

Instituto Municipal de Clínica Urológica
Hospital Durand - Buenos Aires
Director: Prof. Dr. Luis Figueroa Alcorta

Por los Doctores

LUIS FIGUEROA ALCORTA,
BALDOMERO E. CASTELLS
y FERNANDO A. CLARA

MICROSCOPIA FLUORESCENTE O LUMINES- CENTE EN LA INVESTIGACION DIRECTA DEL BACILO DE KOCH EN LA ORINA

I. — OBJETO DE LA COMUNICACION

LA presente comunicación tiene por objeto dar a conocer el resultado obtenido en el Instituto Municipal de Clínica Urológica, de las primeras 89 investigaciones del bacilo de Koch en la orina, mediante el procedimiento de la microscopia fluorescente o luminiscente.

El ensayo de este método, se originó en el afán de encontrar un procedimiento más rápido y seguro, que los usados hasta el momento actual en nuestro laboratorio, (métodos de enriquecimiento diverso en la preparación de los frotis, coloreados por las técnicas de Ziehl Neelsen, Gabbet, Konrich, Dahms, Fontes, etc.), que permitiera mayor nitidez y rapidez en la pesquisa, del bacilo, eliminando al mismo tiempo las causas de error tan comunes, derivadas del empleo de porta-objetos usados, en los cuales aparecen imágenes bacilares por la impregnación de sus grietas por la fucsina.

II. — ¿QUE ES LA MICROSCOPIA FLUORESCENTE O LUMINISCENTE?

En contra de lo que sucede con la microscopia normal, que emplea la luz visible para la iluminación del preparado microscó-

pico, la microscopia fluorescente trabaja solamente con la luz ultravioleta. Esta radiación invisible para el ojo humano, produce fluorescencia visible en la preparación que se observa con un microscopio común, cuando el preparado se tiñe con fluoruros de Cromo.

La luz ultravioleta se produce mediante la filtración de la luz emanada de una lámpara de cuarzo-azogue o carbón y no sirve para la reproducción, como ocurre en la microfotografía ultravioleta neta, sino solamente para la excitación de la luz visible en la preparación. Convierte por este motivo a la preparación, en substancia autoluminosa, sirviendo la luz producida por ella, para la reproducción de su imagen.

No hay que confundir microscopia fluorescente y campo obscuro. En este último sólo son visibles las partículas del preparado que provocan refracción de la luz, porque difieren del medio que las circunda, en sus diferentes constantes ópticas. Las partículas ópticas sin teñir, del mismo índice refractivo y de la misma permeabilidad que las del líquido circundante, quedan invisibles en el campo obscuro, pudiendo percibirse microscópicamente, solo, en el caso de poseer capacidad de emitir fluorescencia, y para el caso es sin importancia que el condensador sea de campo claro u obscuro.

El método que nos ocupa, debe su aplicación práctica en la clínica, gracias por una parte a las investigaciones de Paul Hageman, que consiguió observar con él, bacterias, protozoarios y corpúsculos de virus y también a Strugger, por sus fundamentales trabajos en el dominio de la fisiología de la célula vegetal.

Como dijimos anteriormente, para que las partículas adquieran la propiedad de emitir fluorescencia, es necesario colorear previamente la frotis, con fluoruros de Cromo, habiendo usado nosotros para ese fin, el compuesto llamado Auramina, en solución al 1/00.

III. — PROCEDIMIENTO EMPLEADO

a) *Reactivos:*

- 1) Solución acuosa de Auramina al 1/00
- 2) Alcohol clorhídrico (alcohol 70° con 5 % de ácido clorhídrico).
- 3) Solución acuosa de permanganato de potasio al 4/00.

b) *Técnica de la coloración:*

- 1) Frotis de escaso espesor del sedimento urinario, fijados al calor.
- 2) Colorear con la solución de Auramina, 5 minutos en caliente, como en el Ziehl-N.
- 3) Lavar con agua.
- 4) Decolorar con el alcohol clorhídrico, hasta desaparición de toda traza de color amarillo.
- 5) Lavar con agua.
- 6) Tratar con solución de permanganato 5 segundos.
- 7) Lavar con agua.
- 8) Secar.

