

Presencia de *Shigella equuli* y de bacterias del «Grupo Paracoli» en la médula ósea de un feto de equino abortado

POR EL DR. JOSÉ JULIO MONTEVERDE (*)

En un haras situado en la provincia de Buenos Aires se produjo en el mes de julio de 1948 la prematura expulsión de un feto, aproximadamente durante el transcurso del 5º. mes de gestación. Los datos remitidos desde el lugar aludido indicaban solamente que la yegua, hasta el momento del aborto, se encontraba aparentemente normal y que la forma de presentación fué espontánea. No se dispone de información acerca de si hubo ulterior retención placentaria o alteraciones del aparato genital, ni tampoco se han conseguido informes sobre la necropsia del feto. Las cifras acerca de la incidencia de abortos en el establecimiento, como así también la existencia de otros padecimientos anteriores o actuales en los animales de diferente edad y sexo, se desconocen. Solamente se remitió para análisis bacteriológico un hueso largo («canilla»), completo, de cuya médula el Dr. A. J. Cifoelli obtuvo un cultivo microbiano cuyo diagnóstico bacteriológico ofrecía dificultades y del cual, como se verá más adelante se obtuvieron dos especies microbianas.

El objeto del presente trabajo es dar a conocer los resultados obtenidos en el estudio bacteriológico realizado¹.

* Profesor Adjunto de Bacteriología. Facultad de Agr. y Veterinaria. Universidad de Buenos Aires. Jefe de la Sección Microbiología del Museo Argentino de Ciencias Naturales. Bs. Aires.

(¹) El presente trabajo fué comunicado el 22 de octubre de 1948, en la Asociación Argentina de Microbiología. Bs. Aires, y un resumen del mismo fué publicado en La Prensa Médica Argentina. (XXXV, N° 53 (1948) 2534).

PARTE EXPERIMENTAL

Los métodos y técnicas seguidas en las investigaciones bacteriológicas que motivan el presente trabajo han sido, en general, las que recomienda la Sociedad de Bacteriólogos Americanos (23). Por lo que se refiere al detalle de las otras pruebas, en especial las que corrientemente se aplican al estudio de la familia *Enterobacteriaceae*, podrá el lector interesado obtener suficiente información en otros trabajos ya publicados (14) (15). La ordenación de la Parte Experimental se ha efectuado de acuerdo con el siguiente plan:

- I: ESTUDIO PRELIMINAR DEL CULTIVO ORIGINAL.
- II: ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DEL CULTIVO I¹ (*Sh. equuli*).
- III: ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DE LOS CULTIVOS 3⁴, C y D¹ (PERTENECIENTES AL «Grupo *Paracoli*»).

I ESTUDIO PRELIMINAR DEL CULTIVO ORIGINAL.

A) *Materia de estudio:*

Se trata de un cultivo en agar infusión de carne, incubado durante 24 horas a 37° C, obtenido de médula ósea fetal equina.

Este cultivo se presenta vigoroso, de color blanquecino, la parte central más transparente que el borde del mismo, el cual se presenta ligeramente elevado, opalescente y algo ondulado. El examen en gota colgante permite observar formas cocoides, cocobacilares, diplococobacilares, bastones cortos y finos y formas bacilares largas rectas y curvadas. El tamaño promedio oscila aproximadamente entre 0,3 y 0,5 μ en ancho para todos y entre 0,8-1 μ en largo para los cocobacilos y alrededor 15-20 μ para las formas más largas. Algunos elementos chicos se presentan dotados de movilidad poco activa, predominan las formas inmóviles. Algunos elementos presentan un pequeño halo periférico semejante a cápsula. Los métodos de coloración permiten reconocer que todos los microorganismos se decoloran por el método de Gram-Hucker y se tiñen por los colorantes básicos simples (fucsina, violeta de genciana, safranina). Por acción del azul de metileno fenicado, previa fijación con alcohol éter, es posible distinguir elementos bipolares. No son ácido alcohol-resistentes. La tinción de cápsulas por los métodos de Leifson y Giemsa resulta negativa.

B) *Aislamientos:*

En cajas de Petri conteniendo agar infusión de carne bovina y agar suero se efectuaron aislamientos superficiales, previa suspensión del material en solución fisiológica estéril. Después de 24 horas de incubación a 37° C, se observan: *a*) colonias circulares de borde liso seguido, superficie brillante, centro amarillento y opalescente, siendo el resto transparente, tienen 1,5 a 2 mm de diámetro. Estas colonias al ser tocadas con el alambre recto, son pegajosas y difíciles de retirar del medio, después de tomar contacto con el alambre, al retirar éste se forma un «hilo» que permanece sin romperse hasta una distancia de 1 a 2 cm. — *b*) colonias de forma circular con borde irregular, aplanadas, de superficie poco brillante salvo el centro que además se presenta más elevado dando aspecto de «huevo frito»; cuando se tocan con el alambre son difíciles de despegar y se rompen fácilmente. El diámetro oscila entre 2 y 3 mm. — *c*) colonias circulares, brillantes, de borde ondulado y algo elevado que alcanzan hasta 5 mm de diámetro, a la luz transmitida presentan una serie de bandas concéntricas que le dan aspecto de «escarapela». La consistencia es mucoide.

Se subcultivan 10 colonias que presentan los distintos aspectos ya enunciados, en agar infusión de carne, caldo infusión y caldo lactosado con púrpura de bromocresol; 4 de estas colonias originan cultivos muy pegajosos y viscosos, las restantes originan cultivos menos característicos que desarrollan bien después de 24 horas de incubación a 37° C. Posteriormente, a partir de todos estos cultivos, se efectúan nuevos aislamientos superficiales en agar infusión de carne, quedando su número reducido a 5 cultivos que son los que, aparentemente presentan diferencias entre sí teniendo en cuenta estos escasos datos de caracterización. A partir de estos 5 cultivos se efectúan nuevos aislamientos en agar infusión y finalmente sobre la base de la morfología, tinción, viscosidad de las colonias, aspecto de los cultivos en medios comunes del laboratorio y ataque a la lactosa, quedan en estudio 4 cultivos; de entre ellos uno resultó ser *Shigella equuli* (Cultivo 1¹) y los restantes (3⁴, C y D¹) pertenecientes al «Grupo Paracoli».

II) ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DEL CULTIVO 1¹ (*Shigella equuli*).a) *Morfología:*

Se trata de organismos inmóviles. Los cultivos de 24 horas incubados a 37° C sobre agar infusión de carne son muy pleomórficos, predominan sin embargo las formas cocobacilares y bastones cortos de $0.4-0,5 \mu \times$

0,8 μ -1,2 μ . Se disponen sueltos o formando pequeñas agrupaciones, algunos elementos se presentan formando cortas cadenas de 4 a 6 elementos, otros tienen la forma de bastones finos con lados paralelos y extremos redondeados con centro más claro que los polos, de hasta 3 μ en largo; también suelen hallarse formas ligeramente filamentosas curvadas de 15 a 30 μ de largo y 0,4 a 0,6 μ de ancho. Algunos elementos aparecen rodeados por un halo claro pequeño (pseudocápsula). En los cultivos de varios días de incubación a 37° C no se demuestran esporas.

b) *Tinción:*

Cultivos en agar infusión de carne desarrollados a 37° C. durante 24 horas son teñidos fácilmente por los colorantes básicos (fucsina, violeta de genciana, cristal violeta, azul de metileno). Se decoloran por el método de Gram-Hucker. No son ácido-alcohol resistentes. Cultivos desarrollados en agar suero no presentan cápsula después de la tinción por los métodos de Leifson y Giemsa. En general cuando los cultivos envejecen, si bien fijan los colorantes básicos, se tiñen más débilmente que los cultivos jóvenes.

c) *Cultivos:*

1) *Agar infusión de carne:* (24 horas-37° C). Abundante pátina blanquecina, superficie brillante, transparente, poco elevada, bordes ondulados. Al extraer cultivo con el alambre terminado en asa, se nota que el cultivo adhiere fuertemente al medio, la consistencia es viscosa y la porción en el alambre retirada no se desprende con facilidad al practicar los trasplantes. Si se toca con el alambre terminado en asa el agua de condensación, que por lo general presenta desarrollo en la superficie, se constata el arrastre de un líquido gomoso de color blanquecino que permite retirar un volumen considerable de este «moco» por sobre el agar, hasta la boca del tubo que contiene el cultivo y desde allí hacia afuera, dando lugar a la formación de «hilos», de hasta 30 cm de largo, que al romperse se retraen rápidamente hacia el interior del tubo y hacia el volumen contenido en el asa. La suspensión de estos cultivos en solución fisiológica no resulta fácil, el líquido adquiere consistencia espesa y presenta filamentos difíciles de desintegrar por agitación a temperatura ambiente, en cambio si la operación se realiza en baño maría a 100° C durante 30 minutos se consigue una suspensión bastante homogénea.

2) *Agar semisólido-infusión de carne (punción):* Después de 24 horas a 37° C. se obtiene abundante desarrollo que origina en el trazo una lí-

nea blanquecina circumscripita, que llega hasta el fondo y que por ulterior incubación no aumenta de tamaño; en la parte superficial y alrededor del punto de penetración del alambre se forma un círculo blanco, brillante y algo elevado de borde seguido y ondulado.

