

Infecciones genitales en yeguas pura sangre
de carrera, debidas a bacterias del
Grupo Klebsiella

POR LOS DOCTORES JOSE JULIO MONTEVERDE (*) y GUILLERMO
VIRGINIO GARBERS (**)

La comprobación de metritis, cervicitis y vaginitis en yeguas de distintos lugares del país, nos indujo desde hace aproximadamente dos años, a investigar la posible intervención de microorganismos en estos cuadros patológicos. Los datos experimentales reunidos hasta el presente nos han permitido poner en descubierto dos casos de infecciones genitales debidas a bacterias del «Grupo Klebsiella» (1) las cuales, como más adelante podrá apreciar el lector, originan serias perturbaciones orgánicas y desagradables contratiempos en lo que a fertilidad se refiere, tal como ha quedado demostrado después de las investigaciones cumplidas en la Estación Experimental de Agricultura de Lexington, Estado de Kentucky de los EE. UU. de Norte América (5), (6).

Según la bibliografía que hemos podido consultar, estas infecciones no aparecen anteriormente descriptas en nuestro país, además bacterias con todas las características de las aisladas, no han sido, que nosotros hasta ahora sepamos, señaladas en infecciones naturales de yeguas. Estos argumentos los consideramos suficientes como para justificar la presente publicación.

(*) Profesor Adjunto de Bacteriología en la Fac. de Agr. y Vet. de la Universidad de Buenos Aires.

Jefe de la Sección Microbiología del Inst. Nac. de Investigación de las Ciencias Naturales.

(**) Asesor Técnico de la Sociedad Rural Argentina. Buenos Aires.

¹ Según última propuesta de Kauffmann y terminología provisionalmente adoptada por los AA.

ANTECEDENTES

El conocimiento de las infecciones genitales en yeguas debidas a bacterias del «Grupo Klebsiella», se inicia con las investigaciones de Dimock y Snyder¹ quienes en el año 1923 hallaron el primer caso en los Estados Unidos de Norteamérica. Estos investigadores publicaron el resultado de sus investigaciones sobre la influencia de estos microbios en la presentación de metritis en yeguas. Considerando que el agente microbiano descubierto, poseía características que lo distinguían de otras bacterias agrupadas con el *Bact. Friedländer*, propusieron los términos: *Encapsulatus genitalium*, otorgándole jerarquía de nueva especie; posteriormente Hauduroy y col. (9) propusieron la designación: *Klebsiella genitalium*, que aún se conserva.

Años más tarde Dimock y Edwards (5) realizaron un estudio más profundo de tan graves padecimientos, indicando que los casos clínicos por ellos registrados habían sido favorecidos; a) por la acción de los padrillos, al transmitir la infección por el coito, posiblemente por la falta de cumplimiento de estrictas medidas preventivas durante el tratamiento de animales estériles e infectados; b) por diseminación favorecida con instrumentos: líquidos de lavaje, soluciones medicamentosas y aún el hombre durante los manípulos y c) por la inseminación artificial. Hallaron *E. genitalium* en 4,4 % de yeguas con cervicitis, metritis y eliminaciones leucorreicas. Con excepción de pocas yeguas —3— las restantes —57— permanecieron estériles como mínimo durante un año y continuaban infectadas al terminarse la época de servicios. Según estos autores el clínico puede tener información para orientar el diagnóstico de las metritis debidas a estas bacterias, si considera el aspecto del exudado: color gris o blanco amarillento, espeso, viscoso con flóculos y «detritus» celulares, siendo también de ayuda, para la mejor interpretación, la coloración rojo oscura y aún marrón del cérvix uteri. Estos profesionales aconsejaron, sin embargo, que para aclarar la etiología se imponía el examen bacteriológico. Informaron que las lesiones inflamatorias, exudativas, descamativas y proliferativas producidas por *E. genitalium* eran más intensas, cuando la infección se producía en animales que ya presentaban metritis debidas a otras causas y que la actividad patológica de *E. genitalium* interesaba, por lo general, a todo el aparato genital femenino, pero

¹ Citado en los trabajos de Dimock y Edwards (5) y Edwards (6). Este trabajo no fué hallado en las bibliotecas a que concurrieron los AA., posteriormente fué solicitado al Prof. Dr. W. W. Dimock, quien hizo llegar transcripción del mismo, debido a que no poseía apartados.

con marcada predilección el útero y cérvix. *E. genitalium* fué aislado del cérvix, canal cervical, cuerpo y cuernos del útero y en algunos casos de oviductos y ovarios.

La infección del útero trajo aparejada severos cuadros patológicos que se iniciaban por exudación, la cual dependía del estado del órgano en el momento de la agresión bacteriana. En general la colección líquida fué de 200-400 ml término medio. En el cuerpo del útero comprobaron perjudiciales modificaciones: áreas hemorrágicas, estructuras fibrosas en zonas tisulares de reconstrucción, quistes submucosos y cambios importantes de la mucosa, la cual al examen microscópico, si bien reveló la presencia de superficies no atacadas, en otras se halló degeneración que en algunos casos llegó a destruir y descamar completamente la mucosa uterina. Observaron células de pus, células redondas, epitelios alterados y mucus en el estroma reticular. El epitelio de algunas glándulas secretorias completamente destruido, los conductos excretores obstruidos como una consecuencia de procesos regenerativos; el estroma interesado por la inflamación, con tendencia a la hiperplasia. Las capas musculares, profundas en algunos casos, estaban gravemente lesionadas debido a que la inflamación que abarcaba todas las capas de la pared uterina, favorecía la producción de tejidos de granulación o aún de fibrosis.

Los cambios registrados en el cérvix uteri fueron en general similares a los hallados en el útero, pero con frecuencia más intensos. En los tubos de Falopio comprobaron en algunos casos salpingitis catarral.

