EL LISOZIMA EN EL TRACTO DIGESTIVO DEL RECIEN NACIDO Y LACTANTE

Prof. H. VACCARO, Dres. J. CABEZAS y D. COPAJA
Cátedra de Bacteriología e Inmunología de la Universidad de Chile.

CONCEPTOS GENERALES SOBRE EL LISOZIMA

Entre los factores inespecíficos de defensa más ampliamente distribuidos, merece consideración especial el principio inhibidor y lítico que fué descrito por primera vez por Alexander Fleming.

Este autor, partiendo de las investigaciones de Laschtschenko (1909) y de Rettger y Sperry (1912), logró, continuándolas, verificaciones reveladoras, las que publicó, en 1922, en un trabajo acerca del poder bactericida de la clara de huevo. (24)

Un año más tarde amplía sus estudios en colaboración con Allison (25), llegando los dos autores a identificar un principio bactericida de naturaleza enzimática, al cual denominan "Lisozima". Demostraron que dicho principio inhibidor y lítico se hallaba presente en la casi totalidad de los humores y tejidos del organismo humano y animal. Del mismo modo comprobaron su presencia en algunos tejidos vegetales.

Este principio producía la inhibición o la lisis de numerosas especies bacterianas, saprófitas y patógenas.

El Lisozima contenido en la clara de huevo, fué el que sirvió a Fleming y Allison para estudiar su poder bactericida. Una dilución de clara de huevo al 1 % . mezclada, en partes iguales, con una emulsión microbiana concentrada de *Micrococcus lysodeikticus*, y colocada a una temperatura cercana a los 50 grados, produjo la lisis total de la emulsión bacterica antes de medio minuto, como se demostró mediante los

exámenes directos y los cultivos practicados, que fueron persistentemente negativos. La adición de una gota de clara de huevo a un cultivo de 24 horas de aquella misma especie bacteriana, sembrada en placa de Petri, produjo el aclaramiento completo del medio en 1 minuto a la temperatura de 37 grados.

El *Micrococcus lysodeikticus* demostró ser tan altamente sensible, que diluciones de clara de huevo del 1 por cincuenta millones, produjeron su lisis total después de 24 horas a la temperatura de 37 grados.

Estos investigadores demostraron la presencia de este principio lítico, en la casi totalidad de las secreciones y excreciones del organismo humano, como ser: lágrimas, mucus nasal, saliva, líquido pleural, líquido ascítico y de hidrocele, semen, suero sanguíneo, secreciones vaginales, loquios, etc. Así mismo, lo contenían algunos productos patológicos: pus, orina albuminúrica o purulenta, líquidos de quistes, etc.

También los tejidos humanos demostraron contenerlo y entre éstos se distinguieron por un alto contenido lisozímico, la fibrina y una muestra de cartilago articular de la rótula.

El tejido cerebral lo contenía en proporciones inferiores a las meníngeas.

Los huevos de distintas especies de peces y sobre todo los huevos de sollo, contendrían en alta proporción el principio lítico de Fleming.

Fleming y Allison hicieron un estudio comparativo del Lisozima contenido en la clara de huevo de distintas especies de aves: gallinas, patas, tordos y nevatillas y comprueban que la clara de huevo de gallina es la que contiene la más alta concentración lisozímica, siguiendo en importancia, la clara de huevo de pata.

Norman J. Miller y Francis Mc Donald (26) en 1933, investigan el Lisozima en las leches de: mujer, mona, perra, gata, ratona y llama, comprobando su presencia en todas ellas y encontrando una concentración casi idéntica.

La leche de vaca, según J. y M. Bordet (27), carecería de este principio; Blatt y Kessler, en 1937, llegan a la misma conclusión.

Prickett y colaboradores, en 1933, demuestran, por el contrario, que la leche de vaca contiene Lisozima.

Nuestros trabajos concordantes con lo verificado por Rosenthal y Lieberman (28) en 1931, nos han demostrado persistentemente la ausencia de Lisozima en la leche de vaca.

Las leches de: coneja, cabra, oveja, cuyes, contendrían muy escasa cantidad de este principio, llegando en determinadas ocasiones a carecer totalmente de él.

No contendrían Lisozima, según Fleming y Allison, el líquido céfalo raquídeo, el sudor, la orina y deposiciones normales.

Según Goevaerts, el líquido amniótico carece de Lisozima.

Bordet, en 1928, demostró que el sudor humano es capaz de producir la lisis de las bacterias sensibles al Lisozima.

Nuestros trabajos en curso, coinciden con la opinión de Bordet. La sarcina test, especie microbiana altamente sensible al Lisozima, que nosotros hemos empleado en todos nuestros trabajos acerca del contenido lisozimico en los distintos humores y secreciones, ha sido lizada con facilidad por el sudor humano. Algunas especies patógenas, tales como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus viridans* y *haemolyticus* han sido, en mayor o menor grado, inhibidas en su desarrollo.

NATURALEZA QUIMICA Y PROPIEDADES

Wolff (29), en 1927; Meyer y colaboradores (30), en 1936; Roberts (31), en 1937, y Abraham (32), en 1932, son los investigadores que en forma más completa se han preocupado del problema de la naturaleza química del Lisozima.

Abraham obtuvo este principio a partir de la clara de huevo, en forma de un polvo blanco desecado en acetona y éter, con una actividad de alrededor de dos mil unidades por miligramo y un peso molecular de aproximadamente 18,000, que contenía N 16.4 %, S 3.2 %, calculado sobre una base de cenizas libres. Obtuvo un producto amorfo, y otro cristalizado, con semejante grado de actividad.

El análisis cuantitativo verificado de la substancia amorfa, demostró que ésta contenía los siguientes amino-ácidos: Arginina 11,6 %, Cistina 7 %, Lisina 5,8 %, Tirosina 4,4 % e Histidina 2,6 %.

El Lisozima obtenido y purificado por Meyer y colaboradores, en 1936, que se considera como una de las preparaciones de más alta pureza, es un cuerpo de naturaleza básica, soluble en medio acuoso, acidificado e insoluble en los disolventes orgánicos puros en los medios alcalinos.

Su análisis centesimal, demostró lo siguiente:

C: 49,65 %; N: 15,33 %; H: 6,44 %; P: 0,25 %; S: 0,64 %; Cenizas: 3,3 %.