3) *Agar blando-gelatinado*: (Jordan y col.): El cultivo, después de 48 horas de incubación a 37° C y 2 días a temperatura ambiente queda limitado a la zona inoculada (inmóvil).

4) *Agar suero*: (24 horas 37° C): Desarrollo similar, aunque más adherente al que se presenta en el agar infusión de carne.

5) *Agar ascitis*: (24 horas 37° C.): Desarrollo parecido al que se presenta, en el agar suero.

6) *Agar sangre de caballo*: Desarrollo abundante en forma de pátina grisácea, hasta el 8° de incubación a 37° C. no se comprueba α o β hemólisis.

7) *Agar Sabouraud*: Después de 8 días de incubación a 37° C. no se aprecia desarrollo.

8) *Agar hígado*: (24 horas 37° C.): El cultivo es parecido al que se produce en agar infusión de carne.

9) *Agar Mac Conkey*: (24 horas 37° C.): Desarrollo poco vigoroso, brillante, algo elevado, de color rojo; el borde es transparente.

10) *Agar lactosa-púrpura de bromocresol*: (24 horas 37° C.): Desarrollo similar al que se presenta en agar infusión de carne, el viraje se produce en forma paulatina y poco pronunciada.

11) *Agar desoxicolato-citrato*: Después de 8 días de incubación a 37° C. no se observa desarrollo.

12) *Agar con verde brillante*: (Kristensen, Lester y Jürgens): Después de 8 días de incubación a 37° C. no se observa desarrollo.

13) *Agar Wilson-Blair*: (8 días a 37° C.): No se observa desarrollo.

14) *Agar blando glucosado 1 ‰*: (48 horas 37° C.): En profundidad se presentan colonias lenticulares de 1 mm de diámetro que por ulterior incubación no aumentan de tamaño.

15) *Papa glicerizada*: (4 días 37° C.): No se aprecia desarrollo.

16) *Colonias en agar glicerizado 5 ‰*: (48 horas 37° C.): Se aprecia buen desarrollo; se forman colonias de 5 a 6 mm de diámetro. Este medio es muy apropiado para considerar la variación S→R ya que es fácil reconocer los estados ¹ «R» con colonias de superficie irregular, borde con pliegues y escotaduras, algo elevadas y circulares. Las colonias «S» se presentan más aplanadas, brillantes, de superficie lisa y borde seguido.

17) *Colonias en agar infusión*: Las colonias lisas (Foto N° I) se presen-

¹ Según el Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica (3).

tan a las 24 horas aproximadamente de 2 mm de diámetro, son transparentes, con centro opalescente ligeramente amarillento, borde liso, superficie brillante y poco elevadas. Después de 48 horas de incubación a 37° C. las que se encuentran más aisladas alcanzan un diámetro de 3 a 4 mm. Cuando se tocan con el alambre, en el momento de retirar éste, se forma un «hilo» que se rompe a una altura aproximada de 1 cm. No es difícil extraer con el alambre material de la colonia, aunque el cultivo tiene tendencia a adherirse al medio. Las colonias rugosas se presentan de forma circular con bordes ondulados y escotaduras, son más elevadas que las lisas, menos brillantes y la superficie presenta múltiples depresiones: Son adherentes al medio y también dan lugar a la formación de «hilos».

18) *Colonias en agar suero*: El desarrollo es similar al que se observa en agar infusión. Las colonias rugosas presentan un borde irregular y una serie de bandas concéntricas que tienen distinta coloración blanco-grisácea (Foto 2).

19) *Colonias obtenidas de suspensiones microbianas tratadas con ácido salicílico*: La suspensión del cultivo 1^a, en solución bicarbonatada al 1 % de ácido salicílico, después de 30 minutos de contacto da origen, en agar infusión de carne, a colonias típicamente lisas (estado S) circulares, transparentes, a 37° C. no se comprueba la viscosidad característica de las colonias correspondientes a los estados «R» y «SR». *No adhieren al agar*. El diámetro promedio es de 1,5 mm de diámetro. La transferencia de estas colonias a caldo infusión de carne, da origen a cultivos viscosos que en el aislamiento superficial en agar infusión permite obtener estados «S».

19) *Caldo infusión de carne*: (24 horas 37° C.): El medio se presenta ligeramente turbio, en la superficie y adherido a las paredes se forma un copo blanquecino que forma filamentos hacia el fondo; al agitar suavemente el tubo, estos filamentos caen hacia el fondo con mucha lentitud y los más pequeños quedan en la masa líquida; en el fondo del tubo se aprecia abundante sedimento que por agitación vigorosa se eleva lentamente, arrollándose. El medio tiene consistencia viscosa. Al tocar con el alambre la película superficial como el sedimento y luego retirarlo, se forman «hilos» que, tal como ocurre con los cultivos desarrollados en agar, suelen alcanzar varios centímetros de largo. A medida que progresa el tiempo de incubación, el sedimento es mayor. Parte de la película blanquecina superficial aumenta de tamaño y estando parcialmente sumergida, presenta varios filamentos hacia la profundidad; por agitación caen lentamente hacia el fondo, quedando un anillo blanco marcado en la pared interna del tubo, que no desaparece aún des-

pués de prolongada agitación y contacto con el líquido. El medio de cultivo está, después de 48 horas, muy espeso y al agitar con vigor, las burbujas de aire que penetran se dirigen lentamente hacia la superficie y el sedimento se eleva formando una masa cónica densa y ondulada que tarda en volver a la situación primitiva.

20) *Caldo-suero*: (24 horas 37° C.): Cultivo parecido al que se presenta en caldo infusión de carne, se forma un verdadero velo que flota y queda despegado de la pared del tubo, además se presenta en la masa líquida desarrollo granular contra las paredes del tubo.

21) *Caldo-hígado*: (24 horas 37° C.): Se produce enturbiamiento uniforme sin velo ni depósito, a medida que progresa el tiempo de incubación, se forma escaso sedimento granular y el medio no presenta la viscosidad de los cultivos desarrollados en caldo infusión.

22) *Caldo con selenito ácido de sodio*: (8 días a 37° C.): No se aprecia desarrollo.

23) *Caldo tetrionato*: (8 días a 37° C.): No se aprecia desarrollo.

24) *Caldo con tetrionato y verde brillante*: (Müller-Kauffmann): Después de 8 días de incubación a 37° C. no se aprecia desarrollo.

25) *Caldo infusión con trozos de carne*: (24 horas 37° C.): Desarrollo abundante, turbiedad uniforme, formación parcial de velo blanquecino, adherido en parte a la pared del tubo y que al desprenderse deja marcado en el vidrio un anillo incompleto. Hay escaso sedimento.

26) *Caldo glucosado*: (tubo de Hall): Desarrollo abundante en ambas zonas. Abundante sedimento viscoso-blanquecino que se eleva en «escalera de caracol». No se forma velo.

27) *Agua peptonada*: (24 horas 37° C.): Enturbiamiento poco pronunciado sin velo ni depósito.

28) *Caldo Tarozzi con tapón de vaselina*: (24 horas 37° C.): Abundante desarrollo, turbiedad uniforme; no hay desprendimiento de burbujas; muy escaso sedimento.

29) *Caldo glicerinado al 5 %*: (48 horas 37° C.): Se forma velo denso, blanquecino y pegajoso; sedimento escaso y entre ambos, escasa turbiedad de la masa líquida; por agitación vigorosa se desprende el velo formando un ovillo que tarda en caer al fondo del tubo. El anillo que queda adherido en la pared interna del tubo es marcadamente visible.

d) *Vitalidad y resistencia:*

1) Los cultivos desarrollados en la superficie del agar infusión de carne no presentan signos de vitalidad después de permanecer a 37° C.

alrededor de 40 días, en cambio los cultivos mantenidos a temperatura ambiente resisten más de 55 días.

2) Los cultivos en caldo permanecen vivos en las mismas condiciones algo más de 60 días respectivamente.

3) El enfriamiento a $+ 5^{\circ}$ C. no aumenta el período de supervivencia en algunos cultivos, por el contrario lo acorta ya que viven entre 14 y 17 días (desarrollo en agar) y 20-22 días (desarrollo en caldo).

4) Cultivos desecados al vacío y mantenidos en ambiente seco y a baja temperatura ($+ 6^{\circ}$ C.) viven más de 60 días.

5) Estos microorganismos no resisten mucho frente al calor y los antisepticos usuales siendo destruídos después de permanecer 2 minutos a 100° C., 40 minutos a 60° C. y 24 horas a 44° C.

El formol al 1 % los destruye en 1 minuto; al 1 ‰ no los destruye en 30 minutos, pero después de 24 horas de contacto los mata. El fenol al 1 % los destruye en 1 minuto, al 1 % no los destruye en 30 minutos. El ácido salicílico al 1 % en solución bicarbonatada no los destruye después de 30 minutos de contacto, en forma similar se comporta la solución al 1 ‰. El permanganato de potasio en solución al 1 ‰ los destruye en 1 minuto. El alcohol etílico de 60° los destruye en 1 minuto. El alcohol etílico de 96° los destruye en 5 minutos.