El estudio del agente etiológico les permitió destacar que *E. genitalium* era una bacteria Gram negativa, inmóvil, capsulada, no esporulada de 1,1 a 3,7 micrones de largo por 0,9 a 1,7 micrones de ancho, presentándose en formas cocoides y bastones. El carácter más importante de los cultivos fué el desarrollo mucosoide y en algunos medios la viscosidad. Desarrollaba fácilmente en los medios comunes del laboratorio. No licuaba gelatina; reducía nitratos a nitritos y éstos a nitrógeno, no producía indol, era RM negativa y VP positiva. Producía ácido y gas en: glucosa, lactosa, sacarosa, rafinosa, xilosa, salicina, adonita y glicerina. No atacaba dulcita e inulina. Destacaron especialmente la constancia del comportamiento fisiológico-bioquímico. Desde el punto de vista serológico *E. genitalium* pertenecía a un solo tipo aglutinante o precipitante.

La infección experimental indicó que el poder patógeno de *E. genitalium* era comparable al del *Bact. Friedländer* para cobayo y conejo, en los cuales por ruta intraperitoneal producía septicemia mortal entre 12-24 horas. Las principales diferencias las consignaron en el poder patógeno para la yegua donde, por vía intrauterina, reprodujeron metritis con abundante exudado, del cual recobraban *E. genitalium* en grandes concentra-

ciones a la altura del canal cervical. En la autopsia aislaron del cérvix, cuerpo y cuernos del útero, el germen inoculado.

Edwards (6) estudió la relación de las bacterias capsuladas halladas en metritis de yeguas, con las bacterias capsuladas procedentes de fuentes humanas. Sobre 50 cultivos, de los cuales 26 eran de origen equino y 24 de origen humano, llegó a la conclusión que 25 de los cultivos aislados de yeguas con metritis, pertenecían a un tipo bien definido. Hizo saber en esta ocasión que en los primeros experimentos efectuados en colaboración con Dimock (5) no habían conseguido reproducir metritis en yeguas inoculando «in utero» bacterias capsuladas de origen humano. Observó que gérmenes no productores de metritis, aún introduciéndolos «in utero» en gran número, no se recobraban por retrocultivo después de 48 y 72 horas de inoculados, en cambio *E. genitalium* originaba cambios patológicos con marcada exudación y multiplicación de las bacterias. Posteriormente comprobó que con bacterias del actual «Grupo Klebsiella», aisladas del hombre, era posible producir experimentalmente metritis en yeguas. Esto le permitió argumentar que la producción de metritis en yeguas no podía tomarse como criterio para distinguir cepas equinas de humanas, agregando que, cuando estas bacterias pierden la cápsula, son incapaces de producir metritis y además que cultivos que han perdido la propiedad de producir cápsulas, pueden adquirirla nuevamente por selección artificial de colonias mucoides en medios especiales. Este hecho en realidad confirmaba otras observaciones (1) referentes al *Bact. Friedländer* y su virulencia para los animales de laboratorio.

Posteriormente Edwards (7) descubrió que *Bact. aerogenes*, poseedores de cápsulas, eran capaces de producir metritis en yeguas cuando se los inoculaba «in útero».

INVESTIGACIONES EFECTUADAS

Observación de los casos de infección natural registrados en el país.

El hallazgo del primer caso de infección genital debida a bacterias del «Grupo Klebsiella» se originó a raíz de exámenes bacteriológicos que efectuamos en materiales extraídos de un feto abortado, hecho que se produjo en junio de 1949 en un haras situado en la Provincia de Buenos Aires. En dicha oportunidad y tratando de eliminar la posible intervención de *S. abortivoequina*, se analizaron los siguientes materiales extraídos del feto: líquido cefaloraquídeo, sangre de corazón, contenido estomacal, uraco, peritoneo, hígado, ovario, cordón umbilical, cavidad articular, médula ósea y médula espinal. Hallamos bacterias «coliformes» en: cordón umbilical, uraco y cavidad articular. De la yegua abortada tomamos mate-

rial a la altura del cérvix uteri, el cual fué analizado desde el punto de vista microbiológico. Salvo una colonia invasora que resultó estar constituida por representantes del género *Bacillus*, de habitual hallazgo en suelo y agua, comprobamos neto predominio de colonias grandes, brillantes, blanquecinas y mucosas que resultaron estar formadas por bacterias del «Grupo Klebsiella» y ausencia de otros microorganismos (hongos, levaduras, espiroquetas). Mientras los análisis se cumplían, indicamos tratamientos locales y generales sobre la base de antibióticos, recomendando las medidas profilácticas corrientes. A pesar de estas disposiciones, observamos poco después modificaciones patológicas, con predominio del cuadro inflamatorio, que interesaban vagina, cérvix y útero, con paralela eliminación de tipo exudativo con aspecto leucorreico por vulva y las características aglutinaciones de los pelos existentes en la cara interna y posterior de los miembros inferiores y cerdas de la cola. El cuadro clínico, a medida que transcurría el tiempo, se fué intensificando sin gran repercusión sobre el estado general.

Debido a la circunstancia en que tuvimos que ausentarnos del país durante 2 meses aproximadamente, este caso fué dejado en otras manos y mientras tanto los tratamientos corrientes fueron aparentemente cumplidos, sin buenos resultados. En octubre de 1949 examinamos nuevamente este animal, encontrando un cuadro inflamatorio crónico de mayor gravedad al verificado 3 meses antes; observamos además de metritis, cervicitis y vaginitis, abundante arrojamiento de consistencia viscosa por la vulva, de color blanco-amarillento, transportador de pequeños flóculos, «detritus» celulares (descamación) y leucocitos. El estado general del animal era bueno. Los análisis bacteriológicos a que fué sometido el material leucorreico extraído en el canal cervical, nos demostró la presencia de una sola especie bacteriana, la cual resultó ser idéntica a la aislada y clasificada en junio de 1949, en material extraído del mismo sitio. La investigación de aglutininas, precipitinas y «Quellungsreaktion», en el suero sanguíneo, fué negativa frente al cultivo aislado.