Su peso molecular aproximado fué de 25,000. Las reacciones de Biuret, ácido glioxílico, fenol Greenberg y nitroprusiato de sodio, fueron positivas. La reacción de Moelisch fué siempre negativa. El ácido tricloroacético y el sulfosalicílico, no precipitaban sus diluciones, el ácido tungstico lo hizo incompletamente. El ácido perclórico y las sales de oro y plata, junto con precipitarlo, inactivaban el Lisozima.

El Lisozima se demostró como muy estable al calor y al ácido; así el ácido acético al 2 % a 100 grados C., no afectó el poder lítico de este principio, después de 45 minutos de contacto.

En medio alcalino a la temperatura ambiente, se disminuía notablemente la actividad lítica del Lisozima antes de los 10 minutos. De acuerdo con la totalidad de los investigadores, consideramos que en un medio neutro, se evidencia el óptimo de la actividad lisozímica.

En pH ácido, la solución lisozímica atraviesa con facilidad la bujía Berkefeld 5, mientras que a pH neutro lo hace con suma dificultad. Los filtros de porcelana, algodón y papel retienen el Lisozima, mientras no han sido saturados, después de lo cual el elemento los atraviesa con facilidad. No dializa. Se comporta como un coloide electro positivo.

Es absorbido por el carbón vegetal, caolín, celulosa, pero no por el hidróxido de aluminio coloidal, hidróxido de hierro coloidal y fosfato tricálcico. Su tamaño molecular sería inferior a 30 milimicrones. Es destruido por la luz ultravioleta.

Respecto de su estabilidad, las soluciones de Lisozima, conservan su actividad, ya a la temperatura de la estufa o del frigidaire, por un tiempo más o menos largo. El yodo y el óxido cuproso, lo inactivan, fenómenos que son parcialmente reversibles.

Los fermentos proteolíticos digestivos no disminuyen el poder bacteriolítico del Lisozima contenido en la clara de huevo. Los distintos antisépticos se comportan de modo variable. Mientras que algunos, como el fenol al 1 %, sublimado oxicianuro de mercurio al 1 por mil y el mentol al 1 por 10 mil, no modifican en absoluto el poder lítico del Lisozima, la tintura de yodo a concentraciones que no determinan la precipitación de este producto, inhibe totalmente su actividad inhibidor-lítica. Los compuestos sulfamidados,

asociados al Lisozima, parecen reforzar su acción cuando llegan a contacto con especies microbianas sensibles.

MECANISMO DE ACCION DEL LISOZIMA

Fleming y Allison consideraron el Lisozima como una diastasa, sin llegar a demostrar su calidad enzimática ni el sustrato sobre el cual ejerce su acción.

Hallauer (33) creyó que dicha acción se ejercía sobre la fracción mucoide de la membrana microbiana, ya que el fenómeno lítico va asociado con un aumento del N no proteico, de P inorgánico y de sustancias reductoras de origen protoplasmático que han sido puestas en libertad gracias a la desintegración de dicha membrana.

K. Meyer, J. W. Palmer y R. Thompson (30) apoyan la teoría físico-química del mecanismo de acción del Lisozima, considerándolo como capaz de producir el descenso de la tensión superficial, opinión que ha quedado totalmente desvirtuada gracias a múltiples investigaciones en las cuales se ha probado que las sustancias que disminuyen la tensión superficial en forma manifiesta —como el alcohol caprílico que la hace descender en un 60 % en relación con la del agua destilada—, no se comportan en absoluto como agentes líticos.

Wolff y Kiwasawa, en 1927, comprobaron que el Lisozima altamente purificado, disuelto en agua o en suero fisiológico, no hacía descender la tensión superficial.

K. Meyer y colaboradores, siguiendo los trabajos de Fleming y Allison y especialmente los de Hallauer, que consideran la acción del Lisozima como un fenómeno diastásico que se verifica sobre la fracción mucoide de la membrana microbiana, lograron localizar en determinados eslabones azucarados el sitio en que la desintegración se ejercía.

Estos autores, colocando al Lisozima purificado frente a determinados sustratos, no lograron comprobar de su parte la calidad de proteasa, quinasa, amilasa, lipasa ni fosfatasa.

L. A. Epstein y E. Chain (34), en 1940, aceptan que el Lisozima actúa como una diastasa capaz de hidrolizar determinados polisacáridos contenidos en el cuerpo de las especies microbianas sensibles, polisacárido insoluble en el agua, responsable del mantenimiento de la estructura morfológica de las bacterias.

En los casos en que este polisacárido es el único elemento mantenedor de dicha estructura, las especies microbianas sensibles al Lisozima, puestas a su contacto, son desintegradas hasta su completa lisis. Pero, cuando están presentes también otras estructuras, el Lisozima tendría sobre las especies sensibles sólo un poder bacteriostático, o bien bactericida, ya que dicho polisacárido desempeñaría, aparte de intervenir en la mantención de la estructura morfológica, un rol de vital importancia para la bacteria.

Según lo establecen Epstein y Chain, el polisacárido que lograron aislar de cuerpos secos de *Micrococcus lysodeikticus* y que demostró tener un alto peso molecular, puesto a contacto con el Lisozima purificado de la clara de huevo o de otras fuentes que lo contienen, permitió ubicar a esta sustancia en el grupo de las carbohidrasas.

La hidrólisis obtenida en un pH entre 2 y 9, daría origen, entre otras sustancias, a una N-áminoexosa acetilada y una queto exosa, no consiguiéndose demostrar la presencia de otros hidratos de carbono.

En resumen, los estudios realizados acerca del mecanismo de acción del Lisozima frente a las especies microbianas sensibles, saprófitas y patógenas, a pesar de no haber resuelto el problema en forma definitiva, permiten, gracias a las recientes verificaciones de Meyer y colaboradores, considerar a esta sustancia como una diastasa.

NUESTRAS INVESTIGACIONES

El presente trabajo se basa en el estudio clínico-experimental que publicaran Rosenthal y Lieberman en el año 1931 (28) sobre el papel que desempeña el Lisozima en el desarrollo de la flora intestinal del recién nacido y lactante.

Ellos observaron que el tracto intestinal del recién nacido, estéril en el momento del nacimiento, es invadido, dentro de un corto período de tiempo, por los microorganismos del medio ambiente. Esta flora intestinal inicial desaparece al tercero o cuarto día en los lactantes alimentados en forma natural y es reemplazada por una flora, en la cual predomina el *Lactobacillus bifidus*. En los niños alimentados en forma artificial no sucede lo mismo, desarrollándose una flora microbiana intestinal muy variada y sin predominio de ninguna especie determinada.