6) La penicilina (sal sódica) actúa en medio líquido inhibiendo el desarrollo hasta la concentración de 1|10 de Unidad Oxford por ml. En medio sólido se produce zona de inhibición de 14 mm de diámetro hasta la concentración de 0,075 de Unidad Oxford por ml. Los controles de vitalidad demuestran que hasta la concentración señalada hay efecto bactericida. (Después de 24 horas de contacto).

La estreptomycinina inhibe el desarrollo en medio líquido, hasta la concentración de 0,034 mg por ml. Probablemente su acción inhibitoria se cumple a concentraciones más bajas, ya que los resultados obtenidos no han permitido llegar a la mínima concentración que produzca efecto inhibitorio en medio líquido. A la concentración aludida este antibiótico se muestra bactericida. (Después de 24 horas de contacto).

7) El sulfatiazol, inhibe el desarrollo en medio líquido hasta la concentración de 0,00022 g. por ml. En estos ensayos se empleó solución al 5 %. A la concentración señalada, la droga tiene efecto bactericida. (Después de 24 horas de contacto).

e) *Relaciones con el oxígeno:*

Desarrolla tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, pero en presencia de oxígeno lo hace en forma más vigorosa.

f) *Relaciones con el pH:*

Los medios con pH vecinos a la neutralidad o ligeramente alcalinos, (7,2-7,4) le son particularmente favorables; pH inferior a 6,0 y superior a 9,0 no favorece la multiplicación.

g) *Cromogénesis:*

No produce pigmento en los medios estudiados.

h) *Relaciones con la temperatura y fisiológicas:*

A temperatura ambiente (+ 20° C.) comienza a desarrollar débilmente, sin presentar velo ni la viscosidad característica (48-72 horas). El mejor desarrollo se obtiene a 37° C. A 44° C. y a + 6° C. no desarrolla después de 4 días.

i) *Pruebas bioquímicas y fisiológicas:*

1) *Acción sobre la leche tornasolada:* Después de 24 horas de incubación a 37° C. la reacción indica poca acidez, transcurridos dos días de incubación, el medio se vuelve espeso y filante, al 3er. día de incubación se inicia la decoloración de la parte inferior del medio que toma las 3/4 partes de la columna líquida; entre el 10° y 12° días consecutivos de incubación, se produce coágulo blando que no se redisuelve, al menos hasta el 15° día.

2) *Acción sobre los nitratos:* (24 horas 37° C.): Reduce a nitritos, en caldo adicionado de 1 % de nitrato de potasio.

3) *Prueba del Rojo de Metilo:* (8 días 37° C.): No hay desarrollo en el medio peptona-glucosa-fosfato.

4) *Prueba de Voges-Proskauer:* (8 días 37° C.): No hay desarrollo en el medio peptona-glucosa-fosfato.

5) *Medio sintético citratado de Koser:* (8 días 37° C.): No se presenta desarrollo.

6) *Producción de SH₂:* Negativa.

7) *Producción de indol:* Negativa.

8) *Hemólisis en agar sangre:* Negativa.

9) *Acción sobre la gelatina:* (30 días 37° C.): No licua.

10) *Medio «tamponado» con urea:* (Prueba R.S.S.): (8 días 37° C.): No hay desarrollo.

11) *Medio semisólido-lactosa-urea-doble indicador:* Viraje hacia el color azul en 24 horas a 37° C., se intensifica a las 48 horas debido a la hidró-

lisis de la úrea. Después de varios días el trazo de punción presenta tonalidad amarillenta dentro de la masa azul del medio.

12) *Producción de catalasa*: (24 horas 37° C.): En agar infusión de carne no hay producción de catalasa.

13) *Prueba de Eijkman para shigelas*: Negativa.

14) *Caldo Mac Conkey*: Se presenta desarrollo, después del 2° día de incubación a 37° C. el medio aclara algo y entre el 6° y 8° días se presenta débil acidificación.

15) *Pruebas de fermentación*: Se presenta producción débil de ácido solamente, en los medios basales conteniendo las siguientes sustancias: celobiosa, dextrina, galactosa, levulosa, lactosa, maltosa, manita, manosa, melibiosa, rafinosa, sacarosa, trehalosa, xilosa.

No presenta acción sobre: arabinosa, dulcita, eritrita, inulina, melicitosa, ramnosa, salicina y sorbita.

j) *Reacciones serológicas*:

Cultivos en agar de 24 horas de incubación a 37° C suspendidos en solución fisiológica hasta turbiedad similar al tubo N° 2 del nefelómetro de Mac Farland e inyectados al conejo por vía endovenosa, desde 0,5 ml hasta 2,5 ml cada 3 días y cumpliendo un mínimo de 7 inoculaciones, dan origen a la producción de anticuerpos aglutinantes y precipitantes. El cultivo en estudio fué probado frente a los siguientes sueros aglutinantes anti-shigelas: Flexner V, W, X, Z, Y; Boyd 8 8, 103, P119, P274, P288, P143, D1, D19, 170; Sonnei I, Sonnei II, Alkalescens 2, 5 y 6 Dispar 1, 2 y 3; Newcastle 1 y 7; Schmitz; Sachs A12; B105, Q771, Q1030, Q1167, B81, Q454, Q902; Etousa; Gober 8524 y Nuevo tipo 1.831., sin que ninguno de ellos produjera aglutinación, salvo el Sonnei I que originó grumos tardíos y aparentemente sin significado como para considerar relaciones antigénicas.

k) *Poder patógeno*.

Fué probado por inoculación de cultivos de 24 horas de incubación a 37° C desarrollados en agar infusión, vigorosamente agitados hasta obtener suspensión bastante homogénea de una turbiedad correspondiente al tubo N° 2-3 del Standard de Mac Farland.

1) *Laucha blanca* (20-25 g)

Subcutáneo: (Dosis 0,5 ml) Los animales resisten sin morir. No se presenta chancro de inoculación.

Intraperitoneal: (Dosis 0,5 ml). Algunos animales mueren antes de 20 horas, otros resisten más tiempo, en general sucumben antes de trans-

curridas 30 horas después de inoculados. Antes de que se produzca la muerte dejan de comer, permanecen inmóviles con la cabeza inclinada hacia abajo, el pelo erizado, los ojos entornados o cerrados, los movimientos son sumamente limitados y al avanzar se aprecia incoordinación y tendencia a perder el equilibrio. En la autopsia algunos ganglios superficiales se presentan congestionados y hemorrágicos; en la cavidad abdominal suele presentarse derrame sero-hemorrágico. Por lo general hay gran acumulación de gases en el intestino delgado, en algunos segmentos se constata la presencia de contenido amarillento-viscoso en cantidad apreciable; en algunos animales se aprecia congestión renal y zonas con pequeñas hemorragias difusas. En la cavidad torácica escaso exudado seroso, a veces líquido en el saco pericárdico. Pulmones color rojo anaranjado, a veces con zonas congestivas.

Los retrocultivos practicados de los distintos órganos indican que *Sh. equuli* se aísla del corazón, riñón, cerebro, exudado peritoneal y líquido pericárdico.

Si se disminuye la dosis, las lauchas resisten la inoculación. La inyección de aproximadamente 15.000, 35.000 y 70.000 gérmenes (recuento viable en agar infusión) no tiene efecto mortal.

3) Conejo.

Subcutáneo: (Dosis: 1 ml). Después de 24 horas se forma un nódulo de aproximadamente 1 cm de diámetro, sin que la piel esté afectada. No hay calor local y la rubefacción es muy escasa. A las 48 horas el abultamiento retrocede, la piel continúa sin cambios y a las 96 horas la zona adquiere aspecto normal.

Endovenosa: (Dosis: 1 ml). Los animales permanecen aparentemente normales, salvo en lo que respecta a los puntos de inoculación. Sobre 4 conejos inoculados para obtener sueros aglutinantes, se comprobó en 3 de ellos hematoma en la zona inoculada, espesamiento de los tejidos, dolor y posterior inutilización de la vena, lo que dificultaba las inoculaciones en serie, debiéndose utilizar la vena central y la transversal de la base del pabellón auricular. Los animales afectados se resisten a la inoculación, el espesamiento tisular del lugar no favorece la correcta inyección. En algunos animales existen aparentemente trombosis venosas a la altura de los puntos inoculados ya que el líquido que se inyecta, se desplaza por las venas colaterales sin pasar por el lugar afectado.

2) Cobayo (160 g 340 g).