Vistos todos estos resultados, propusimos escasas variantes al tratamiento y al mismo tiempo solicitamos la opinión del Dr. Dimock¹. Poco tiempo después el animal acusó una ligera mejoría en su cuadro genital, hecho que comprobamos en noviembre de 1949, momento que coincidía con la finalización del «dioestrus». Pocos días después, al presentarse el «oestrus», observamos nuevamente vaginitis, cervicitis, metritis y arrojamiento, ahora de tipo purulento. El análisis bacteriológico de este

¹ Comunicación escrita.

último volvió a demostrar la presencia, en pureza, del mismo germen que fuera aislado previamente.

Habiendo recibido respuesta del Dr. Dimock¹ quien expresara su opinión sobre la gravedad de la infección y sus dudas sobre la terapéutica a seguir, pero sugiriendo el empleo de «metaphen» y derivados mercuriales en forma de lavajes, resolvimos emplear estos últimos juntamente con la inoculación seriada de suspensiones microbianas de variantes seleccionadas del microorganismo aislado, esto último en cada aplicación produjo evidente reacción focal representada por la formación de una amplia zona edematosa de consistencia pastosa, con calor y dolor local; posteriormente registramos reacciones similares en animales no infectados, lo que nos condujo a introducir modificaciones de los estados «M» empleados. La reacción general, en las primeras 24 horas de cada aplicación consistió a grandes rasgos, en decaimiento, pérdida de apetito y escasa elevación térmica. Después de 20 días de iniciada esta terapéutica practicamos nuevo examen ginecológico, comprobando ausencia de eliminación leucorreica y estado aparentemente normal de vagina, cérvix y útero. Los análisis bacteriológicos directos y por cultivos, efectuados sobre materiales extraídos del canal cervical, indicaron ausencia de bacterias del «Grupo Klebsiella». Teniendo en cuenta la posibilidad de recidivas, este animal no fué puesto en servicio, quedando en observación. Nuevas exploraciones y análisis, que efectuamos en los meses de enero y febrero de 1950, demostraron la ausencia de estados inflamatorios y de las bacterias anteriormente halladas. La investigación en suero sanguíneo de aglutininas y precipitinas, como así también la «Quellungsreaktion», fueron negativas. Los cultivos obtenidos de este caso fueron provisionalmente designados: «Met» y su estudio, lo referimos más adelante.

El segundo caso de infección natural lo observamos en una yegua pura sangre de carrera, en «training», alojada en un stud de la localidad de San Isidro (Prov. de Buenos Aires). Este animal, según informe del cuidador, comenzó a «perder estado» y presentar abundante arrojamamiento por la vulva. Además durante la marcha producía ruidos que permitían sospechar penetración de aire por vía vaginal. Comenzó a notar estas anomalías, aproximadamente dos meses antes y distintos tratamientos le fueron desde entonces aplicados; algunos de ellos, en otras ocasiones y sobre otros animales aparentemente con el mismo cuadro clínico, habían dado buenos resultados, pero en el caso presente no se obtuvo curación en corto tiempo. Dado que el animal a causa de los ejercicios enflaquecía y es-

¹ Comunicación escrita.

taba inquieto, su propietario, dueño de un haras que atiende uno de nosotros (G. G.) solicitó se efectuara un nuevo examen clínico. Debido a esta circunstancia comprobamos: vaginitis espasmódica, cervicitis, metritis y copiosa secreción por vulva, blanco-amarillenta en pequeños grumos y abundantes «detritus celulares». El examen de la vulva permitió observar: labios flácidos y posición anormal con respecto al ángulo de inclinación y también de la comisura superior con el piso óseo de la pelvis. Por exploración rectal se apreció útero agrandado, con paredes espesadas y tensión interna mayor que la normal debida al acúmulo del exudado; se comprobó disminución del tono de la pared del cuerpo uterino. Los exámenes bacteriológicos indicaron que en los líquidos de descarga tomados en el canal cervical aparecía una sola especie microbiana cuyas características coincidían con las dadas para las bacterias del «Grupo Klebsiella». Los exámenes bacterioscópicos directos, permitieron también observar la presencia de abundantes bacterias capsuladas de morfología similar a las del «Grupo Klebsiella». Inspeccionada la yegua 5 días después comprobamos que el cuadro había cedido parcialmente al tratamiento expectante recomendado, que fué ordenado mientras se aguardaban los resultados del laboratorio bacteriológico; subsistía sin embargo la vaginitis espasmódica, pero había disminuído el arrojamiento vulvar. El análisis bacteriológico reveló en esta ocasión y en pureza, el mismo microorganismo aislado y clasificado en la primera oportunidad. La reacción aglutinante, precipitante y «Quellungsreaktion» dieron resultado negativo al poner en contacto el suero sanguíneo del animal enfermo con el germen aislado. Revisada alrededor de 7 días después, observamos acentuada mejoría, ya que la vaginitis espasmódica y la secreción por vulva habían desaparecido y el animal había aumentado algo de peso y se hallaba más tranquilo. El análisis bacteriológico reveló sin embargo la existencia, en pureza, del mismo microorganismo hallado anteriormente, aunque en menor concentración y predominando los estados «S» sobre los «M». La inoculación paraentérica de suspensiones microbianas con variantes del germen aislado, en forma seriada, juntamente con lavajes vaginales de una solución de cloruro de hidroxifenilmercurio y tirotricina, si bien permitió posteriormente a este animal volver a las pistas, el germen fué nuevamente comprobado en junio de 1950. Los cultivos obtenidos de este caso los designamos en lo sucesivo «Ta».