Tratando de investigar la causa de la modificación, que experimenta la flora microbiana inicial en los niños ali-

mentados en forma natural, Rosenthal y Lieberman fijaron su atención en las deposiciones y trataron de buscar en ellas la existencia de algún factor capaz de destruir a los gérmenes invasores. Para ello prepararon un extracto de deposiciones y lo pusieron en contacto con una cepa de *Sarcinas*, germen saprófito del aire, que tiene los caracteres de coco gram positivo, se dispone en tétradas y cuyas colonias en agar placa son muy típicas y fácilmente diferenciables.

La técnica empleada por estos investigadores en sus experiencias, fué la siguiente: "el extracto se preparó mezclando deposiciones de un lactante de una semana de edad, con cantidad suficiente de suero fisiológico, hasta formar una pasta espesa. Esta se centrifugó a una gran velocidad, por espacio de 20 minutos, y se decantó el sedimento. Como un representante de las bacterias del aire, seleccionamos una cepa de *Sarcina*, que habíamos aislado del aire por exposición de placas de agar descubiertas. Se eligió este germen, porque su aspecto típico al microscopio permite reconocerlo fácilmente. Se obtuvo una suspensión standard de *Sarcinas*, en 5 cc. de suero fisiológico; 0,5 cc. de esta suspensión, con 2 cc. de extracto de deposiciones, se incubó a 45 grados. Un estudio microscópico en fresco de gotas sucesivas de esta mezcla, tomadas a intervalos de media hora, reveló la destrucción completa y lisis de las *Sarcinas* en una a dos horas".

Estudiando los caracteres físico-químicos del principio lítico revelado en las deposiciones, estos autores comprueban su notable resistencia a los agentes físicos y químicos, demostrando que no es afectado por temperaturas de 56° y que es inactivado sólo después de una hora y media a 65° o después de 3 minutos a 100°. Su poder bacteriolítico no es alterado por el éter ni cloroformo. La filtración a través de papel filtro, cambia el principio activo del extracto probablemente por absorción.

Rosenthal y Lieberman, por todas estas razones, identifican el principio lítico encontrado por ellos en las deposiciones, con el Lisozima.

A continuación investigan la presencia de Lisozima en las deposiciones de niños alimentados en forma natural y artificial, para lo cual examinan un total de 81 muestras, concluyendo de sus investigaciones que el Lisozima se encuentra presente sólo en las deposiciones de niños alimentados al pecho, y no en los alimentados con fórmulas de leche de vaca, de lo que deducen que tal principio se encuentra contenido en la leche humana y que atraviesa el tracto intes-

tinal, apareciendo en las deposiciones, sin ser destruido por el jugo gástrico ni por las secreciones intestinales.

Basándonos en las experiencias de Rosenthal y Lieberman, las que hemos modificado en parte y ampliado, verificamos en la Cátedra el presente trabajo de orden experimental.

MATERIAL Y TECNICA USADOS EN NUESTRAS EXPERIENCIAS

Germen de prueba.

Hemos utilizado la misma cepa de *Sarcina test.* empleada en todas las investigaciones efectuadas en la Cátedra, sobre el Lisozima.

Dicha *Sarcina* fué aislada del aire en 1930 por L. Rosenthal, del Laboratorio del United Israel Zion Hospital. Ella ha sido utilizada por Paul S. Prickett, del Laboratorio de Mead, Johnson and Company, Evansville, Indiana, en sus trabajos sobre Lisozima, y fué él quien nos envió dicha cepa para nuestras investigaciones.

El estudio de sus características morfológicas, culturales y fisiológicas, ya fué realizado en la Cátedra en 1942, por lo cual no insistiremos mayormente y sólo diremos que se trata de un germen de forma esférica, dispuesto en tétradas, no esporulado, inmóvil, Gram positivo. En agar estria tiene desarrollo abundante en forma invasor, plano, ligeramente levantado, opaco, de superficie lisa y húmeda, color amarillo limón, sin olor, de consistencia viscosa; no altera el medio, puede emulsionarse fácilmente, dando una emulsión homogénea. Las colonias en agar placa son pequeñas, redondeadas, de superficie húmeda, de color amarillo cremoso.

Deposiciones.

En nuestras experiencias hemos utilizado muestras de meconio y deposiciones de niños recién nacidos de la Maternidad del Hospital Barros Luco y de Lactantes del Hospital Luis Calvo Mackenna. Estos últimos niños, en los casos en que fueron alimentados en forma natural, tomaban leche humana ordeñada. Es del caso hacer notar que, en su mayoría, se trataba de niños distróficos, contrariamente a los primeros, que fueron, en su totalidad, catalogados como clínicamente sanos.

Preparación del extracto de deposiciones.

1. A una cantidad indeterminada de deposiciones (recogidas generalmente de la primera muda), agregamos 10 cc. de suero fisiológico, agitando hasta formar una masa semi líquida.

2. Centrifugamos dicha mezcla a razón de 5,000 revoluciones por minuto, por espacio de 20 minutos.

3. Decantamos el sedimento, obteniendo el sobrenadante como extracto de deposiciones. Este extracto, así obtenido, lo mezclamos con un volumen igual de éter sulfúrico, llevando en seguida esta mezcla al baño-maria a 50 grados, hasta la completa evaporación del éter, la que se conseguía después de hora y media de calentamiento. En esta forma obtuvimos el extracto de deposiciones libre de impurezas, ya que la esterilización con éter y el calentamiento a 50 grados, no afectan al Lisozima que pudieran contener, en tanto que excluyen la intervención de las bacterias del grupo *Mesentericus-subtilis*, que pueden encontrarse en las deposiciones y que, tal como lo han demostrado Nicolle y Rosenthal, son capaces de producir un fermento lítico activo.

Preparación de la emulsión de sarcinas.

1. A un cultivo de 24 horas en agar tendido de Sarcina test, agregamos 10 cc. de suero fisiológico, agitamos.

2. 0.1 cc. de esta mezcla agregamos a un tubo de agar fundido y enfriado a 45 grados.

3. Vaciamos a placas de Petri, e incubamos a 37 grados por espacio de 24 horas, al cabo de las cuales leemos los resultados obtenidos.

4. Usamos dos tubos de control: uno de ellos en el que reemplazábamos el extracto de deposiciones por suero fisiológico, y otro en el que sólo teníamos extracto de deposiciones. Este último lo usábamos con el fin de tener la seguridad de que mediante la esterilización previa habíamos destruido la flora microbiana intestinal normal.

En esta forma, investigábamos el poder lítico inhibitor del extracto de deposiciones, frente a la Sarcina test, en forma instantánea.