Subcutáneo: (Dosis 0,5 ml). Después de 24 horas se presenta a la palpación espesamiento debajo de la piel en el sitio inoculado, generalmente

se presenta rubefacción; la elevación de la piel no es pronunciada, salvo en algunos animales que da lugar a la formación de un nódulo indurado. En otros sujetos, entre 24 y 48 horas, se aprecia en el punto inoculado una parte ulcerada con pérdida de tejido superficial de contorno irregular (Foto N° 4) estando la depresión ocupada por una escara consistente y seca de color rojo oscuro. Al borde de la úlcera continúa tejido edematizado y zonas de rubefacción, hay dolor a la presión suave. Después de 48 horas se notan en algunos sujetos ulceraciones de hasta 1,5 cm de diámetro (aproximado), los tejidos circundantes y subyacentes respecto de la ulceración no han variado mucho. Al tomar entre pulgar e índice, a manera de pinza, los extremos de un mismo diámetro de la úlcera, con suave presión hacia abajo, se percibe la extensión de la zona indurada que es de mayor superficie que la úlcera y en donde el conectivo subcutáneo produce la sensación de estar soldado con la piel y los planos inferiores. Después de transcurridas 96 a 144 horas, aparecen pocos cambios en algunos animales. Posteriormente el borde de la úlcera puede presentarse algo elevado y fluctuante, de color amarillento, poco más tarde se inicia el desprendimiento de la escara, la que una vez eliminada deja en descubierto, en el fondo, zonas rojas y amarillentas. Los exámenes bacteriológicos practicados en estos momentos no permiten en todos los casos aislar *Sh. equuli*. Las acciones mecánicas favorecen el desprendimiento de la costra y aún la prematura apertura de algunos abscesos que contienen pus cremoso con estrías sanguinolentas. La palpación de los ganglios inguinales indica un aumento de tamaño. Los animales no pierden el apetito, algunos enflaquecen transitoriamente. Una vez desprendida la costra ésta es repuesta rápidamente y mientras el proceso se resuelve con lentitud hacia la cicatrización, se pueden producir 2 y 3 cambios con sus respectivas reposiciones.

Se han inoculado también cobayos de piel fina, no pigmentada, con 0.5 y 1 ml de cultivo en caldo de 24 horas de incubación a 37° C y se ha notado antes de las 24 horas, la zona indurada, rubefacción superficial y coloración rojo-violácea, con escasa pérdida de sustancia en el punto inoculado. Posteriormente se forma un absceso fluctuante, que por lo general se abre espontáneamente, posiblemente favorecido por acción mecánica; en el punto abierto se forma una escara. Si se retira la escara y se elimina el pus se produce rápida reparación de la lesión. En interesante señalar que los cultivos directos y de enriquecimiento del pus formado, extraído entre 4 y 6 días de la inoculación, suelen permanecer estériles, (controles aerobios y anaeróbicos). En una ocasión se halló una contaminación accidental en un absceso en donde, además de *Sh. equuli*,

pudo aislarse una bacteria fusiforme anaerobia morfológicamente distinta de *F.necrophorum*.

Intraperitoneal: (Dosis 1|2, 1 y 2 ml).

Solamente la dosis de 2 ml produce la muerte de algunos animales la que por lo general ocurre antes de 30 horas. En la autopsia se comprueba que los ganglios superficiales están algo aumentados y hemorrágicos, en el punto de inoculación los tejidos se encuentran inflamados y hemorrágicos. Hay derrame sero-hemorrágico-viscoso en la cavidad abdominal. Las vísceras en general se presentan congestionadas, el peritoneo está engrosado e infiltrado (peritonitis). En el intestino grueso se presentan zonas hemorrágicas; entre las ansas intestinales el exudado viscoso determina la formación de pseudoadherencias. En el estómago e intestino delgado se alojan gases y hay contenido líquido viscoso. Los ganglios mesentéricos ligeramente aumentados de tamaño y hemorrágicos. Bazo e hígado algo aumentados, la superficie humedecida por el exudado peritoneal; al tocar con los instrumentos se forman «hilos» debido a la viscosidad. Riñones algo aumentados, la vejiga presenta algunas petequias y pequeñas hemorragias difusas, las cápsulas suprarrenales congestionadas y con pequeñas zonas hemorrágicas. Aparato genital femenino intensamente congestionado especialmente el cuerpo y cuernos del útero. En la cavidad torácica hay derrame serosanguinolento, los pulmones presentan color rosado con zonas hemorrágicas. Si se coloca un trozo de pulmón en agua, éste flota. Los retrocultivos demuestran que *Sh. equuli* se encuentra en el exudado peritoneal y en el interior del útero. Permanecen estériles los cultivos efectuados a partir del bazo, hígado, pulmón, sangre, riñón, exudado torácico y médula ósea.

4) *Cerdo* (Lechón de 30 días).

Subcutáneo: (Dosis 2 ml). No hay reacción local, el animal permanece aparentemente normal.

5) *Caballo* (1 1|2 año):

Subcutáneo: (Dosis 3 ml).

Después de 24 horas hay decaimiento, anorexia, materias fecales blandas, en el punto de inoculación se palpa una induración alojada entre la piel y la masa muscular, de aproximadamente 5 cm de diámetro, la zona correspondiente presenta calor y el animal acusa dolor a la presión suave. Después de 48 horas el sujeto come, las materias fecales son normales, el punto inoculado presenta calor y hay dolor, la piel forma pequeña elevación sobre la base indurada y a la presión suave se nota el comienzo de una colecta líquida. A las 96 horas se presenta un absceso

fluctuante, circunscripto, con elevación de alrededor 2 cm con respecto al nivel normal de la piel. Al puncionar se extrae con facilidad pus amarillento líquido, mal ligado (cortado), algo filante, inodoro. Al 6° día el absceso se abre espontáneamente, posiblemente por causa mecánica y el pus dreña, posteriormente cesa la salida de pus, se forma tejido de granulación y después de 20 días hay cicatrización. En otros animales se forma el absceso, pero este no llega a abrir espontáneamente. Mientras la infección es activa (10 primeros días) el ganglio submaxilar está ligeramente aumentado de tamaño. Los retrocultivos a partir del pus indican la presencia, en cultivo puro de *Sh. equuli*.

Endovenosa: (Dosis 3 ml). Animal de alrededor de 10 años de edad. A las 24 horas el punto de inoculación se encuentra aparentemente normal, el sujeto presenta a las 3 horas de inoculado ligera hipertermia durante aproximadamente 6 horas, en este tiempo el pulso está algo acelerado y hay aumento de los movimientos respiratorios. El apetito se conserva. Durante algunos días se presentan modificaciones de pulso, temperatura y movimientos respiratorios. Después de varios días el sujeto enflaquece ostensiblemente.

6) *Bovino* (1 1/2 año):

Subcutáneo: (Dosis 3 ml).

A las 24 horas alrededor del punto inoculado hay pequeña pérdida de la porción superficial de la piel, es poco visible este detalle. Al palpar se nota espesamiento que no alcanza a producir elevación y que se mantiene varios días. La punción demuestra que no hay colecta purulenta o de otra naturaleza. No hay calor ni dolor local. Lentamente la parte indurada va desapareciendo.

7) *Perro*:

Subcutáneo: (Dosis 2 ml.) No hay reacción local ni general, los sujetos permanecen aparentemente normales.

Intraperitoneal: (Dosis 2 ml.) No hay reacción local ni general, los sujetos permanecen aparentemente normales.

8) *Paloma*:

Subcutáneo: (Dosis 1 1/2 ml.) A las 48 horas hay rubefacción; debajo de la epidermis y sin elevarla se aprecia la formación de placas amarillentas formando islotes. A las 72 horas la piel está íntegra, debajo se nota color violado en una extensión aproximada de 0,5 cm². Posteriormente se forma una costra que al retirarla pone en descubierto una zona ulce-

rada roja, y húmeda, que cicatriza lentamente. El animal no aparece muy afectado, conserva el apetito y vivacidad.

9) *Rata:*

Subcutáneo: (Dosis 2 ml.) A las 24 horas, se presenta en el punto inoculado infiltración consistente debajo de la piel de aproximadamente 3 cm. de diámetro. Posteriormente la zona se normaliza sin que se forme absceso o se altere la piel, Los animales permanecen en apariencia normales.

Intraperitoneal: (Dosis 2 ml.) A las 24 horas, aparentemente normal. En el punto inoculado no se notan alteraciones. En los días sucesivos se comprueba marcado enflaquecimiento progresivo. El apetito está conservado.

10) *Embrión de pollo:*

La inoculación de embriones de pollo, de 9 a 10 días de edad, por ruta intraalantoides, a la dosis de 0,025, 0,05 y 0,1 ml. de cultivo en caldo infusión de 6 horas de incubación a 37° C., no afecta la vitalidad de los mismos.

III) ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DE LOS CULTIVOS 3⁴, c y d¹ (Representantes del «Grupo Paracoli»).

a) *Morfología:*

Los cultivos de 24 horas incubados a 37° C. desarrollados sobre agar infusión de carne son pleomórficos. Se presentan formas cocoides y cocobacilares de tamaño promedio $0,5 \mu \times 1 \mu$ - $1,5 \mu$, algunos bastones cortos de hasta 3μ y algunos elementos largos y curvados de alrededor 20μ .