ESTUDIO BACTERIOLÓGICO

Características de los cultivos estudiados:

Teniendo en cuenta que los sucesivos cultivos aislados a raíz de repetidos análisis bacteriológicos tanto del primer caso como del segundo, resultaron ser idénticos entre sí, indicamos a continuación el comportamiento de éstos, simplificando la designación con los términos arbitrarios: «Met» y «Ta».

a) *Morfología, aspecto de los cultivos y reacciones tintoriales.*

Corresponden a los señalados para las bacterias del «Grupo Klebsiella». (2) (5) (9) (13) (16) (18).

b) *Propiedades bioquímicas y fisiológicas* (4)

En el cuadro que sigue se resumen las características de los cultivos estudiados.

	Cu tivo «Ta»	Cultivo «Met»		Cultivo «Ta»	Cultivo «Met»
Adonita	AG	AG	Trehalosa	aG	AG
Arabinosa	aG	AG	Xilosa	AG	AG
Almidón	AG	AG	Melezitosa	—	AG
Dextrina	ag	ag	Prueba R.S.S. (*)	—	—
Dulcita	—	AG	Urea	+	+
Galactosa	AG	AG	Hipurato	—	—
Glucosa	AG	AG	Esculina	—	+
Glicerina	AG	AG	Simmons citrato	+	+
Inosita	aG	AG	Beta-hemolisis	—	—
Inulina	—	—	SH ₂	—	—
Lactosa	AG	ag	Indol	—	+
Levulosa	aG	AG	Reducción de NO ₃	+	+
Maltosa	AG	AG	Koser	+	+
Manosa	AG	AG	Gelatina	—	—
Manita	AG	AG	VP.	+	+
Rafinosa	AG	AG	RM.	+	+
Ramnosa	ag	AG	Catalasa	+	+
Sacarosa	Ag	AG		Coag	Coag
Salicina	AG	AG	Leche	ráp.	lenta
Sorbita	AG	AG	Fibrinólisis	—	—
			Albúmina coagulada	—	—

Leche con azul de metileno: Al 1 : 2000, 1 : 5000, 1 : 10000, 1 : 20000 y 1 : 100000 producen ambos cultivos decoloración en las primeras 24 horas de incubación a 37° C; después de varios días hay coagulación y escasa separación de suero.

* Prueba R. S. S.: El empleo de un medio fuertemente tamponado con indicador de pH y urea fué motivo de estudio por parte de Rustigian y Stuart (*Proc. Expt. Biol. Med.* XLVII (1941) 108-112) y Stuart, van Stratum y Rustigian. (*Journ. Bact.* XLIX (1945) 437-444). Las letras R. S. S. han sido propuestas por uno de nosotros (J. J. M.) (*Arch. Farm. Bioq. Tucumán*, IV, 4 (1950) 407-420).

Acción del bromocresol púrpura en leche: Al 1 : 5000, 1 : 10000, 1 : 20000 y 1 : 100000 los cultivos en estudio producen decoloración sin coagulación (10 días a 37° C).

Leche con azul de bromotimol (1 : 10000): Comportamiento igual al anterior.

Resistencia al calor: La temperatura de 56° C tiene efecto germicida si se mantiene 15 minutos a 60° C. A 80° C sucumben entre 2 y 3 minutos.

Resistencia al envejecimiento: Cultivos en agar o caldo, mantenidos a temperatura del laboratorio durante 4 meses conservan su vitalidad.

Resistencia «in vitro» frente a los antisépticos:

1°. *Fenol:* En solución al 1 % ambos cultivos son destruídos entre 15 y 20 minutos de contacto. Las soluciones al 1 ‰ y 1 : 5000 no los destruyen después de 30 minutos.

2°. *Acido cítrico:* En solución al 10 % y 1 % son destruídos antes de transcurridos 10 minutos de contacto. La solución al 1 ‰ no destruye la vitalidad en 30 minutos de contacto.

3°. *Permanganato de Potasio:* En solución al 1 : 5000, hay efecto bactericida antes de transcurridos 10 minutos; al 1 : 10000 tiene acción germicida después de 20 minutos.

4°. *Agua oxigenada:* (12 volúmenes) En dilución 1 : 10 mata después de 10 minutos de contacto; al 1 : 100 no tiene efecto bactericida hasta los 30 minutos.

Resistencia «in vitro» frente a antibióticos¹

Penicilina: La actividad de la penicilina en medios líquidos (caldo glucosa-fosfato de pH 6,9), fué comparada respecto a un cultivo de *M. pyogenes* VAR. *aureus* (cepa 209). Pudo comprobarse que 2000 U. O. por cada ml inhiben totalmente la multiplicación de las bacterias en estudio. El cultivo «Ta» fué destruído después de 48 horas de contacto en medios con 2000 U. O. por cada ml, en cambio el cultivo «Met» fué destruído en medios con 20.000 U. O. por cada ml. Los medios líquidos que contienen 200 U. O. por cada ml no impiden la multiplicación.

Streptomycin: Empleando caldo común y comparando la actividad con la cepa 209 tomada por control, se obtuvo el mismo efecto bacteriostático, tanto para el cultivo «test», como para los cultivos en estudio, ya que 1 U. I. resultó suficiente. Los controles de vitalidad demostraron que concentraciones de hasta 1 U. I. ejercen efecto bactericida después

¹ El autor agradece al Dr. L. Vila la colaboración prestada en esta parte del presente estudio.

de 24 horas de contacto a 37° C para el cultivo control y el cultivo «Met», en cambio el cultivo «Ta» fué destruído en medios con 10 ó más U. I. por cada ml.