Interpretación de los resultados.

A fin de facilitar la lectura de los resultados obtenidos en todas nuestras experiencias, hemos adoptado la siguiente pauta para su interpretación:

++++	Lisis total, no hay desarrollo microbiano.
+++	Hay disminución en un 75 % en el número de colonias, comparativamente a la placa control.
++	La reducción del número de colonias alcanza a un 50 % con respecto al control.
+	Hay disminución del número de colonias en un 25 %.
—	El número de colonias es sensiblemente igual al de la placa control.

PROTOCOLO DE NUESTRAS INVESTIGACIONES

Primera serie de experiencias.

Efectuamos la investigación del Lisozima en el meconio y deposiciones de los recién nacidos alimentados con leche materna.

Estudio verificado en 75 niños, protocolizados en la Maternidad del Hospital Barros Luco, y cuyas edades fluctuaban entre 1 día y 12 días.

Los resultados obtenidos los resumimos en el cuadro siguiente:

CUADRO N.º 1.

Investigación del poder lítico-inhibidor del meconio y deposiciones de los recién nacidos alimentados con leche materna, frente a la Sarcina test. Acción instantánea.

Protocolo	Nombre	Edad	Proced.	N.º Alimentación	Lisozima
				Obs.	
9944	F. M.	1 d.	M. HBL.	56897	0
11469	T. S.	1 "	"	60043	0
9938	A. S.	1 "	"	60315	0
11470	R. A.	1 "	"	60311	0
11471	A. O.	1 "	"	60167	0
9946	E. S.	2 "	"	59936	0
9961	R. P.	2 "	"	32837	0
9939	O. C.	2 "	"	60246	0
11476	M. P.	2 "	"	59951	0
11472	T. R.	2 "	"	51730	0
11464	C. P.	3 "	"	60245	L. Materna
11465	E. F.	3 "	"	59492	" "
11466	G. S.	3 "	"	59890	" "
11467	M. P.	3 "	"	31042	" "
11474	R. M.	3 "	"	59758	El 5 %
11432	L. C.	4 "	"	56187	L. Materna
11438	H. S.	4 "	"	59770	" "
11441	T. R.	4 "	"	59784	" "
11475	D. B.	4 "	"	13531	" "
11433	L. P.	4 "	"	60453	" "
11424	E. C.	4 "	"	7236	" "
11435	Y. S.	4 "	"	60051	" "
11477	V. V.	5 "	"	59818	" "
11478	E. H.	5 "	"	60170	" "
11479	G. Y.	5 "	"	44480	" "
11480	C. M.	5 "	"	20218	" "
9941	M. A.	5 "	"	45281	" "
9965	E. S.	5 "	"	Pan	" "
12137	B. E.	5 "	"	41152	" "
12138	A. C.	5 "	"	59977	" "
12139	E. S.	5 "	"	60109	" "
12140	E. S.	5 "	"	49851	" "
11430	A. P.	6 "	"	60325	" "
11431	M. S.	6 "	"	28309	" "

Protocolo	Nombre	Edad	Proced.	N. ^o Obs.	Alimentación	Lisozima
9940	C. C.	6 d.	M. HBL.	38030	L. Materna	++++
9962	M. V.	6 "	"	60387	" "	++++
9964	E. F.	6 "	"	57995	" "	++++
11468	R. F.	6 "	"	Penc.	" "	++++
12141	Y. B.	6 "	"	Penc.	" "	++++
12142	N. C.	6 "	"	57901	" "	++++
12143	E. C.	6 "	"	57844	" "	++++
12144	R. C.	6 "	"	59337	" "	++++
12746	S. P.	6 "	"	12666	" "	++++
12747	M. A.	6 "	"	45281	" "	++++
12748	B. E.	6 "	"	41152	" "	++++
12750	E. H.	6 "	"	60170	" "	++++
12751	D. R.	7 "	"	59388	" "	++++
12752	M. Z.	7 "	"	59739	" "	++++
12753	M. P.	7 "	"	60561	" "	++++
12754	G. Z.	7 "	"	60518	" "	++++
11436	E. P.	7 "	"	60506	" "	++++
11437	A. G.	7 "	"	58470	" "	++++
11439	R. G.	7 "	"	36258	" "	++++
11440	N. L.	7 "	"	60406	" "	++++
11481	E. L.	7 "	"	33571	" "	++++
11482	S. P.	7 "	"	61210	" "	++++
11483	H. L.	7 "	"	59807	" "	++++
11484	M. G.	7 "	"	2425	" "	++++
12755	A. V.	8 "	"	60450	" "	++++
12756	A. T.	8 "	"	59934	" "	++++
12757	L. L.	8 "	"	58272	" "	++++
12758	J. M.	8 "	"	43251	" "	++++
12759	E. C.	8 "	"	60407	" "	++++
12760	Y. C.	8 "	"	59859	" "	++++
12761	A. M.	8 "	"	59860	" "	++++
12762	A. D.	8 "	"	60329	" "	++++
11485	C. A.	9 "	"	59932	" "	++++
11486	A. G.	9 "	"	59470	" "	++++
11487	R. G.	9 "	"	36258	" "	++++
11488	N. L.	9 "	"	60406	" "	++++
11489	E. L.	10 "	"	33521	" "	++++
11490	A. V.	10 "	"	61210	" "	++++
12756	A. T.	10 "	"	59934	" "	++++
12757	L. L.	12 "	"	58272	" "	++++

Conclusiones de la primera serie de experiencias.

1.º Demuéstrase en la totalidad de los casos investigados, que el meconio carece de Lisozima.

2.º Las deposiciones de recién nacidos alimentados con leche materna demostraron, en todos los casos analizados, un gran contenido lisozimico.

3.º La aparición de Lisozima en las deposiciones coincidió constantemente con la iniciación del amamantamiento.

4.º Los controles verificados en forma continuada, a partir del 1.º día del amamantamiento hasta el 12.º día, demostraron un contenido lisozimico constante.

Segunda serie de experiencias.

Se investigó el poder inhibidor lítico de las deposiciones de 79 lactantes, cuyas edades fluctuaban entre 15 días y 22 meses, alimentados en forma natural (leche humana ordeñada), mixta y artificial.

Estos casos fueron protocolizados en el Hospital Luis Calvo Mackenna.

Los resultados obtenidos están resumidos en el cuadro siguiente:

CUADRO N.º 2

Investigación del poder inhibidor lítico de las deposiciones de lactantes, frente a la Sarcina test. Acción instantánea.

