoculate con la loro emulsione.

RESUME

L'Auteur, suivant le methode de Löwenstein, a semé du sang de 100 malades tuberculeux contrôlés.

Dans aucune des cultures on a pu identifier le bacille de Koch proprement dit, mais seulement des microcolonies de bacilles acido-résistants saprophytiques provenant, sans aucun doute, de l'eau distillé du commerce ou du lavage des tubes et matériel en verre utilisé pendant les manipulations, vu qu'aucun de ces bacilles a tuberculisé les cobayes inoculés avec son émulsion.

SUMMARY

The Author executed, by of the Löwenstein's methode, the sembrig of the blood of 100 controled tuberculous.

In none of the cultivations it was possible to identify the proper bacillus of Koch, but only microcolonies of acido-resistant saprophytic bacilli, proceeding, certainly, from the distilated water of the commerce or from the washing out of the tubes or other glass material employed during the manipulatinos, because none of the bacilli tuberculised in the cobayes inoculated with his emulsion.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verfasser hat die Aussaat nach der Löwenstein'schen Methode mit dem Blut von 100 erwiesenermassen tuberkulösen Kranken vorgenommen.

In keiner der Kulturen konnte ein wirklicher Kochbazillus nachgewiesen werden und Mikrokolonien nur von säurefesten saprophytischen Bazillen, die mit aller Sicherheit aus im Handel befindlichen destilierten Wasser stammten, oder aus dem Abwaschwasser der Röhren und des Glasmaterials, das benutzt wurde, dakeiner dieser Bazillen bei den Meerschweinchen, die man mit der Emulsion impfte, eine Tuberkulose hervorrief.

RF-14-82

GRAFICAS ROMESTRE S. L.
San Antonio Abad, 54. Barcelona