La estreptomycin a concentraciones de 0,1 y 0,01 U. I. por cada ml permite obtener cultivos (24 hs, 37° C) que no poseen la propiedad de formar velo ni anillo característico. La investigación de cápsulas en los mismos da resultado positivo y en estas condiciones mantienen íntegro su poder patógeno para laucha. Caldo nutritivo conteniendo concentraciones < 0,01 U. I. permite obtener el desarrollo y la morfología típica de estos microorganismos.

Tirotricina: Se comparó el efecto bacteriostático y bactericida en me-

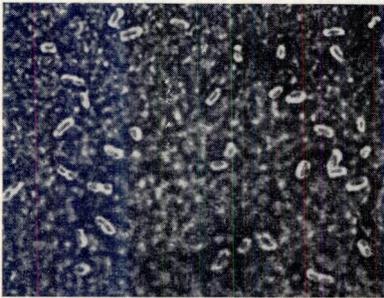


Foto N° 1. — Presencia de cápsulas en bacterias del «Grupo Klebsiella» Cultivo «Ta» - 24 h-37° C - Agar infusión de carne de caballo. (× 1000).

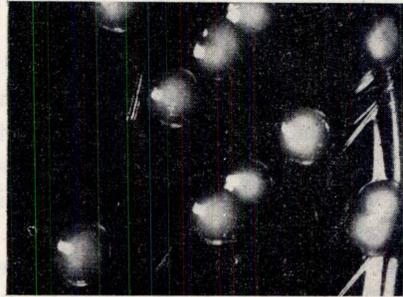


Foto N° 2. — Colonias mucoides de bacterias del «Grupo Klebsiella». (× 2). Cultivo «Met» - 24 h - 37° C. — Agar infusión carne de caballo.

dio líquido (caldo nutritivo pH 7,0). Como cultivo control de empleó la cepa 209. El antibiótico fué diluído a partir de solución alcohólica al 1 : 2000. Diluciones desde 1 : 20.000 fueron probadas. El cultivo control fué detenido en su multiplicación en dilución 1 : 500.000, en cambio los gérmenes en prueba lo fueron en dilución 1 : 20.000. El control de vitalidad demostró efecto bactericida en todos los tubos en donde se comprobó bacteriostasis.

Aureomicina: Como cultivo control se empleo *B. cereus* (cepa n° 5). Distintas concentraciones de aureomicina fueron probadas y quedó demostrado que con esta sustancia se obtuvo efecto bacteriostático para todos los cultivos ensayados en las siguientes concentraciones por cada ml de caldo con tioglicolato: 0,25; 0,125; 0,0625; 0,0312; 0,0156; 0,0078; 0,0039 y 0,00195 microgramos de aureomicina. Los controles de vitalidad demostraron que el efecto bactericida en el tiempo de contacto (48

hs, 30° C) era el siguiente: el cultivo control es destruido por 0,0156 pero no por 0,0078 microgramos por cada ml; el cultivo «Ta» es destruido por 0,0156 pero no por 0,0078 microgramos por cada ml; en cambio, el cultivo «Met» es más resistente, ya que es destruido por 0,0625 pero no por 0,0312 microgramos por cada ml.

Estudio serológico.

Para cumplir los estudios serológicos preparamos sueros en conejos inoculando cultivos en fase «M». Empleamos separadamente antígenos vivos, formolados y calentados 1 hora a 100° C. Los cultivos fueron desarrollados en agar infusión de 24 horas de incubación a 37° C y a partir de éstos fueron preparadas suspensiones en solución fisiológica con turbiedad parecida al tubo n° 2 del nefelómetro de Mac Farland. Después de cuatro inoculaciones endovenosas en serie, espaciadas entre 2 y 5 días, obtuvimos sueros aglutinantes de baja valoración (<1 : 320). Utilizamos las pruebas rápidas por «toques» y la prueba lenta macroscópica; los sistemas fueron incubados 2 horas a 50° C y hasta 48 horas a temperatura ambiente, antes de efectuar lecturas.

La investigación de precipitinas la cumplimos empleando diferentes extractos microbianos obtenidos a partir de cultivos desarrollados en agar infusión, caldo infusión y medio sintético de Koser. Los antígenos, sometidos, o no, a calentamiento previo (100° C-15 minutos), reaccionaron positivamente frente a los sueros correspondientes.

Los primeros ensayos de aglutinación y precipitación cruzada demostraron que los cultivos procedentes de los 2 casos estudiados no eran idénticos serológicamente¹. El suero de conejo inoculado con el cultivo «Met» no aglutinó el cultivo vivo «Ta» pero lo hizo previo calentamiento del antígeno.

Poder patógeno experimental.

Cultivos en fase «M» desarrollados sobre agar infusión de carne durante 24 horas a 37° C, suspendidos en solución fisiológica hasta concentración parecida al tubo n° 2 del nefelómetro de Mac Farland, fueron

¹ Dado que no poseíamos en el momento de cumplir estas tareas los cultivos tipo, ni los sueros que Kauffmann empleara últimamente en su intento de ordenación serológica del «Grupo Klebsiella», remitimos al Seruminstitut de Copenhague, los cultivos para su identificación, con los siguientes rótulos: «Metritis» («Met») y «Tucumana» («Ta»). En marzo de 1950 recibimos respuesta del Dr. F. Kauffmann, quien había hallado que el cultivo «Met» pertenecía al tipo capsular 3 y el cultivo «Ta» al tipo capsular 2.

empleados como antígenos en estas pruebas. El cultivo «Met» presentó, después de escasos trasplantes en agar infusión de carne, disociación M→S. Los cultivos correspondientes a «Ta» se presentaron siempre en fase «M».

LAUCHAS: (15-25 g). *Cultivo «Met»*: la prueba propuesta por Osterman y Rettger (17) resulta negativa. Aumentando las dosis de inoculación intraperitoneal a 0,1, 0,15 y 0,2 ml con suspensión antigénica similar al tubo n° 2 del nefelómetro de Mac Farland, no comprobamos muertes; en cambio, dosis de 0,5 y 1 ml la producen.

