

LA CAPACIDAD DE LAS BACTERIAS PARA PRODUCIR CRISTALES SU POSIBLE REPERCUSION EN CLINICA *

Prof. E. BOQUET JIMENEZ

(de Barcelona)

Si llego a abusar, queridos consocios, de lo grato que resulta presentar a invitados, excúsenme sinceramente. Porque, fortuitamente, el celo o la diligencia ligados a una función secretarial nada adjetiva, decide u obliga a mostrarse un tanto ubicuo.

Y como la resolución de brindar el uso de nuestra tribuna de siglos a los jóvenes y a las jóvenes universitarios constituye un deseo y una necesidad táctica, suelo excederme en el cumplimiento de un deber.

Los senectos nos hallamos a gusto aquí —más de una vez lo he afirmado— pero sin restringir el usufructo científico de los tradicionales sillones y del atril a los Miembros de la Corporación, en especial los jubilados de la Administración.

Hoy nos visita —requerido por mí— un profesor, catedrático interino, de la Facultad de Farmacia, agregado al Departamento de Microbiología, muy unido de tiempo éste a nosotros. El doctor Boquet lo regenta actualmente con pleno acierto.

Se dedica, por sus investigaciones, a cuestiones bromatológicas y sanitarias relacionadas con la Medicina. En el lenguaje estatuario que empleamos ocasionalmente es un «afín» de los sanitarios médicos.

Ha viajado para ampliar conocimientos y a efectos culturales lo que le han permitido sus 31 años de vida. Y en los Centros de Inglaterra, justamente, se le distingue.

Ha publicado trabajos de investigación, en su especialidad docente y de actividades, muy bien calificados.

En Manresa ha realizado una labor, de trascendencia sanitaria, en su buen Hospital, que domina una extensa zona, la del epicentro catalán en uno de sus aspectos.

Va a disertar sobre una posible etiopatogenia de la litiasis urinaria y sobre el agobiante hospitalismo infeccioso. A mi juicio, con rigor y eventual significación clínica.

Y nada más por ahora. Esperemos la discusión. Por lo que de autorizarlo el Presidente, use ya el profesor Boquet Jiménez de la palabra.

B. RODRIGUEZ ARIAS

Gastrosorb®

Antiácido-gastroprotector

actúa de forma **directa y rápida** para desarrollar su poder de protección.

Composición

Por comprimido masticable:

Beta-glicirretato de aluminio 50 mg.
Hidróxido de aluminio, gel seco 175 mg.
Trisilicato magnésico 350 mg.

Indicaciones

Hiperclorhidria, gastralgias y pirosis.
Gastritis; úlceras gástricas, úlceras duodenales;
gastritis y úlceras de etiología yatrogénica.

Dosis

1 a 2 comprimidos, a tomar masticados en el intervalo entre las principales comidas (hora y media después de cada comida), según la gravedad de la dolencia o la magnitud de los síntomas.

Contraindicaciones

No se conocen.

Incompatibilidades

No se conocen.

Presentación

Envases de 40 comprimidos y envases de 15 comprimidos masticables.

P.V.P.

Envase de 40 comprimidos: 269'80 Ptas.
Envase de 15 comprimidos: 121'-- Ptas.

INFAR  NATTERMANN

Apartado 400 - Zaragoza

Infanta Carlota, 84-88 Barcelona-15

Las siembras se realizaron mediante espátula de Digrafsky a partir de diluciones del suelo. El medio que mejores resultados nos dio fue el B-4, en el cual pudimos aislar 215 cepas de microorganismos productores de cristales. En el «screening» clasificatorio de dichas cepas, se comprobó que pertenecían a un amplio grupo, compuesto por 22 especies distintas.

AZOTOBACTER CHROOCOCCUM
 ARTHROBACTER GLOBIFORMIS
 BACILLUS CEREUS
 BACILLUS FIRMUS
 BACILLUS GLOBIGII
 BACILLUS LENTUS
 BACILLUS PUMILLUS
 BACILLUS MEGATERIUM
 BACILLUS SUBTILIS
 LACTOBACILLUS BULGARICUS
 CITROBACTER sp.
 ENTEROBACTER AEROGENES
 ENTEROBACTER CLOACAE
 ESCHERICHIA COLI

En el medio B-4 todos los gérmenes citados poseían la capacidad de producir cristales, los cuales, fueron identificados en un principio mediante procedimientos físico-químicos: solubilidad, desprendimiento de dióxido de carbono con ácido clorhídrico diluido, espectrofotometría de I.R., y por procedimientos geológicos (reacción de Meingen) y microscopio petrográfico, resultando ser de carbonato de calcio. Se corroboró esta opinión por difracción