Protocolo	Nombre	Edad	Proced.	N.º Obs.	Alimentación	Lisozima
9928	P. B.	15 ds.	H. LCM.	43/682	L. H.	++++
9920	J. O.	18 "	"	43/623	"	++++
9348	O. T.	21 "	"	43/360	L.H.-EI	+++
9350	M. T.	1 ms.	"	43/466	L.H.-J. de F.	++++
9351	G. S.	1 "	"	43/280	"	++++
9919	B. C.	1 "	"	43/624	L. M.	++++
9929	N. N.	1 "	"	43/688	L.H.-EI	+++
9930	J. C.	1 "	"	43/655	L. M.	++++
11419	C. A.	1 "	Part.	—	"	++++
11428	L. G.	1 "	H. LCM.	43/670	L.H.-EI	+++
11429	L. N.	1 "	"	43/710	"	+++
9349	L. V.	2 "	"	43/211	"	+++
9459	O. O.	2 "	"	43/622	L. H.	++++
9460	M. O.	2 "	"	43/621	"	++++
9918	B. S.	2 "	"	43/259	L2/3 8%-L.H.	++++
9931	C. N.	2 "	"	43/303	L2/3 8%-LH-LA	++++
11410	N. C.	2 "	"	43/256	LH-EI-J. de F.	+++
11426	C. N.	2 "	"	43/620	L. H.	++++
11427	E. P.	2 "	"	43/640	L2/3 8%-LH-LA	+++
11430	O. U.	2 "	"	43/504	L. H.	++++
11431	C. H.	2 "	Part.	—	"	++++
9354	M. B.	3 "	H. LCM.	—	Artificial	—
9355	M. M.	3 "	"	—	"	—
9924	H. O.	3 "	"	43/302	L.H.-L.A.	++++
9932	E. N.	3 "	"	43/319	L2/3 8%-LH-LA	++++
11415	R. F.	3 "	Part.	—	L. M.	++++
11416	N. C.	3 "	"	—	"	++++
11417	C. C.	3 "	"	—	"	++++
11421	V. V.	3 "	H. LCM.	43/562	L.H.-L.A.	++++
11422	E. S.	3 "	"	43/520	"	+++

Protocolo	Nombre	Edad	Proced.	N.º Obs.	Alimentación	Lisozima
9356	R. P.	4 ms.	M. HBL	43/208	Artificial	—
9362	M. F.	4 "	"	43/249	"	—
9364	L. M.	4 "	"	43/245	"	—
9400	M. A.	4 "	"	43/277	"	—
9921	L. M.	4 "	"	43/287	"	—
11423	F. P.	4 "	"	43/279	"	—
11424	A. F.	4 "	"	43/300	"	—
11425	R. M.	4 "	"	43/245	LH-E1 5%-JF	+++
9352	S. G.	5 "	"	43/238	Artificial	—
9358	J. C.	5 "	"	43/236	"	—
9397	F. Y.	5 "	"	43/142	"	—
9933	P. L.	5 "	"	43/160	L2/3 8%-LA-LH	+++
9934	E. G.	5 "	"	43/260	Artificial	—
11409	B. V.	5 "	"	43/146	"	—
11411	G. R.	5 "	"	43/162	"	—
11412	M. L.	5 "	"	43/164	"	—
9359	V. R.	6 "	"	43/190	"	—
9363	E. T.	6 "	"	43/663	"	—
9454	N. A.	6 "	"	43/590	LH-E1 7%	+++
9455	N. S.	6 "	"	43/394	Artificial	—
9461	M. N.	6 "	"	"	"	—
9922	O. G.	6 "	"	43/178	"	—
9923	G. N.	6 "	"	43/673	LH-E-7%	+++
9925	M. C.	6 "	"	43/348	LH-LA-PL½-SS-PV	++
9927	P. B.	6 "	"	43/362	LH-LA-E1 5%-JF	++
9935	J. V.	6 "	"	43/368	Artificial	—
9357	R. L.	7 "	"	43/214	"	—
9361	L. O.	7 "	"	43/220	"	—
9365	S. G.	7 "	"	43/500	"	—
9396	G. J.	7 "	"	43/506	"	—
9299	F. F.	7 "	"	43/598	"	—
9402	G. D.	7 "	"	43/70	"	—
9403	H. C.	7 "	"	43/238	"	—
9458	A. H.	7 "	"	43/229	"	—
9926	A. A.	7 "	"	43/229	"	—
9352	L. M.	8 "	"	43/107	"	—
9401	H. M.	8 "	"	43/107	"	—
9936	L. I.	8 "	"	43/89	"	—
11407	M. S.	8 "	"	43/108	"	—
11408	C. M.	8 "	"	43/90	"	—
11414	C. H.	8 "	Part.	"	"	—
11418	I. R.	8 "	"	"	"	—
11420	C. B.	8 "	H. ICM.	43/96	"	—
9457	L. C.	10 "	"	43/268	"	—
9456	G. U.	12 "	"	43/161	"	—
9394	G. O.	12 "	"	43/10	"	—
9398	J. C.	14 "	"	43/528	"	—
9360	M. G.	15 "	"	43/490	"	—
9395	L. S.	22 "	"	43/25	"	—

Conclusiones de la segunda serie de experiencias.

1. Las deposiciones de lactantes alimentados con leche humana ordeñada, contienen Lisozima.

2. El contenido lisozímico que poseen las deposiciones de estos niños, es tan elevado como el de los niños alimentados con leche materna.

3. La actividad lisozímica fué siempre constante e independiente de la edad del lactante.

4. Los lactantes alimentados en forma mixta, demostraron contener Lisozima en sus deposiciones.

5. Las deposiciones de estos niños presentaron un contenido lisozímico inferior al de los niños alimentados en forma natural, variando su concentración en forma proporcionalmente directa a la cantidad de leche humana que recibían.

6. Los lactantes que recibían alimentación artificial no presentaron, en ningún caso, Lisozima en sus deposiciones.

ACCION DEL LISOZIMA CONTENIDO EN LAS DEPOSICIONES DE RECIEN NACIDOS, FRENTE A ALGUNAS ESPECIES MICROBIANAS SAPROFITAS Y PATOGENAS

Hemos creído de interés investigar la acción del Lisozima fecal de los recién nacidos, frente a algunos gérmenes patógenos del tracto digestivo.

Procedimos a estas investigaciones después de haber comprobado, utilizando la Sarcina test como especie microbiana sensible, el alto poder lisozímico de las deposiciones a examinar.

Verificamos este estudio en 52 muestras de deposiciones obtenidas de recién nacidos, cuyas edades fluctuaban entre 4 y 8 días.