Cultivo «Ta»: la prueba de Osterman y Rettger es positiva. Cultivos efectuados de distintos órganos demostraron la existencia de septicemia. Hay exudado peritoneal que contiene numerosos gérmenes capsulados.

Vía subcutánea: cultivo «Met»: no es patógeno a la dosis de 0,2 y 0,5 ml. Cultivo «Ta»: a las mismas dosis, mata todos los animales inoculados por septicemia.

COBAYOS: (250-400 g). La inoculación subcutánea o intraperitoneal de 1 ml del cultivo «Met» no resulta adecuada para producir la muerte; en cambio, el cultivo «Ta» presenta las características patogénicas de las klebsielas típicas.

CONEJOS: (1.500-2.200 g): se comportan en forma similar a los cobayos. El cultivo «Met» inoculado por vía endovenosa es soportado sin mayores trastornos a razón de 1 ml del antígeno. Los animales posteriormente aumentan de peso. La inoculación del cultivo «Ta» produce en algunos conejos después de 3 a 4 días disminución de peso, pero posteriormente se recuperan.

YEGUAS: La inoculación subcutánea de 5 ml del antígeno vivo o muerto por el calor determina la aparición en el punto inoculado, a veces antes de 24 horas, de una zona edematosa irregularmente circular, elevada aproximadamente 2 cm. Apreciamos calor local y reacción dolorosa; a la presión hay consistencia pastosa. En algunos animales la extensión de la lesión alcanza de 30 a 40 cm de diámetro con orientación del edema hacia las partes en declive. Después de 6 a 7 días desaparece este trastorno. Raramente se produce en forma espontánea la ruptura de la piel que cubre el edema.

La inyección *intrauterina* de 5 ml del antígeno induce la aparición de cuadros inflamatorios de vagina, cérvix y útero con eliminación de exudado leucorreico después de 48-72 horas de efectuada la inoculación. El líquido eliminado por vulva es generalmente filante, pegajoso, blanquecino y transportador de flóculos, restos tisulares y leucocitos. En algunos animales la expulsión de las secreciones se acentúa al marchar. La cara interna de los muslos presenta pelos aglutinados por contacto con el lí-

quido de descarga. Después de 7 días algunos animales inoculados con el cultivo «Met» tienen tendencia a recuperarse. En cambio, cuando se inocula el cultivo «Ta» la reacción genital que observamos fué más intensa. En una oportunidad, 24 horas después de inoculada, una yegua presentó manifestaciones generales: inquietud, dolores cólicos, manoteo contra el piso, decaimiento general, anorexia, temperatura 40,2° C, contracción de los músculos abdominales. El examen ginecológico reveló vaginitis, cervicitis y metritis; a la palpación rectal útero tenso.

En otro animal, también inoculado «in útero» con el cultivo «Ta» la presentación fué de menor intensidad al relacionarlo con el caso anterior, aunque ya a las 24 horas de inoculadas las bacterias, comprobamos eliminaciones leucorreicas por vulva, presencia de exudado denso en la parte inferior de la misma, y pelos aglutinados en la cara medial de los muslos. El examen ginecológico demostró vaginitis espasmódica con marcada exudación filante de color amarillento y abundante exudado blanco amarillento, cervicitis y metritis.

Algunos animales transcurridos alrededor de 72 horas de inoculados «in útero» están tristes, agitados, pierden el apetito, se miran los flancos, adoptan la posición de micción y presentan diarrea fétida; al examen ginecológico observamos cervicitis y vaginitis, y por tacto rectal hallamos útero tenso con o sin gases, cérvix indurado y ovarios con o sin folículos. La temperatura rectal y vaginal habitualmente está dentro de los límites normales. Presentan secreción leucorreica, filante, blanquecina, que transporta en puerza el germen inoculado; en otros animales la secreción es de aspecto purulento. La investigación del germen en orina resulta negativa.

Los exámenes bacteriológicos practicados antes de las inoculaciones indicaron la ausencia de bacterias del «Grupo Klebsiella» en el canal cervical, en cambio, después de la inyección «in útero» comprobamos en las eliminaciones uterinas —frecuentemente en cultivo puro— los gérmenes inoculados, los cuales aparecían en grandes concentraciones a juzgar por las numerosas colonias desarrolladas en los medios de aislamiento directo.

Después de transcurridos 20 días desde las inoculaciones intrauterinas, investigamos aglutininas y precipitinas en suero sanguíneo frente a los gérmenes inoculados, reacciones éstas que acusaron títulos < 1 : 20.

La prueba microserológica de Neufeld («Quellungsreaktion») resultó negativa al poner en contacto el suero de las yeguas infectadas con los cultivos en estudio.

Después de 22 días de las inoculaciones intrauterinas a que nos hemos referido, practicamos inyecciones intradérmicas de suspensiones en solución fisiológica de los gérmenes en estudio y además por separado de

Paracolobactrum coli, *Streptococcus equinus* y *E. coli*, aislados del aparato genital de otras yeguas; en todos los animales así tratados obtuvimos, entre 3 y 24 horas, reacciones visibles, ya sea inoculando antígenos vivos o muertos de las enterobacterias elegidas. La intensidad de las reacciones locales fué menor con los antígenos muertos por el calor (turbiedad similar al tubo n° 3 de Mac Farland. Dosis 0,5 ml).

La instilación de cultivos desarrollados en caldo de 72 horas de incubación a 37° C, centrifugados a 5000 r. p. m. hasta obtener sobrenadante límpido con agregado de una gota de éter sulfúrico como conservador, determinó en dos animales secreción abundante no purulenta en las primeras 24 horas.