La movilidad es escasa y algunos cultivos se presentan inmóviles. No se forman esporas ni cápsulas.

b) *Tinción:*

Los cultivos en agar infusión de carne de 24 horas de incubación a 37° C. no tienen gran afinidad tintórea por los colorantes básicos. Algunos cultivos presentan predominio de formas bipolares. No toman el Gram y no son ácido-alcohol resistentes.

c) *Cultivos:*

1) *Agar infusión de carne:* (48 horas 37° C.): Desarrollan bien, aspecto transparente, superficie brillante, bordes ondulados. Desarrollo

similar al de las bacterias que pertenecen a los géneros *Escherichia* y *Salmonella*, en el estado normal. A veces en los bordes se presentan elevaciones de consistencia mucosa. La suspensión en solución fisiológica se hace sin dificultad permaneciendo homogénea.

2) *Agar infusión de carne semisólido*: (24 horas 37° C.): No difunde por todo el medio, a partir del trazo el desarrollo queda limitado por una tenue opalescencia que sólo se extiende 1 a 2 mm del eje principal.

3) *Agar suero y agar ascitis*: (24 horas 37° C.): Similar al cultivo en agar infusión pero algo más vigoroso.

4) *Agar sangre de caballo*: (24 horas 37° C.): Se forma una pátina blanco-grisácea brillante de borde ligeramente ondulado, no hay hemólisis. α o β , después de 3 días de incubación el medio adquiere un tinte bastante característico que recuerda al que posee el chocolate.

5) *Agar Sabouraud*: (24 horas 37° C.): Se observa desarrollo tenue, brillante y transparente. No aumenta por ulterior incubación.

6) *Agar Mac Conkey*: (24 horas 37° C.): Desarrollo poco vigoroso de superficie rugosa, borde irregular, color rojo.

7) *Agar desoxicolato citrato*: (8 días 37° C.): No se observa desarrollo.

8) *Agar con verde brillante*: (Kristensen, Lester y Jürgens): Después de 8 días de incubación a 37° C., no se observa desarrollo.

9) *Agar Wilson-Blair*: (8 días 37° C.): No se observa desarrollo.

10) *Agar blando glucosado 1 ‰*: (48 horas 37° C.): Desarrollo en superficie y en profundidad. Colonias de 0,5 mm de diámetro, forma de disco.

11) *Papa glicerizada*: (24 horas 37° C.): Pátina color amarillo limón, poco elevada, de superficie brillante.

12) *Agar glicerinado al 5 ‰*: Desarrollo similar al que se obtiene en agar suero.

13) *Colonias en agar infusión*: A las 24 horas de incubación a 37° C. las colonias alcanzan, cuando están bien aisladas, hasta 4 mm de diámetro; son circulares y a la luz transmitida se aprecian varias bandas concéntricas. Esta diferenciación aparece después de las 24 horas. Algunas colonias se han presentado con el centro más claro y borde blanquecino, (Fotos Nos. 7 y 8) muy característico. Se observan colonias de 0,5 mm de diámetro, redondas y lisas.

14) *Colonias en agar suero*: Similar a lo que ocurre en agar infusión, a veces suelen presentarse 2 ó 3 colonias englobadas en una cápsula mucoide (Foto N° 6).

15) *Caldo infusión de carne*: (24 horas 37° C.): Hay enturbiamiento uniforme, no se forma velo y se aprecia sedimento que por agitación se desintegra con facilidad.

16) *Caldo suero*: (24 horas 37° C.): Hay desarrollo granular, preferentemente adosado a una porción de la pared interior del tubo, el sedimento es abundante y granular. No se forma velo.

17) *Caldo hígado*: (24 horas 37° C.): Enturbia uniformemente, no se forma velo. El sedimento es granular.

18) *Caldo con selenito ácido de sodio*: (8 días 37° C.): No se aprecia desarrollo.

19) *Caldo tetrionato*: (8 días 37° C.): Desarrolla pobremente.

20) *Caldo con tetrionato y verde brillante (Müller-Kauffmann)*: Después de 8 días de incubación a 37° C., no se aprecia desarrollo.

21) *Caldo infusión con trozos de carne*: (24 horas 37° C.): Enturbia originando sedimento blanquecino de fácil desintegración por agitación.

22) *Agua peptonada*: (24 horas 37° C.): Enturbia ligeramente, no hay velo ni depósito.

23) *Caldo glicerinado 5 ‰*: (48 horas 37° C.): Enturbia uniformemente sin originar velo. Escaso depósito.

d) *Relaciones con el oxígeno*: Desarrolla bien en aerobiosis y en anaerobiosis.

e) *Relaciones con el pH*: Desarrolla entre pH 5,0 y 9,0.

f) *Cromogénesis*: En los medios estudiados produce pigmento amarillo limón solamente en papa glicerinada.

g) *Relaciones con la temperatura*: Óptima 37° C., escaso desarrollo a 6° C. y temperatura ambiente; nulo a 44° C.

h) *Propiedades bioquímicas y fisiológicas*

1) *Acción sobre la leche tornasolada*: Hay rápida formación de ácido; después de 4 a 6 días de incubación a 37° C., el tornasol es reducido. No se comprueba formación de coágulo hasta alrededor del 15° día.

2) *Acción sobre los nitrosos*: (24 horas 37° C.): Reduce a nitritos.

3) *Rojo de Metilo*: (48 horas 37° C.): Positiva.

4) *Acetil-Metil-Carbinol*: (48 horas 37° C.): No produce,

5) *Desarrollo en medio de Koser*: (8 días 37° C.): No desarrolla.

6) *Producción de SH₂*: Débilmente positiva.

7) *Producción de indol*: Negativa.

8) *Hemólisis en agar sangre de caballo*: Negativa.

9) *Acción sobre la gelatina*: (30 días 37° C.): No licua.

10) *Medio «tamponado» con urea*: (Prueba R. S. S.): No desarrolla.

11) *Medio semisólido-lactosa-urea-doble indicador*: En los primeros 6 días de incubación a 37° C. no modifica el color, entre el 6° y 10° día se presenta coloración rosada en la parte superior, entre el 20° y 30° día, color rojo débil en toda la columna del medio.

12) *Producción de catalasa*: Positiva.

13) *Caldo Mac Conkey*: Enturbia discretamente, entre 5° y 8° día el medio se decolora algo. No se forma gas.

14) *Pruebas de fermentación*: Produce ácido y en forma débil, tardía e inconstante, a veces una pequeña burbuja de gas en los siguientes medios azucarados: glucosa, sacarosa, galactosa, manita, melibiosa, levulosa, trehalosa, arabinosa, xilosa, maltosa, ramnosa, celobiosa y manosa. En foma inconstante débil y tardía, produce ácido en: salicina, rafinosa y lactosa. No modifica las siguientes sustancias: inulina, melezitosa, dulcita, eritrita, sorbita y dextrina.

i) *Reacciones serológicas*: Los cultivos desarrollados sobre agar infusión de carne (24 horas 37° C.) y suspendidos en solución fisiológica, a pesar de formar suspensiones homogéneas presentan reacción fuertemente positiva con la solución al 1/500 de tripaflavina. La selección de colonias en agar infusión de carne no permite recuperar cultivos que presenten las características adecuadas para su estudio serológico. Por otra parte los cultivos fueron probados con distintos sueros aglutinantes anti-salmonelas y anti-paracoli, en pruebas de aglutinación por «toques», presentando reacción positiva con casi todos ellos pero estando las mismas desprovistas de significado diagnóstico.

j) *Poder patógeno*: Se inocularon suspensiones en solución fisiológica, procedentes del lavado de cultivos de 24 horas de incubación a 37° C, hasta una opalescencia similar al tubo N°. 2 del nefelómetro de Mac Farland.

1) *Laucha*: (20-25 g.): Dosis 0,25 ml. Por ruta subcutánea e intraperitoneal, los animales sobreviven después de presentar ligero decaimiento durante las primeras 10 horas, traducido por anorexia, quietud y erizamiento de los pelos. Posteriormente permanecen aparentemente normales.

2) *Cobayo*: (200-350 g.): Dosis 0,5 ml. Por vía subcutánea e intraperitoneal, permanecen en apariencia normales.

3) *Conejo*: (1,500-2,000 g.): Dosis 2 ml.:

Subcutáneo: A las 24 horas ligera rubefacción y en el punto inoculado escasa elevación; a las 48 horas el sujeto se encuentra aparentemente normal.

Endovenosa: No se presentan alteraciones.

4) *Caballo*: (1 1/2 año): Dosis 3 ml.:

Subcutáneo: No se presentan alteraciones salvo una zona indurada en el punto inoculado que se mantiene durante 4 a 5 días. posteriormente puede formarse un absceso que se abre espontáneamente.

5) *Bovino*: (2 años): Dosis 3 ml.

Subcutáneo: Se forma una zona indurada en el sitio inoculado que posteriormente retrocede después de 8 a 12 días.

CONSIDERACIONES GENERALES

En el presente trabajo se ha adoptado la designación *Shigella equuli* (VAN STRAATEN)¹ DIMOCK, EDWARDS Y BRUNER (6), que se entiende es provisoria, pues la validez de la designación genérica se presta a discusión. Por el momento no se harán consideraciones «in extenso» sobre este particular, que ha de ser motivo de otro trabajo.