Empleamos las siguientes especies microbianas: *Escherichia coli*, *Eberthella typhosa*, *Salmonella paratyphi A.*, *Streptococcus faecalis* (enterococo), *Proteus morganii*, *Shigella paradysenteriae* (Bacilo Flexner).

En cuanto a la técnica seguida, ella ha sido análoga a la ya descrita para las experiencias con Sarcina test.

Hemos variado la dilución del extracto de deposiciones desde 1/10, que corresponde a la dilución empleada en las experiencias verificadas con la Sarcina test, hasta 1/200.

Así mismo, hemos variado el tiempo de contacto entre la emulsión microbiana y el extracto de deposiciones, desde las 24 horas hasta la duración de la acción instantánea, que en las experiencias con *Sarcina test* fué el tiempo óptimo de acción.

Los protocolos de las experiencias y los resultados obtenidos, frente a cada una de estas especies microbianas, están resumidos en la serie de cuadros siguientes:

CUADRO N.º 3

Acción del Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido sobre la *Escherichia coli*.

Muestra	Extr. Deposic.	Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados.					
		Instant.	3	6	12	18	24
12137	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12138	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12139	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12140	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12141	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12142	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12143	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++

Muestra Extr. Deposic.		Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados.					
N.º		Instant.	3	6	12	18	24
	1/20	+	+	++	++	++	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12144	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12145	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12146	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12147	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12148	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	++	++	++	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—

Conclusiones.

De esta serie de experiencias, pueden deducirse las siguientes conclusiones:

1. Las deposiciones de recién nacidos, contienen Lisozima activo para la *Escherichia coli*.

2. El grado de actividad es directamente proporcional a la concentración y al tiempo de contacto.

3. Al 1/10 se produce lisis parcial en forma instantánea, la que se hace total después de 6 horas de contacto.

4. Al 1/20 la lisis es apenas perceptible hasta las 3 horas; se va haciendo más evidente a medida que aumenta el tiempo de contacto, sin llegar en ningún caso a la producción de lisis total.

5. Al 1/50 hubo ligera acción después de 24 horas de contacto, en dos del total de las muestras examinadas.

6. Al 1/200, el extracto de deposiciones no ejerce ninguna acción frente a la *Escherichia coli*.

CUADRO N.º 4

Acción del Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido, sobre la *Eberthella typhosa*.

Muestra	Extr. Deposic.	Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
		Instant.	3	6	12	18	24
12137	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12138	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12139	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12140	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	+
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12141	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12142	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12143	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—

Muestra Extr. Deposic.		Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
N.º		Instant.	3	6	12	18	24
12144	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12145	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12146	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12147	1/10	—	+	+	++	+++	++++
	1/20	—	—	—	+	+	+++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—

Conclusiones.

De esta serie de experimentos se deducen las siguientes conclusiones:

1. El Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido, tiene acción inhibidor lítica evidente sobre la *Eberthella typhosa*.

2. El grado de actividad es directamente proporcional a la concentración y al tiempo de contacto.

3. Al 1/10 se produce lisis parcial a las 3 horas, la que se hace total a las 24 horas de contacto.

4. Al 1/20, su acción empieza a ejercerse a las 12 horas de contacto y no llega a ser completa aún después de 24 horas.

5. A mayores diluciones, el extracto de deposiciones no demostró ningún efecto sobre la *Eberthella typhosa*, aun después de 24 horas de contacto.

CUADRO N.º 5

Acción del Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido sobre la *Salmonella paratyphi* A.

Muestra	Extr. Deposic.	Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
		Instant.	3	6	12	18	24
12746	1/10	—	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	—	+	++	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12747	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	—	+	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12748	1/10	—	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	+	+	+	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12749	1/10	+	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	—	+	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12750	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	+	+	+	+	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12751	1/10	+	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	—	+	+	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12752	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	+	+	+	++	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12753	1/10	+	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	—	+	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12754	1/10	+	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	—	—	+	+	+	++
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—

Conclusiones.

De esta serie de experiencias, se deducen las siguientes conclusiones:

1. El Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido, tiene acción lítica evidente sobre la *Salmonella paratyphi A*.

2. El grado de actividad es directamente proporcional a la concentración y al tiempo de contacto.

3. Al 1/10 se produce lisis parcial en forma instantánea, la que se hace total después de 6 horas de contacto.

4. Al 1/20 su acción empieza a ejercerse a las 3 horas y no llega a ser completa aún después de 24 horas.

5. A mayores diluciones, el extracto de deposiciones no demostró ningún efecto sobre la *Salmonella paratyphi A*.

CUADRO N.º 6

Acción del Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido sobre el *Streptococcus faecalis*.

Muestra	Extr.	Deposic.	Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
			Instant.	3	6	12	18	24
12137	1/10		—	—	—	—	+	+
	1/20		—	—	—	—	—	—
	1/50		—	—	—	—	—	—
	1/100		—	—	—	—	—	—
	1/200		—	—	—	—	—	—
12138	1/10		—	—	—	—	—	—
	1/20		—	—	—	—	—	—
	1/50		—	—	—	—	—	—
	1/100		—	—	—	—	—	—
	1/200		—	—	—	—	—	—
12139	1/10		—	—	—	—	—	—
	1/20		—	—	—	—	+	+
	1/50		—	—	—	—	—	—
	1/100		—	—	—	—	—	—
	1/200		—	—	—	—	—	—
12140	1/10		—	—	—	—	+	+
	1/20		—	—	—	—	—	—
	1/50		—	—	—	—	—	—
	1/100		—	—	—	—	—	—
	1/200		—	—	—	—	—	—

Conclusiones.

En esta serie de experiencias, nos hemos encontrado con dificultades técnicas, prácticamente insalvables, por lo que nuestras conclusiones serán sólo transitorias, quedando supeditadas a estudios posteriores. Las dificultades se refieren especialmente al hecho de que los cultivos en placas de esta especie microbiana, dan colonias pequeñísimas y de aspecto transparente, muy difíciles de apreciar aún con ayuda de lupa. En todo caso, como se desprende del cuadro, parece que el Lisozima tiene una acción muy débil sobre esta germen.

CUADRO N.º 7

Acción del Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido sobre el *Proteus morganii*.