Obtención de bacteriófago.

Siguiendo procedimientos de activación de la potencia lítica, ya referidos (15) y utilizando bacteriófagos polivalentes de distintas procedencias¹ obtuvimos con dificultades, un bacteriófago activo para el cultivo «Met», aunque el grado de lisis de los caldocultivos nunca fué total. El cultivo «Ta» en presencia de este bacteriófago ha presentado hasta este momento poca susceptibilidad. La constatación de cultivos secundarios ha sido la regla en los ensayos efectuados. Estos experimentos se continúan.

CONSIDERACIONES

El estudio realizado nos permite efectuar varias consideraciones:

Lo que juzgamos de mayor importancia, es que *desde ahora, en nuestro país una nueva causa de infección de los equinos debe ser tenida en cuenta: se trata de las debidas a bacterias del «Grupo Klebsiella»*. Según estas primeras comprobaciones, su presencia estuvo conectada a cuadros inflamatorios genitales de marcha crónica, situación que coincide con las descripciones dadas por otros investigadores (5).

No es posible en la actualidad expresar si la infección genital de yeguas debidas a estas bacterias está o no muy difundida en el país. Nuestros hallazgos se han producido como consecuencia de una sistemática labor de investigación en casos patológicos. Consideramos interesante seguir investigando en este sentido y aún tratar de localizar los posibles reservorios y distribuidores en la naturaleza y aclarar las rutas de penetra-

¹ Aislados de aguas y motivo de un trabajo de investigación que se cumple actualmente en la Sección Microbiología del Departamento de Botánica perteneciente al Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales, Buenos Aires.

ción. Con respecto al hallazgo de esta infección en el país, pensamos: o que es nueva —en EE. UU. apareció después de 1920 (5)— o que la misma ha pasado inadvertida. Si esta última posibilidad es cierta, entonces probablemente la incidencia puede que sea baja, caso contrario, otras comprobaciones deben esperarse.

Nuestros datos experimentales, indican que es factible considerar la posibilidad de que las bacterias del «Grupo Klebsiella» puedan tener alguna intervención en casos de aborto equino ocurridos en el país, ya que el aislamiento del cultivo «Met» se origina como consecuencia de la prematura expulsión de un feto, en el cual también se hallaron bacterias del mismo grupo. De momento nos parece muy importante *dejar expresa constancia de que en la cavidad articular del feto, aislamos un cultivo de bacterias del «Grupo Klebsiella» el cual presentaba un dudoso comportamiento en el medio de Koser y reacciones de VP y RM francamente positivas*. Este cultivo estaba en fase «S», y además producía escasamente SH_2 y era indol negativo. Cuando comparamos este comportamiento con el cultivo aislado del canal cervical de la yegua abortada, notamos diferencias, pero atentos a la poca constancia que presentan algunas klebsielas en sus reacciones bioquímicas y fisiológicas (7) (8) (13), el hallazgo merece ser tenido en cuenta. Otro hecho digno de hacer saber, es que los cultivos de la médula espinal, médula ósea, hígado, bazo, cerebro, líquido cefalorraquídeo, sangre del corazón, ovario y peritoneo permanecieron estériles, siendo solamente posible aislar microorganismos del uraco y la cavidad articular del feto. *Si tenemos en cuenta que habitualmente se remiten a los laboratorios de análisis para investigar causas de aborto equino, huesos y contenido del estómago del feto, podría ocurrir que este posible tipo de infección haya pasado desapercibido*. Tampoco debe descuidarse la intervención de estas bacterias en enfermedades de los potrillos, tal como ha sido ya señalada (14).

Dimock y Edwards (5) han demostrado que la infección del aparato genital de las yeguas con estas bacterias resulta sumamente perjudicial. En opinión de estos autores la infección bacteriana sería primaria. En nuestro concepto la posibilidad de que pueda ser secundaria no debe descuidarse. Hemos comprobado que en un mismo establecimiento existían animales con cuadros clínicos parecidos (vaginitis exudativa, cervicitis y metritis) y que, sólo uno de ellos presentaba infección genital debida a bacterias del «Grupo Klebsiella». Si bien comprendemos que la extensión de la infección no quedaba en esta circunstancia favorecida, debido a las medidas profilácticas indicadas y cumplidas, es el caso que otros gérmenes de significado patológico fueron comprobados frecuentemente en los casos clínicos referidos. Lo que antecede, resulta favorable para pensar

en la posibilidad, gracias a factores que ignoramos, que el territorio genital de algunos animales sea más apto que el de otros, para que se instale una infección a bacterias del «Grupo Klebsiella». Esta suposición queda reforzada por los resultados obtenidos a raíz de las inoculaciones experimentales intrauterinas en yeguas, ya que si bien es posible reproducir los cuadros clínicos, éstos no presentan un curso tal largo como ocurren en la infección natural y los animales después de un tiempo, siempre superior a los 10 días, tienden a recuperarse sin que sea necesario recurrir a medidas terapéuticas. *Debe recordarse que estas bacterias alcanzan a infectar naturalmente los ovarios y las trompas determinando la aparición de lesiones macro y microscópicas (5), siendo la esterilidad del animal la consecuencia más significativa.*

No estamos en condiciones de informar si los animales en los cuales comprobamos la infección han quedado definitivamente estériles, sin embargo no ha habido síntomas de anexitis. También consignamos que desconocemos, en los dos casos estudiados, el área genital infectada, ya que para ello hubiera sido necesario sacrificar los animales y efectuar exploraciones bacteriológicas y anatomo-patológicas de todo el aparato reproductor; esto no pudo cumplirse debido al valor de los animales.