Por lo que se refiere al diagnóstico bacteriológico de *Sh. equuli*, este permitió excluir los microorganismos que podían dar motivo a error. Comparando los resultados que se citan en este estudio, con los referidos por otros investigadores (6) (7) (8) (11) (13), se observa que hay marcada coincidencia en todos los puntos fundamentales. El análisis de los resultados obtenidos en las pruebas de poder patógeno realizadas con animales de laboratorio, permite constatar diferencias que podrían ser debidas al hecho de haber realizado las experiencias con cultivos de reciente aislamiento y que se traducen por la aparente actividad flebítica-trombosante observada en los pabellones auriculares de varios conejos, destinados a la preparación de sueros diagnósticos, como así también por la probable acción dermonecrótica-ulcerativa de algunos cobayos inyectados por la vía subcutánea. Estos hechos son indicadores de que este cultivo posee actividad agresora, de la que no se han encontrado precisas referencias en la bibliografía consultada y que merece ser estudiada más intensamente.

Con respecto a las pruebas bioquímicas, se hace resaltar que este microorganismo produce, dentro de las primeras 24 horas de incubación a 37° C., hidrólisis de la urea, la que se pone de manifiesto en el medio que se ha recomendado para la caracterización de colonias sospechosas formadas por algunas bacterias intestinales (16). En este medio, que contiene urea, lactosa y los indicadores de Andrade y azul de timol, se produce viraje hacia el color azul, que se inicia aproximadamente a las 12 horas de incubación a 37° C.; se aprecia que, mientras el medio permanece azul, el trazo, especialmente en la parte superior y después de 48 horas presenta tonalidad amarillenta, forma ésta, de reaccionar, que no es compartida, salvo *Sh. alkalescens*, por otros integrantes del género *Shigella*. Tampoco el cultivo estudiado se multiplica en el medio fuertemente «tamponado» de Stuart y colaboradores (22), a diferencia de las

¹ Por lo que se refiere a *Sh. equuli*, el trabajo original de *van Straaten*, que corresponde a la primera designación binomial y que fué publicado en 1918, no se ha podido aún consultar; las fuentes de información están representadas por el *Bergey's Manual* (1948) y la publicación de Dimock, Edwards y Bruner (1947).

bacterias del género *Proteus* que en este último medio hidrolizan rápidamente urea. Se recuerda que algunos representantes del «Grupo Paracoli», incluso anaerogénicos, reaccionan en ambos medios en forma similar a como lo hace *Shigella equuli*.

Otra propiedad digna de ser destacada es que el cultivo de *Shigella equuli* estudiado, no produce catalasa, característica que serviría para explicar su limitada vitalidad, especialmente en algunos cultivos aerobios de los estados «S», desarrollados sobre medios sólidos. Dentro del género *Shigella*, algunos de sus integrantes, entre ellos *Shigella dysenteriae*, también poseen esta propiedad, aunque la gran mayoría son productores de catalasa. Puede agregarse que los integrantes del «Grupo Paracoli» que se ha tenido oportunidad de estudiar (15), son catalasa positivos.

Por lo que se refiere a la vitalidad en los medios comunes de laboratorio la misma no es tan limitada, ya que después de 2 meses, cultivos abandonados a temperatura ambiente desarrollados en agar o caldo infusión de carne permiten obtener subcultivos característicos. La desecación que ocurre en los medios sólidos y el tiempo en que ésta se cumple parecen influir también en la muerte prematura de las células, sin embargo los cultivos jóvenes rápidamente desecados y conservados en el vacío, a baja temperatura resisten algo más de 2 meses en estas condiciones.

Con respecto al representante del «Grupo Paracoli» estudiado, debe expresarse: que constituye ardua tarea asignar ubicación sistemática a las bacterias que comúnmente se las designa como pertenecientes al «Grupo Paracoli». Los intentos taxonómicos realizados por diversos autores, hasta este momento, no cuentan con gran aceptación, es así que en el último manual de Bergey (1) figura como apéndice, sólo una parte de las sugerencias de Borman y colaboradores (2) quienes a favor de una gran experiencia, han propuesto, sobre la base de propiedades morfológicas, tintoriales y bioquímicas, una clasificación que merece ser tenida en cuenta. Gran parte de los estudios de los investigadores últimamente citados se deriva de los resultados aportados previamente por Stuart y colaboradores (21) quienes efectuaron también un estudio taxonómico alentador acerca de estos microorganismos. Por lo que se refiere a lo aquí actuado, se ha recurrido con preferencia a estos trabajos como fuente de información, con el propósito de ubicar al microorganismo en estudio, el que por sus características, no coincide con ninguno de los señalados por los autores citados. Las diferencias encontradas con respecto al género *Paracolobactrum* Borman, Stuart Wheeler (1944) y a *P. coliforme* Borman, Stuart y Wheeler (1944) en particular, podrían quizá justificar la asignación de una nueva categoría taxonómica. Como

carácter sobresaliente el cultivo estudiado estaría comprendido dentro de los «paracoli anaerogénicos» en el concepto de Stuart y col., debido a que preferentemente produce ácido solamente en los medios con los azúcares que fermenta, aunque en algunos cultivos se presenta, en forma extremadamente inconstante y tardía una pequeña burbuja de gas, que se forma en los medios con levulosa, ramnosa, lactosa, rafinosa y glucosa. La formación débil inconstante y tardía de una burbuja gaseosa en algunos medios con azúcares, no coincide por lo tanto con la definición del género *Paracolobactrum*; salvo la fermentación de lactosa, las especies que forman este género, son activas productoras de ácido y gas. En lo que se refiere a las propiedades bioquímicas diferenciales de significación taxonómica, el cultivo en estudio difiere de *P. coliforme* debido a que no produce indol. Dado que no es posible asignarle ubicación sistemática precisa, este es un problema que queda a resolver. En el presente estudio se consigna provisoriamente como integrante del «Grupo Paracoli» que por sus características no coincide con los datos aportados por Stuart y colaboradores y por Borman y col.

En el representante del «Grupo Paracoli» estudiado, se destacan el polimorfismo y el aspecto bipolar de los cultivos desarrollados en caldo y teñidos, previa fijación con alcohol-éter; con solución de azul de metileno. Los cultivos en general son poco característicos en los medios comunes del laboratorio. Un tipo de colonias cuya descripción corresponde a las Fotos Nos. 7 y 8 y que fuera obtenido con facilidad en los primeros aislamientos, se fué perdiendo y no se ha podido recuperar en los sucesivos aislamientos. El desarrollo en agar sangre se caracteriza por presentar un cambio del color hacia el «chocolate». En las pruebas fermentativas, además de lo que ya se ha citado a propósito de la formación de gases en los medios con azúcares diversos, es interesante señalar el comportamiento frente a la lactosa, ya que este azúcar es fermentado en forma tardía e inconstante, se ha podido comprobar que a partir de un cultivo es posible obtener descendientes «lentos fermentadores» y aún negativos, a su vez de cada uno de éstos el fenómeno puede repetirse. Este especial comportamiento tiene valor, si se considera que la acción fermentativa sobre lactosa representa en el momento actual una propiedad de importancia para la clasificación de bacterias. En las pruebas de poder patógeno experimental no se han podido revelar propiedades agresoras en los cultivos ensayados, esto desde luego no autoriza a sostener que en condiciones especiales pueda poseerlo. Desafortunadamente los datos obtenidos del lugar en donde se produjo el aborto son limitados como para permitir apoyar alguna sospecha acerca de la probable interpretación que como infección natural pudiera darse a este hallazgo.

Acerca del significado patológico de *Shigella equuli* se debe expresar que varios investigadores extranjeros se han ocupado del tema (5) (6) (10) (11) (12) (13) (17) (19) (20) y todo parece indicar que hasta el momento actual no existe controversia en asignar a este microorganismo la etiología de algunos casos de enfermedades infecciosas sumamente serias que recaen en equinos de corta edad, cuyos cuadros clínicos corresponden principalmente a las septicemias de los recién nacidos o a las artritis de los potrillos y sus distintas formas clínicas. Todos estos padecimientos acusan índices de mortalidad verdaderamente alarmantes y las medidas terapéuticas son hasta este momento muy poco alentadoras. Si bien existe acuerdo acerca del significado etiológico de *Sh. equuli*, las opiniones se hallan divididas con respecto a la forma en que se produce la infección; algunos investigadores sostienen que la misma es extrauterina en cambio otros afirman que puede ser intrauterina (10) (17) (19) entre estos últimos se encuentra Dimock y sus colaboradores (6) de la Kentucky Agricultural Experimental Station, quienes con gran experiencia de estos problemas han podido afirmar, sobre la base de una serie de hechos, «que *Shigella equuli* se ha podido aislar del exudado uterino de yeguas madres en un número limitado de casos, que se ha podido comprobar signos de infección en animales recién nacidos, que los resultados obtenidos con las medidas tendientes a evitar la presentación de casos y conseguir el dominio de la infección son desalentadores y que *Shigella equuli* ha sido aislada de potrillos muertos al nacer y de infecciones pre-natales». Nuestro presente caso permitiría sospechar en una posible infección intrauterina por *Shigella equuli* a lo que debemos agregar juntamente con un representante del «Grupo Paracoli». De momento estamos incapacitados para informar si el microorganismo aislado solo o en combinación es capaz de inducir al prematura expulsión del feto. El hallazgo de *Shigella equuli* juntamente con *E. coli* ha sido señalada por autores extranjeros como agentes etiológico de septicemias y poliartritis en potrillos (19) (6).