Muestra	Extr.	Deposic.	Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
			Instant.	3	6	12	18	24
12750	1/10		++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20		++	++	++	++	++	++++
	1/50		+	++	++	++	++	+++
	1/100		—	—	—	—	—	+
	1/200		—	—	—	—	—	—
12751	1/10		++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20		++	+++	+++	+++	+++	++++
	1/50		+	++	++	++	++	+++
	1/100		—	—	—	—	—	+
	1/200		—	—	—	—	—	—
12752	1/10		++	+++	+++	+++	+++	++++
	1/20		++	++	++	++	++	++++
	1/50		++	++	++	++	++	++
	1/100		—	—	—	—	—	+
	1/200		—	—	—	—	—	—
12753	1/10		++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20		++	++	++	++	++	++++
	1/50		+	++	++	++	++	+++
	1/100		—	—	—	—	—	+
	1/200		—	—	—	—	—	—
12754	1/10		++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20		++	++	++	++	++	++++
	1/50		+	++	++	++	++	+++
	1/100		—	—	—	—	—	+
	1/200		—	—	—	—	—	—
12755	1/10		++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20		++	++	++	++	++	++++
	1/50		++	++	++	++	++	+++

Muestra Extr. Deposic.		Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
N.º		Instant.	3	6	12	18	24
	1/100	—	—	—	—	—	+
	1/200	—	—	—	—	—	—
12756	1/10	++	+++	++++	++++	++++	++++
	1/20	++	++	+++	+++	+++	++++
	1/50	+	++	++	++	++	+++
	1/100	—	—	—	—	—	+
	1/200	—	—	—	—	—	—
12757	1/10	++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20	++	++	+++	+++	+++	++++
	1/50	+	++	++	++	++	+++
	1/100	—	—	—	—	—	+
	1/200	—	—	—	—	—	—
12758	1/10	++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20	++	++	+++	+++	+++	++++
	1/50	+	++	++	++	++	+++
	1/100	—	—	—	—	—	+
	1/200	—	—	—	—	—	—
12759	1/10	++	++++	++++	++++	++++	++++
	1/20	++	++	+++	+++	+++	++++
	1/50	+	++	++	++	++	+++
	1/100	—	—	—	—	—	+
	1/200	—	—	—	—	—	—

Conclusiones.

De esta serie de experiencias, se deducen las siguientes conclusiones:

1. El Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido, tiene acción inhibidora lítica evidente sobre el *Proteus morganii*.

2. El grado de actividad es directamente proporcional a la concentración y al tiempo de contacto.

3. Al 1/10 se produce lisis parcial en forma instantánea, la que se hace total después de 3 horas de contacto.

4. Al 1/20 su acción también se ejerce en forma instantánea, haciéndose la lisis total a las 24 horas de contacto.

5. Al 1/50 se produce lisis parcial en forma instantánea, la que no llega a hacerse completa aún después de 24 horas de contacto.

6. Al 1/100 se manifiesta una pequeña acción lítico-inhibidora, después de 24 horas de contacto.

CUADRO N.º 8

Acción del Lisozima contenido en las deposiciones del recién nacido sobre la *Shigella paradysenteriae*.

Muestra	Extr. Deposic.	Tiempo de contacto en horas e interpretación de los resultados					
		Instant.	3	6	12	18	24
12755	1/10	—	—	—	—	—	+
	1/20	—	—	—	—	—	—
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12756	1/10	—	—	—	—	—	—
	1/20	—	—	—	—	—	—
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12757	1/10	—	+	—	—	—	+
	1/20	—	—	—	—	—	—
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12758	1/10	—	—	—	—	—	+
	1/20	—	—	—	—	—	—
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
12759	1/10	—	—	—	—	—	—
	1/20	—	—	—	—	—	—
	1/50	—	—	—	—	—	—
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—

Conclusiones

Del análisis del cuadro precedente, se desprende que la *Shigella paradysenteriae* es altamente resistente a la acción del Lisozima fecal.

CONSIDERACIONES GENERALES

Del presente trabajo experimental se desprende que el Lisozima se encuentra solamente en las deposiciones de recién nacidos y lactantes que son alimentados con leche humana, ya sea en forma exclusiva o mixta.

Si consideramos ahora los dos hechos, ya demostrados por Rosenthal y Lieberman en 1931 (28) y confirmados por nuestras recientes investigaciones, que ni el meconio de

los recién nacidos, ni las deposiciones de los lactantes de cualquiera edad alimentados en forma artificial, contienen Lisozima, podemos deducir que este elemento presente en las deposiciones de los niños que reciben leche humana, provenga exclusivamente de esta substancia alimenticia.

M. y J. Bordet comprobaron en 1828 (27) que, mientras el calostro y la leche humana contienen el Lisozima en alta proporción, la leche de vaca carece de este principio. Blatt y Kessler (34) llegaron en 1937 a la misma conclusión. Prickett, Miller y Mc Donald (26), en 1933, sin embargo, concluyen de sus trabajos que la leche de vaca contiene Lisozima, pero, comparativamente con la leche humana, en cantidades muy reducidas. Nuestras investigaciones realizadas en la Cátedra, nos permiten confirmar los resultados obtenidos por Bordet.

Puesto que los jugos digestivos no modifican ni disminuyen el poder de este principio inhibidor-lítico, hecho comprobado por Fleming y Allison (25) en 1924, el Lisozima ejercería su acción antimicrobiana en forma eficaz, a lo largo de todo el tracto digestivo del lactante.

En cuanto a los microorganismos más frecuentemente aislados del intestino y de las deposiciones de recién nacidos y lactantes normales, los diferentes investigadores concuerdan en considerar al *Lactobacillus bifidus* como una de las especies de mayor resistencia frente al Lisozima, lo que explicaría la frecuencia con que este germen es aislado de las deposiciones de los niños alimentados con leche humana y, al mismo tiempo, la escasez o ausencia de otra flora microbiana en estos terrenos.

Teniendo presentes las anteriores consideraciones, podemos deducir que, gracias a los recientes trabajos de Meyer, Palmer y Thompson (30), que han logrado obtener el Lisozima al estado de máxima pureza y aun en forma cristalizada, contamos ahora con una substancia más para combatir eficazmente ciertos procesos mórbidos digestivos del niño de naturaleza toxi-infecciosa.

CONCLUSIONES GENERALES

De nuestro estudio sobre la presencia de Lisozima en el meconio y en las deposiciones de recién nacidos y lactantes y de su acción inhibidora y lítica frente a algunas especies microbianas saprófitas y patógenas del tracto digestivo, se desprenden las siguientes conclusiones:

1) En la totalidad de los casos investigados se demostró la ausencia de Lisozima en el meconio.

2) Por el contrario, se evidenció su presencia en todas las deposiciones de los recién nacidos alimentados con leche materna.