Al observar esta capacidad común, que poseía un grupo tan heterogéneo de bacterias, empezamos a preguntarnos si el fenómeno no sería más general de lo que creíamos; entonces inoculamos por el método de siembra masiva los siguientes microorganismos de la colección de nuestro laboratorio de la Facultad de Farmacia:

KLEBSIELLA PNEUMONIAE
 PROTEUS MIRABILIS
 PROTEUS MORGANII
 PROTEUS RETTGERI
 PROTEUS VULGARIS
 PSEUDOMONAS AERUGINOSA
 SERRATIA MARCESCENS
 SHIGELIA FLEXNERI
 SHIGELLA SONNEI
 SARCINA LUTEA
 STAPHYLOCOCCUS AUREUS
 STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS
 STREPTOCOCCUS FAECALIS

de rayos X, en un aparato Philips PW 1010 con contador de centelleo, equipado con sistema de discriminación de altura de impulsos, con anticátodo de cobre y filtro de níquel, operando a 28 mA y 34 Kv. El diagrama usado fue el de polvo cristalino. Como se ha citado, los cristales resultaron ser de carbonato de calcio de tipo calcita.^{2, 3, 4, 5}

Ahora bien, ¿cuál es el proceso por el cual se producen estas formas cristalinas? En un principio sospe-

chamos que los cristales procedían de la transformación de un sustrato, el cual, si continuamos cñéndonos al medio B - 4, sería el acetato cálcico, hipótesis que pronto vimos que no era cierta, pues usando otras sales cálcicas también se producían.

Actualmente creemos que se originan por el siguiente mecanismo: el dióxido de carbono procedente del metabolismo bacteriano, junto con las moléculas de agua del medio de cultivo a pH algo alcalino, formará carbonato, el cual, con iones calcio dará carbonato de calcio.

De igual modo, si sustituimos el ión calcio por cualquier otro ión alcalinotérreo, podemos llegar a obtener sus correspondientes carbonatos, siempre que éstos sean insolubles. Así hemos obtenido cristales de Estroncianita^{2,3} en el medio B - 19. Lo que no se ha podido obtener es Carbonato de Bario, pues probablemente debido a pequeñas impurezas en azufre que contiene alguno de los componentes del medio, siempre se produce Sulfato de Bario.

Esta experiencia que podemos denominar geológica, nos encaminó a considerar que algo análogo podía suceder en algunos lugares del cuerpo humano, siempre que existieran las condiciones oportunas para ello.

Preparamos un nuevo medio de cultivo,⁴ el B - 0 usando orina esterilizada por filtración, adicionada de una pequeña cantidad de acetato de calcio, hidróxido sódico para establecer un pH superior a la neutra-

lidad y agar purificado Difco. Sobre él se inocularon de forma masiva, enterobacteriáceas aisladas de orinas de diversas procedencias.

A los pocos días de incubación, en la mayoría de los cultivos podía observarse microscópicamente unos pequeños cristales intra y extracoloniales que aumentaban de tamaño con el tiempo.

Según el Dr. Puigvert,⁵ la litogénesis se produce en aquellos lugares donde el líquido que va filtrando queda remansado y no fluye con la rapidez normal. Allí se va formando el microlito que después se transformará en placa de Randall y posteriormente en cálculo o «piedra».

Si en el lugar donde se produce la disminución del flujo del líquido orgánico, se acantona un determinado grupo de bacterias —en caso de que haya iones calcio y una reacción algo alcalina—, se puede producir un fenómeno análogo al que se produce «in vitro», formándose lo que con el tiempo se convertirá en piedra de riñón o de vejiga.

Es compatible con estas ideas, el hecho de que la litiasis no se cura después de desprenderse el objeto causante del dolor, sino que puede repetirse, y así ocurre en muchas ocasiones, hasta que se eliminan las fuentes etiológicas, entre las cuales, en esta exposición, pretendemos destacar a las microbianas.

En nuestras experiencias «in vitro» con modificaciones del medio B - 0, hemos obtenido además de los

cristales de CO_3CA , los pertenecientes a otros tipos, que concuerdan estructuralmente con ácido úrico, con oxalato cálcico, y con fosfato amonicomagnésico.