En nuestro país y mientras se escribía el presente trabajo, apareció una publicación (9) que se refiere a un ensayo terapéutico en casos de poliartritis de potrillos, donde se hace constar el hallazgo de *Sh. viscosa* por primera vez en el país, aunque por el carácter de divulgación del mismo no se aportan los datos bacteriológicos. En conocimiento de que el trabajo completo se había entregado para su publicación se solicitó un duplicado del mismo¹. Al efectuar el análisis de los datos bacte-

¹ El autor agradece al Dr. C. Orliacq la entrega efectuada.

riológicos consignados en el mismo, se ha llegado a la conclusión de que los casos por estos autores estudiados, podrían ser debidos a *Shigella viscosa*, ya que no queda totalmente eliminada la posibilidad de que el microorganismo supuesto en causa pueda corresponder a otra especie microbiana parecida a *Sh. equuli*.

La demostración de que algunos integrantes del «Grupo Paracoli»¹ están dotados de poder patógeno en condiciones naturales o experimentales para el hombre y los animales, ha sido sustentada por algunos autores (4) (18) (22). En nuestro país pocas referencias existen acerca de la actividad patológica en estas bacterias, el autor ha podido observar que algunos «fermentadores lentos de lactosa» poseen marcado poder patógeno experimental en animales de laboratorio (15), también ha comprobado², en neumoenteritis de terneros, la presencia predominante de bacterias del «Grupo Paracoli» en las materias fecales.

Sobre la probable ingerencia del microorganismo que motiva este comentario en el aborto producido, en combinación con *Sh. equuli*, ya se ha tratado en párrafos anteriores. Con respecto al posible papel, que por separado puede tener en patología equina, nada se puede adelantar, salvo que en las pruebas experimentales esta bacteria no ha presentado poder patógeno evidente, aunque ello no autoriza a sostener que no lo posea, ya que se ha expresado que las pruebas de poder patógeno se encuentran dificultadas mientras no se disponga de adecuados animales de experiencia (22).

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos en las experiencias anteriormente señaladas, permite deducir las siguientes conclusiones:

1ª. — De la médula ósea de un feto equino abortado en un haras de la Provincia de Buenos Aires, se aísla *Shigella equuli* y un integrante del «Grupo Paracoli» cuya precisa ubicación sistemática queda a resolver.

2ª. — El hallazgo simultáneo en la médula ósea fetal equina de las bacterias aludidas, no concuerda exactamente con ninguna referencia de la bibliografía consultada.

3ª. — El cultivo de *Sh. equuli* estudiado, coincide en la morfología,

¹ Los términos «Grupo Paracoli», encuadrados en la 8ª. Recomendación del Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica (3), se emplean para designar a organismos relacionados entre sí, cuyas características se tratan en publicaciones citadas en la bibliografía (2) (15) (21).

² Inédito.

vitalidad y resistencia, propiedades tintoriales, de cultivo, bioquímicas, serológicas y patogénicas con las descripciones tenidas por clásicas. Con respecto al poder patógeno se comprueban en algunos cobayos y conejos inoculados subcutáneamente y por vía venosa, alteraciones tisulares superficiales hasta ahora no referidas.

4^a. — En el embrión de pollo, y a diferencia de otros representantes del género *Shigella*, el cultivo de *Sh. equuli* estudiado carece de poder patógeno.

5^a. — Quedan agregadas como pruebas de valor para el diagnóstico bacteriológico de *Sh. equuli*, la propiedad de hidrolizar urea y la ausencia de producción de catalasa.

6^a. — La penicilina, la estreptomina y el sulfatiazol, presentan acción bactericida «in vitro» sobre el cultivo de *Sh. equuli* estudiado; por otra parte, las soluciones de ácido salicílico son comparativamente mucho menos eficaces.

RESUMEN

En el presente trabajo se dan a conocer los resultados de un estudio bacteriológico efectuado sobre cultivos obtenidos de la médula ósea de un feto equino abortado en un establecimiento ganadero situado en la Provincia de Buenos Aires. *Shigella equuli* y un representante inconstantemente anaerogénico del «Grupo Paracoli» se identificaron en el material analizado. Según la bibliografía consultada no aparecen referencias que coincidan con este tipo de hallazgo simultáneo.

El cultivo de *Shigella equuli* aislado, produce lesiones en el punto de inoculación, en algunos animales de laboratorio y como característica también digna de destacarse figura la falta de poder patógeno para el embrión de pollo cuando se lo inocula por la ruta intra-alantoidea. Este cultivo hidroliza urea cuando el desarrollo se efectúa en agar semisólido con lactosa, urea y doble indicador de pH y además no produce catalasa cuando desarrolla en agar infusión de carne. Marcada actividad bactericida ejercen «in vitro» la penicilina, la estreptomina y el sulfatiazol en cambio esta propiedad es escasa frente al ácido salicílico al 1 % en solución bicarbonatada.

El representante del «Grupo Paracoli» aislado, no ha podido aún ubicarse dentro de la incierta taxonomía de estos microorganismos.

SUMMARY

In the present work are shown the results of a bacteriological study of cultures obtained from the bone marrow of a aborted equine fetus in a farm of the Buenos Aires province. *Shigella equuli* and a inconstantly aerogenic member of the «Paracoli Group» were identified in the analysed material. According to the consulted bibliography this association was never found before.

The isolated strain of *Shigella equuli* produces some dermic lesions in some laboratory animals and it has no pathogenic effect on the chicken embryos inoculated by intra-alantoid route. It hydrolises urea when cultured in a media composed of semisolid agar with lactose, urea and double indicator and does'nt produce catalase on agar infusion cultures. Penicillin, streptomycin and sulphathiazole have a powerfull bactericidal activity «in vitro», on *Shigella equuli* culture, but 1 % of salicylic acid has no bactericidal action.

It as not yet been possible to find the right place occupied by this member of the «Paracoli Group» in the complicated taxonomy of the group.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über die bakteriologischen Untersuchungen von Kulturen berichtet, welche aus Knochenmark eines abortierten Fohlens gewonnen wurden. Festgestellt wurde: *Shigella equuli* und ein inkonstant aerogenes Mitglied des «Paracoligruppe». In der nachgeschlagenen Literatur befand sich kein Hinweis auf diese Art von Auffindung.

Der aufgefundene Stamm *Sh. equuli* verursacht im Laboratoriumstier Hautschaden die scheinbar trombo-phlebitischer Natur sind. Ausserdem spaltet er Harnstoff (auf halbfestem Kulturboden mit Agar-agar, Milchezucker, Harnstoff und doppeltem Indikator); auf Fleischbrüheagar entwickelt er keine Katalase. Andere Unterscheidungsmerkmale sind: keine Pathogenität für Hühnerembryo (intra-allantoide Einführung); starke bakterizide Wirkung von Penicillin, Streptomycin und Sulphathiazol auf die Kultur; nur schwache bakteriostatisch-bakterizide Wirkung von 1 % Salizilsäure in Bikarbonatlösung.

Das befundene Mitglied der «Paracoligruppe» konnte bis jetzt nicht in die etwas ungenaue Taxonomie der Gruppe eingereiht werden. Der Stamm verhält sich vorzüglich als anaerogen.

Agradecimientos:

El autor deja constancia de su agradecimiento a las siguientes personas:

Dres. A. E. Riggi y R. P. Moreau, Director General y Vice-Director Jefe del Departamento de Botánica, respectivamente, del Instituto Nac. de Investigación de las Ciencias Naturales, por el interés y apoyo prestado durante la realización de los trabajos; por idénticos motivos al Sr. Director del Instituto de Bacteriología de la Fac. de Agr. y Vet. de Bs. Aires. Dr. Santiago S. Quiroga.

Dr. A. J. Cifoletti y Sta. A. Caría, por la ayuda prestada durante parte de las experiencias realizadas.

Dres. A Durlach, G. Garbers y Sr. W. H. Patridge por la traducción del resumen a los idiomas alemán e inglés.