c) *Fuente luminosa:*

Una lámpara ultravioleta del modelo más simple Zeiss, que viene equipada con dos filtros para radiación ultravioleta, de 1,5 y 3,5 mm. de espesor y un espejo plano que proyecta la luz hacia el condensador, todo de cuarzo. La lámpara posee una cámara de cristal especial, que no retiene la radiación U. V. con solución de sulfato de cobre al 4 %, que absorbe todo el rojo e infrarrojo y al mismo tiempo evita el calentamiento considerable de los filtros y de la preparación. En nuestra práctica hemos usado siempre el filtro de 1,5 mm. por permitir mayor luminosidad.

d) *El microscopio:*

Cualquier estatívo de tipo normal, con aparato de iluminación de Abbe, desplazable en altura, con objetivos y oculares de tipo normal, aunque no todos los objetivos se prestan con igual ventaja, debido a que el espato fluor empleado en los sistemas de fluorita y en los apocromáticos provoca fluorescencia, con lo que la imagen microscópica de la preparación resulta perjudicada. Sin embargo este inconveniente se puede subsanar mediante el empleo de un cubre-objetos de vidrio Euphos.

Con el fin de que la radiación U. V. no penetre en el ojo, se puede usar el porta objetos de vidrio Euphos, sobre el preparado u otro "ad hoc", sobre el ocular.

El aceite de inmersión debe estar exento de fluorescencia, de lo contrario la preparación queda totalmente invisible.

Para obtener mayor luminosidad debe usarse siempre el microscopio monocular, realizándose la observación con objetivo seco del mayor aumento u objetivo de inmersión.

IV. — OBSERVACION

Comenzamos el examen de la preparación con el objetivo seco y ampliamos los detalles con inmersión.

Los bacilos ácido resistentes tienen coloración amarillo canario, y son fluorescentes, destacándose nítidamente sobre el fondo violeta. En algunos, puede notarse la granulación intra-protoplasmáticas de substancia nucléica (Much, Fontes) y también como un velo muy tenue que las recubre, una membrana, que interpretamos como la membrana propia del bacilo constituida por substancias cerosas y grasosas.

Cuando la coloración con Auramina se ha retardado mucho más de los 5 minutos estipulados, suelen impregnarse también otros gérmenes distintos de los ácido resistentes, pero ellos son fácilmente diferenciados, por la carencia de fluorescencia, su coloración verdosa pálida y su morfología.

Los bacilos ácido resistentes se presentan con gran luminosidad, cuando aparecen agrupados o envueltos en acúmulos de substancias mucosas.

En los preparados en donde son abundantes los bacilos Koch, hemos encontrado abundante cantidad de puntos muy luminosos, del tamaño de las granulaciones de Much, que consideramos a la luz de los trabajos de Fontes sobre reproducción de los gérmenes, como brotes de substancia nucléica escapada del cuerpo del bacilo en vías de reproducción, que después de pasar por las etapas de imbibición, solvatación y floculación, darían origen al nuevo germen. De manera que la presencia de tales cuerpos luminosos, puede considerarse como signo de presunción de tuberculosis y obligará a agotar los recursos de investigación para afirmar o descartar definitivamente una tuberculosis renal.

En los preparados, las células se ven de color verde obscuro, lo mismo que los leucocitos.