3) La aparición del lisozima tuvo lugar, en todos los casos controlados, en el tercer día, coincidiendo con la iniciación de amamantamiento.

4) Los lactantes alimentados con leche humana ordeñada, demostraron contener en sus deposiciones un alto título lisozímico, semejante al que se comprobó en los niños alimentados con leche materna.

5) La edad del niño alimentado con leche humana no tiene, evidentemente, ninguna relación con el contenido lisozímico de las deposiciones.

6) La tasa lisozímica de las deposiciones de lactantes alimentados en forma mixta, guarda relación directa con la cantidad de leche humana ingerida.

7) En los lactantes alimentados en forma artificial, no pudo demostrarse, en ningún caso, la presencia de lisozima en sus deposiciones.

8) En cuanto al poder lisozímico de las deposiciones frente a diversos gérmenes patógenos y saprófitos del tubo digestivo, se comprobó que la intensidad de su acción varía según la especie microbiana:

a) La *Escherichia coli* fué inhibida en su desarrollo en forma total por concentraciones de 1×10 y después de 6 horas de contacto. A concentraciones de 1×50 se demostró una acción muy leve después de 24 horas.

b) La *Eberthella typhosa* sufrió la inhibición total a concentraciones de 1×10 y después de 24 horas de contacto. A concentraciones de 1×20 se demostró, en el mismo tiempo, una acción inhibidor-lítica incompleta.

c) El *Streptococcus faecalis* (enterococo) probó ser una especie muy resistente a la acción del lisozima fecal.

d) La *Salmonella paratyphi A* fué inhibida en su desarrollo en forma total por concentraciones de 1×10 después de 6 horas de contacto. Al 1×20 , el efecto inhibidor fué sólo parcial, aún después de 24 horas.

e) El *Proteus morganii* se reveló, de las especies microbianas estudiadas como la más sensible al lisozima fecal. A concentraciones de 1×10 y a las 3 horas de contacto, se comprobó la inhibición total de su desarrollo. Un efecto par-

cial pudo observarse aún a concentraciones de 1×100 después de 24 horas.

f) La *Shigella paradysenteriae* (Bacilo de Flexner) se mostró altamente resistente a la acción del lisozima fecal de los recién nacidos. Concentraciones de 1×10 produjeron, después de 24 horas de contacto, sólo en algunos de los casos investigados, una inhibición parcial de su desarrollo.

Bibliografía

- 1.—Topley y Wilson.— *Bacteriología e Inmunología*. 1:1517-1523, 1942.
- 2.—Witkowsky, R.— *Zbl. Bakt.* 133:334, 1935.
- 3.—Schild, W.— *Z. Hyg. Infekt. Kr.* 19:43, 1895.
- 4.—Arnold, L. y BRODY, L.— *Am. J. Hyg.* 6:672, 1926.
- 5.—Dack, G. M. y Woolpert, O.— *J. Prev. Med.* 6:129, 1932.
- 6.—Cruickshank, R.— *The Journal of Hygiene*. 24:241-254, 1925.
- 7.—Tissier, H. y Dreyfus, S.— *Compt. Rend. Soc. Biol.* 92:476, 1925.
- 8.—Lauter, L.— *Centralblatt für Bakteriöl.* 86:579, 1921.
- 9.—Naujoks, H.— *Centralblatt für Bakteriöl.* 86:579, 1921.
- 10.—Bachman, A.— *Prensa Médica Argentina*. 45:2196-2202, 1939.
- 11.—Finkelstein.— *Tratado de las enfermedades del niño de pecho*. 1:2, 1932.
- 12.—Escherich.— *Die Darmbakterien des Säuglings*. 1886.
- 13.—Tissier.— *Compt. Rend. Soc. Biol.* 51:943, 1899.
- 14.—Tissier.— *Ann. Inst. Pasteur*. 19:109, 1905.
- 15.—Moro.— *J. für Kinder*. 11:697-870, 1905.
- 16.—Eggerth y Gagnon.— *J. Bact.* 25:389, 1933.
- 17.—Marshall L. Snyder.— *J. of Infect. Dis.* 66:1-16, 1940.
- 18.—Nuttall, G. H. y Thierfelder.— *Physiol. Chem.* 21:109.
- 19.—Cohendy, M.— *Ann. Inst. Pasteur*. 26:106, 1912.
- 20.—Rettger, L. y Cheplin, H. A.— *A treatise on the transformation of the intestinal flora*. New Haven, 1921.
- 21.—Cannon, P. R. y Mc. Neast, P. W.— *J. of Infect. Dis.* 32:175, 1923.
- 22.—Cruickshank, R.— *Brit. J. Exper. Path.* 9:318, 1928.
- 23.—Gerstley, J. R., Howell, K. L. y Nacel, B. R.— *Amer. J. Dis. Child.* 43:555, 1932.
- 24.—Fleming, A.— *Proc. Roy. Soc. Series B*. XCIII:315, 1922.
- 25.—Fleming, A. and Allison, V. D.— *Brit. J. Exp.* 3:252, 1923.
- 26.—Prickett, P. S.; Miller, N. J. y Mc Donald, F. J.— *J. of Bact.* 25:61, 1933.
- 27.—Bordet, J.— *Compt. Rend. Soc. Biol.* 4:1252, 1928.
- 28.—Rosenthal, L. y Lieberman, H.— *J. of Infect. Dis.* 48:226, 1921.
- 29.—Wolff, L. K.— *Ztschr. für Immunitätsforsch. u. exper. Therap.* 50: 88, 1927.

- 30.—Meyer, K.; Palmer, J. W. y Thompson, R. J.— J. Biol. Chemistry, 113: 303-309, 1936.
- 31.—Roberts, E. A.— Quart. J. Exper. Physiol. 27:89, 1937.
- 32.—Abraham, E. P.—Bioch. Journal. 33:622-629, 1939.
- 33.—Hallauer, G.— Zentr. Bakt. Abt. Orig. 114:519, 1929.
- 34.—Meyer, K., Palmer, J. W., Thompson, R.— J. Biol. Chemistry. 113: 479-486, 1936.
- 35.—Epstein, L. A. and Chain, E.— Brit. J. Exper. Pathol. 21:339, 1940.
- 36.—Vaccaro, H.— Bacteriología e Inmunología. 1937.
- 37.—Cabezas, J. y Rubina, M.— Contribución al estudio del Lysozima. Anales de Química y Farmacia. 1942.
- 38.—Bergey.— Manual of Determinative Bacteriology. 1939.