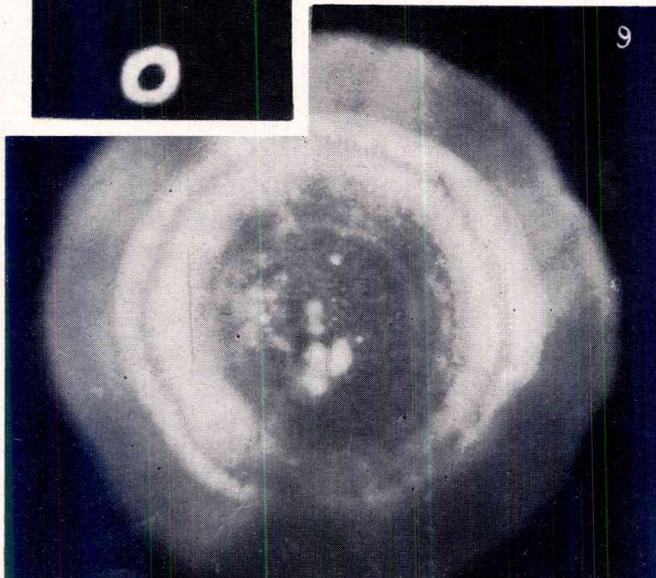
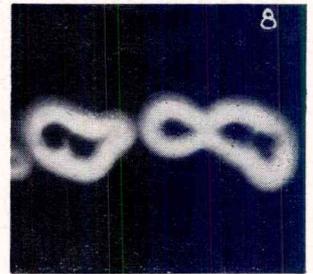
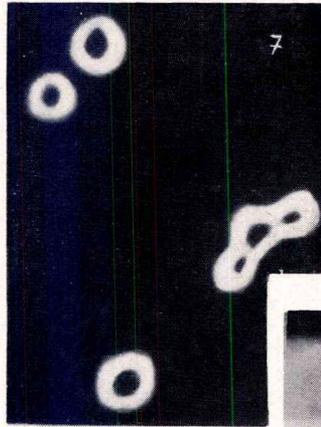
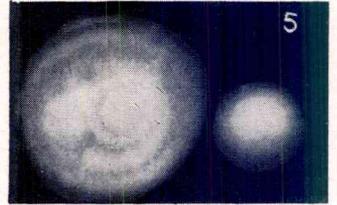
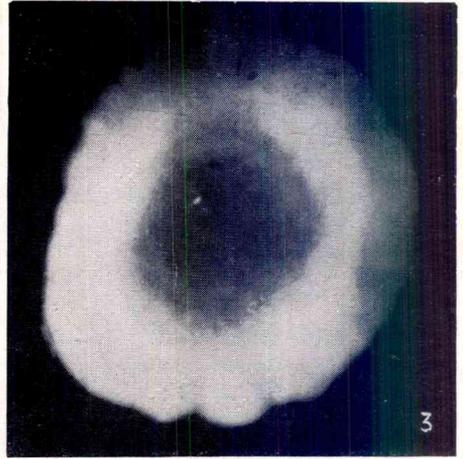
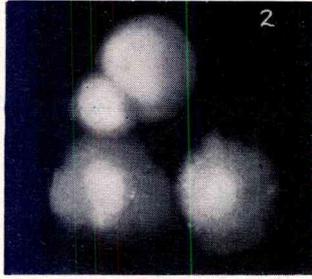
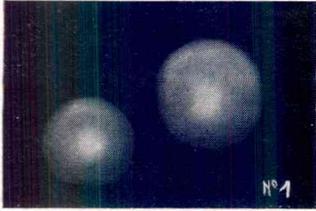
Sr. P. A. Haedo por las fotografías que ilustran el texto.

BIBLIOGRAFIA

1. BREED, R. S., MURRAY, E. A. C. and PARKER-HITCHENS, A., 1948. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* —Sixth Edition— Williams and Wilkins Co. Baltimore.
2. BORMAN, E. K., STUART, C. A., and WHEELER, F. M., 1944 *Taxonomy of the family ENTEROBACTERIACEAE*. — Journ. of Bact., LXVIII: 351-367.
3. BUCHANAN, R. E., JOHN-BROOKS, R. ST., and BREED, R. S., 1948, *International bacteriological code of nomenclature*. — Journ. of Bact., LV, 287-306.
4. COPE, J. E., and KILANDER, K., 1942. *Study of atypical enteric organisms of the Shigella group*. — Am. Journ. Pub. Health., XXXII, 352-354.
5. DIMOCK, W. W., EDWARDS, P. R. and BULLARD, F., 1928. *Bact. viscosum equi. A factor in joint-ill and septicemia in young foals*. — Journ. Amer. Vet. Med. Bs. As. LXXIII, 163-182.
6. DIMOCK, W. W., EDWARDS, P. R. and BRUNER, D. W., 1947. *Infections of fetuses and foals*. — Agr. Exp. St., Univ. Kentucky, Bull. N° 509, 1-39.
7. EDWARDS, P. R., 1931. *Studies on Shigella equirulis (Bact. viscosum equi)*. — Agr. Exp. St., Univ. Kentucky., Bull., N° 320, 289-330.
8. EDWARDS, P. R., 1932. *Serologic characteristics of Shigella equirulis (B. nephritidis-equi)*. — Journ. Infect. Dis., LI, 268-272.
9. ECKELL, O. A., ORLIACQ, C., y GARAGARZA, D. J., 1948. *La poliartrosis de los potrillos. Su tratamiento por la sulfaguanidina y el saliciclo de sodio inyectable*. — Rev. Vet. Fom. Equino, Bs. Aires, VIII, 35-38.
10. GUNNING, O. V., 1947. *Joint-ill in foals (Pyosepticemia) with special reference to the prophylactic treatment of the foal at birth*. — The Vet. Journ., CIII, 47-67.
11. HIRATO, L., 1939. *Studies on Shigella equirulis (Bacterium pyosepticum)*. The Jap. Journ. of Vet. Sci., I, 410-412.
12. LAUGHOFF, L., 1920. *Infektion mit dem Bakterium pyosepticum viscosum equi unter besonderer Berücksichtigung der makroskopischen pathologisch-anatomischen Erscheinungen*. — Berlin. tierärztl. Wchnschr, XXXIX, 358-384.
13. MAGNUSON, H., 1919. *Joint-ill in foals: Etiology*. — Journ. Compar. Path. and Therap., XXXII, 143-152.

14. MONTEVERDE, J. J., y FERRAMOLA, R., 1942. *Investigación de bacterias del género Salmonella en el líquido cloacal de la ciudad de Buenos Aires.* — Anales Sociedad Científica Argentina, LXXII, 417-452.
15. MONTEVERDE, J. J., 1943. *Relaciones serológicas entre las bacterias del género Salmonella y las bacterias «Fermentadoras lentas de lactosa».* — Rev. Fac. Agr. y Vet. Bs. Aires, X, 1-54.
16. MONTEVERDE, J. J., 1948. *Medio de cultivo semisólido con lactosa, urea y doble indicador para seleccionar salmonellas y shigelas.* — La Semana Médica, Bs. Aires, LV, 847-848.
17. PANISSET, M.L., 1920. *La pyosepticémie des poulains nouveaux (Arthrite des poulains).* — Rev. Gén. Méd. Vet., XXIX, 113-128.
18. PARR, L. W., 1939. *Coliform bacteria.* — Bact. Rev., III, 1-47.
19. SCHOFIELD, F. W., 1940. *Joint-ill (pyosepticemia) in foals.* — Vet. Bull. Lederle, IX, 127-131.
20. SNYDER, M., 1925. *Eberthella viscosa (Bact. viscosum equi) etiological factor in joint-ill.* — Journ. Amer. Vet. Med. Ass., LXPI, 481-496.
21. STUART, C. A., WHEELER, K. M., RUSTIGIAN, R., and ZIMMERMAN, A., 1943. *Biochemical and antigenic relationships of the paracolon bacteria.* — Journ. of Bact., XLV, 101-119.
22. STUART, C. A., STRATUM, E., van, and RUSTIGIAN, R., 1945. *Further studies on ureasa production by proteus and related organism.* — Journ. of Bact., XLIX, 437-444.
23. CONN, H. J., y colab., 1933-1938. *Manual of Methods for pure culture of bacteria.* Committee on Bact. Technic of the Soc. Amer. Bact. Geneva, N. Y.

En la Sección Microbiología del Departamento de Botánica perteneciente al Museo Argentino de Ciencias Naturales se efectuaron los estudios, excepto los que corresponden al poder patógeno, que se realizaron en el Instituto de Bacteriología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.



FOTOGRAFIAS

- Nº 1. — Colonias de *Sh. equuli*, agar infusión de carne - 48 horas a 37° C. - x 6.
- Nº 2. — Disociación de *Sh. equuli*, agar suero de caballo - 72 horas a 37° C - x 6.
- Nº 3. — Colonia gigante de *Sh. equuli*, agar infusión de carne - 72 horas a 37° C x 6.
- Nº 4. — Ulceración presentada por un cobayo inoculado con *Sh. equuli*, después de 6 días —Pera ventral— x 2.
- Nº 5. — Colonias en agar infusión de carne del representante del «Grupo Paracoli», 48 horas a 37° C - La colonia más grande presenta bandas concéntricas, en la zona periférica hay sustancia mucoide. x.
- Nº 6. — Colonias englobadas en cápsula mucoide. Representante del «Grupo Paracoli», 48 horas a 37° C en agar suero de caballo. x 6.
- Nº 7. — Representante del «Grupo Paracoli». Colonias sobre agar infusión de carne 24 horas a 37° C presentando centro transparente y reborde mucoso (aspecto de «rosquilla»). x 6.
- Nº 8. — Representante del «Grupo Paracoli» Igual que Nº 7 después de 48 horas de incubación a 37° C. x 6.
- Nº 9. — Colonia gigante del representante del «Grupo Paracoli». Agar infusión de carne. 72 horas a 37° C. Se pueden apreciar las bandas concéntricas x 6.