No.	Registro general	Diagnóstico clínico	Ziehl Neelsen	Minutos	Auramina	Minutos	Observaciones
26	2577	Epid. Tbc D.	negativa	16	negativa	9	Vejiga
27	2672	Aden. prost.	negativa	15	negativa	10	
28	1700	Hemat. Tbc	positiva	15	positiva	4	
29	2607	Tbc R. doble	positiva	15	positiva	10	
30	2874	Cistitis cr.	negativa	12	negativa	4	Riñón der.
31	2874	Cistitis cr.	negativa	16	negativa	10	Vejiga
32	2866	Cistitis cr.	negativa	12	negativa	15	
33	2739	Tbc R. I.	negativa	18	negativa	4	
34	2542	Epid. gono.	negativa	10	negativa	6	
35	2905	Tbc R.	negativa	16	negativa	8	
36	2797	Aden. prost.	negativa	12	negativa	8	
37	2924	Lit. uret. D.	negativa	22	negativa	6	
38	2936	Neo R. D y vej.	negativa	9	negativa	4	
39	2923	Tbc. R. D.	negativa	10	negativa	6	
40	984	Epid. aguda	negativa	12	negativa	8	
41	2542	Cistitis	negativa	8	negativa	10	
42	2517	Lit. R. D.	negativa	20	positiva	12	
43	2697	Hipernefr. D.	negativa	5	negativa	6	
44	2985	Litiasis R.	negativa	10	negativa	8	
45	2922	Hipert. prost.	negativa	15	negativa	6	
46	2982	Hematuria	negativa	8	negativa	10	
47	2808	Pionf. Ptos.	negativa	10	negativa	15	
48	2947	Aden. prost.	negativa	8	negativa	6	
49	2919	Tbc R. I.	positiva	19	negativa	9	Hematuria
50	2874	Tbc R. doble	positiva	3	positiva	6	R. D. 2° catet
51	2874	Tbc R. doble	positiva	30	positiva	2	R. I. idem
52	2765	Cistitis	negativa	15	negativa	10	
53	2979	Divert. vesic.	negativa	13	negativa	8	
54	3030	Cistitis	negativa	15	negativa	10	Mal de Pott
55	3007	Uronefrosis	negativa	7	negativa	6	
56	2679	Cistitis	negativa	8	negativa	5	
57	3042	Litiasis R.	negativa	12	negativa	10	
58	1700	Tbc R.	negativa	18	positiva	15	Ab. punt. fluor.
59	2957	Ptos. R. dob.	negativa	11	negativa	18	
60	3029	Hidron. dob.	negativa	14	positiva	16	Ab. punt. fluor.
61	3059	Cistitis	negativa	10	positiva	3	
62	3028	Tbc R. D.	negativa	8	positiva	30	
63	2878	Tbc I. Cist.	negativa	15	positiva	10	
64	2158	Tbc R. D.	negativa	12	positiva	5	
65	3100	Tbc R.	negativa	15	positiva	4	

No.	Registro general	Diagnóstico clínico	Ziehl Neelsen	Minutos	Auramina	Minutos	Observaciones
66	3028	Tbc R.	negativa	18	positiva	30	R. der. cateter.
67	2979	Cistitis	negativa	12	negativa	15	
68	1944	Lit. izq. piof.	negativa	10	negativa	16	
69	3019	Pionefrosis	negativa	9	negativa	10	
70	3085	Tbc. R.	positiva	5	negativa	6	
71	969	Estrechez	negativa	9	negativa	7	
72	3161	Tbc. R. dob.	negativa	15	positiva	3	Vejiga
73	3161	Tbc. R. dob.	positiva	3	positiva	1	Riñón izq.
74	3174	Cistitis cr.	negativa	10	negativa	10	
75	3162	Tbc R.	negativa	15	positiva	3	
76	3174	Cistitis	negativa	12	negativa	6	
77	2919	Neo vejiga	negativa	15	negativa	8	
79	3208	Neo testicul.	negativa	12	negativa	10	
80	3085	Tbc R. D.	positiva	14	positiva	8	Riñón der.
81	2316	Tbc R.	positiva	10	positiva	½	
82	2637	Cistitis	negativa	15	negativa	10	
83	3044	Pionefr. lit.	negativa	9	negativa	5	
84	3270	Cistitis Tbc	negativa	10	negativa	8	
85	3349	Tbc. R. I.	positiva	20	positiva	0	
86	2637	Cistitis	negativa	10	negativa	5	Divert. vesical
87	1190	Cistitis	negativa	20	negativa	9	
88	2878	Cistitis Tbc	negativa	13	negativa	7	
89	1942	Epid. aguda	negativa	8	negativa	12	

Resumiendo: 22 casos positivos, a los cuales corresponde un 95,45 % de positividad para la fluoroscopia y un 45,45 %, para el Ziehl-Neelsen, con un término medio de 4 minutos 27" para la primera coloración y 18 minutos 8", para la segunda.

VII. — VENTAJAS DEL METODO

1º) Facilidad para descubrir bacilos alcohol ácido resistentes, por tratarse del único germen fluorescente.

2º) Rapidez para recorrer el campo de observación, por el doble aumento obtenido debido al uso del objetivo seco.

3º) Evita el cansancio de la vista por la falta de claridad del

campo propia de la observación común, ya que en el presente procedimiento del fondo es de color violeta muy oscuro.

Más adelante daremos a conocer nuestra futura experiencia sobre el particular.

NOTA: Agradecemos a la casa Carl Zeiss toda la colaboración prestada en la realización de nuestra tarea.