En el medio de CLED, medio sólido con cistina y lactosa y deficiente en electrolitos, hemos obtenido a partir de un *E. coli* aislado de orina cristales macroscópicos de oxalato cálcico. Este mismo fenómeno ha sido también observado por el Dr. Roca de Viñals¹⁶ en el laboratorio del Dr. Arcalis, en la Residencia Francisco Franco de la Seguridad Social.

Actualmente hemos introducido la serie de medios B-B, integrados esencialmente por bilis esterilizada por filtración, adicionada de alguna sustancia nutritiva o energética. Aun-

que los primeros resultados son altamente positivos, sobre todo en el medio B-B 10, todavía es pronto para que expongamos públicamente su composición y el tipo de microorganismos utilizados, los cuales, proceden de aislamientos realizados en bilis. En todo caso lo que podemos adelantar es que a partir de *Salmonella typhi* hemos obtenido cristales que morfológicamente pueden ser de Colesterol.

Con lo desarrollado, sólo hemos pretendido exponer unas experiencias efectuadas «in vitro», que de tener correlación «in vivo», explicarían en parte los fenómenos de litogénesis. Me gustaría aclarar que no queremos excluir ni negar que estos procesos puedan también ser debidos a otras causas.

BIBLIOGRAFIA

1. BERGEY'S (1974): Manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore, U.S.A.
2. BOQUET JIMÉNEZ, E. (1974): La formación de cristales por las bacterias en medios sólidos. Tesis Doctoral. Barcelona.
3. BOQUET JIMÉNEZ, E. (1975): Erzeugung von Kristallen durch Bodenbakterien. Naturw. Rdsch. E 5115 E, n.º 1, pág. III.
4. BOQUET JIMÉNEZ, E. (1975): Posible intervención de las Bacterias en la Litogénesis. Circular Farmacéutica, n.º 249, págs. 637-641.
5. BOQUET JIMÉNEZ, E.; BORONAT, A., y RAMOS CORMENZANA, A. (1973): Production of Calcite (Calcium Carbonate) Crystals by Soil Bacteria is a General Phenomenon. Nature, 256, 527-529.

6. BUCK, J. D., y GREENFIELD, L. J. (1964): Calcification in marine-occurring yeast. *Bull. Mar. Sci. Gulf. Carib.*, 14 (2), 239.
7. DREW, G. H. (1913): On the precipitation of calcium carbonate in the sea by marine bacteria and the action of denitrifying bacteria in tropical and temperate seas. *J. Mar. Biol. Ass.*, 9, 479.
8. GREENFIELD, L. J. (1963): Metabolism and concentration of calcium and magnesium and precipitation of calcium carbonate by a marine bacterium. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 109, 23.
9. KELLERMAN, K. F., y SMITH, N. R. (1914): Bacterial precipitation of calcium carbonate. *J. Wash. Acad. Sci.*, 4, 400.
10. LIPMAN, C. B. (1929): Further studies on marine bacteria with special reference to the Drew hypothesis on calcium carbonate precipitation in the sea. *Carneige Inst. Washington Publ.*, 391, 231.
11. LUCAS, G. (1949): La sedimentation calcaire. Action des amines fortes carbonatés sur l'eau de mer. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 229, 1026.
12. MALONE, PH. G., y TOWE, K. M. (1970): Microbial carbonate and phosphate precipitates from sea water cultures. *Marine Geol.*, 9, 301.
13. MCCALLUM, M. F., y GUHATHAKURTA, K. (1970): The precipitation of calcium carbonate from seawater by bacteria isolated from Bahama banksediments. *J. Appl. Bact.*, 33, 649.
14. OPPENHEIMER, C. H. (1961): Note on the formation of spherical aragonite bodies in the presence of bacteria from the Bahama bank. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 23, 295.
15. PUIGVERT GORRO, A.: Sesión inaugural del curso Académico 1975-76, Instituto Médico-Farmacéutico de Barcelona. *Litogénesis, Litoria y Calculosis*, 23 de octubre de 1975.
16. ROCA DE VIÑALS, J. A. (1973): Comunicación personal. Barcelona.
17. SHINANO, H. (1972): Studies of marine microorganisms taking part in the precipitation of calcium carbonate. *Bull. Jap. Sci. Fish.*, 38, 717.
18. TAIT, R. V. (1968): *Elements of marine ecology*. Butterwrths. London.
19. TOWE, K. M., y MALONE, PH. G. (1970): Precipitation of Metastable Carbonate Phases from Seawater. *Nature*, 226, 348.