La comprobación de este tipo de infección en establecimientos dedicados a la cría caballar debe ser, hasta que no se indique lo contrario, motivo para que *toda yegua destinada a la cría sea cuidadosamente examinada antes de ingresar a un haras; y toda yegua que se compruebe infectada sea inmediatamente retirada del servicio, aislada y tratada;* que se implanten medidas profilácticas generales y se extreme la desinfección de los padrillos antes y después del coito, ya que éstos pueden ser vehículos de la infección (5); situación que podría ocurrir al comienzo de la infección, en coincidencia con el «oestro» y juntamente con una higiene deficiente.

Los casos que hemos comprobado, evolucionaron hasta la cronicidad. El habitual tratamiento de las inflamaciones del «tractus» genital resultó insuficiente como para dar seguridades de restablecimiento. El empleo de lavajes antisépticos solos y en combinación con antibióticos y quimioterápicos dió resultados dudosos. En oportunidades la enfermedad cedía aparentemente en el «dioestro», para volver a instalarse durante el «oestro», esto coincide con lo expresado por Dimock y Edwards (5). Esta situación conduce a ser cautelosos antes de considerar un animal libre de la infección y apto para el servicio. Ultimamente utilizamos derivados mercuriales y tirotricina complementados con una serie de autovacunas, siendo los resultados conseguidos alentadores.

Con el objeto de aclarar la etiología, las pruebas indirectas de diagnóstico (seroaglutinación, precipitación, «quellungsreaktion», alérgicas) son

a nuestro parecer y por el momento, poco adecuadas, como así también los datos clínicos. En nuestros casos no se puede aplicar la recomendación de Dimock y col. (5) en el sentido que el aspecto de la secreción permitiría a un clínico avezado efectuar un diagnóstico presuntivo, debido a que la misma no presenta todas las características indicadas por los autores citados. *Es el diagnóstico bacteriológico el único que hasta este momento informa con certeza y a él deberá recurrir el clínico para indicar los tratamientos, efectuar la profilaxis y por sobre todo sentar su reserva en el pronóstico.*

Por lo que se refiere a las características de las bacterias estudiadas, repetimos que la morfología y propiedades tintoriales fueron las típicas del «Grupo Klebsiella» (2) (5) (13) (16) (18). La presencia de cápsulas fué observada en los preparados efectuados con los líquidos de descarga de la infección natural extraídos a la altura del canal cervical, en los exudados y órganos de los animales infectados experimentalmente y en los medios de cultivos, aún aquellos desprovistos de albúminas animales, por lo menos durante varios trasplantes. Hacemos notar que durante la infección natural de uno de los casos estudiados («Ta») y cuando la secreción leucorreica disminuyó hasta casi desaparecer, obtuvimos cultivos positivos de klebsielas a gran concentración, pero sin cápsulas. Hemos obtenido preparados directos muy característicos, del exudado genital, en donde apreciamos abundancia de formas capsuladas; en otras oportunidades las bacterias halladas eran sumamente escasas.

Las características de los cultivos en los medios sólidos y líquidos, no aportan ningún dato distintivo con los organismos del «Grupo Klebsiella», cuyos detalles han sido extensamente tratados (2) (5) (13) (16) (18). Comprobamos tamaños diferentes de las colonias, ya que junto a las de diámetro corriente aparecieron otras similares a las producidas por estreptococos. Estas colonias puntiformes (G) daban origen, en los nuevos aislamientos, a colonias de tamaño natural. Cultivos obtenidos de las colonias puntiformes no presentaban modificaciones en las propiedades fisiológicas y bioquímicas, ni en el poder patógeno, al compararlos con cultivos procedentes de colonias normales.

La disociación M→S, según el concepto de Osterman y Rettger (16), fué observada en uno de los cultivos «Met», carácter éste de importancia para estudios serológicos.

Analizando las propiedades bioquímicas, notamos algunas diferencias entre los cultivos estudiados y a su vez entre éstos y *K. genitalium*, que en su oportunidad fué señalada como de características bioquímicas estables (5) cuando se la comparó con otros integrantes del «Grupo Klebsiella» caracterizados por su inconstante comportamiento bioquímico-

fisiológico (7) (8). El cultivo «Met» produjo indol y atacó dulcita y melezitosa, mientras el cultivo «Ta» no lo hizo. En los medios utilizados para el estudio de la fermentación de los hidratos de carbono observamos en los casos positivos y en general, rápida producción de ácido y gas con posterior liberación de sustancias alcalinas, las que más tarde originaron viraje del indicador hacia la alcalinidad (pH 7,6-7,8).

El comportamiento en los medios conteniendo urea fué bastante parecido al cumplido por *Proshigella equuli* y *Proshigella alkalescens*, es decir la prueba R. S. S. fué negativa, pero la hidrólisis de la urea se cumplió cuando el «poder buffer» del medio fué disminuído. Con respecto a la propiedad de hidrolizar urea por bacterias del «Grupo Klebsiella», corresponde citar que Kauffmann sobre 100 cultivos, encontró 99 positivos (13). La leche fué coagulada, lentamente por el cultivo «Met» (4-6 días a 37° C) y con rapidez por el cultivo «Ta» (24 hs. 37° C). Ambos originaron escaso suero sobrenadante y no disolvieron el coágulo. La reacción del rojo de metilo resultó francamente positiva con «Met» tanto a 37° C como a 30° C después del 5° día de incubación; el cultivo «Ta» en cambio, si bien presentó a las 72 horas reacción positiva, después de 5 días de incubación a 37° C dió reacción dudosa.

Al comparar los resultados obtenidos con los de Dimock y Edwards (5) sobre *K. genitalium*, observamos que los dos cultivos estudiados no coinciden exactamente con este germen, ya que uno de ellos fermenta dulcita con formación de ácido y gas, cosa que no ocurre con *K. genitalium*, por otra parte las cepas estudiadas por los investigadores ya citados, si bien son todas productoras de acetil-metil-carbinol son en cambio, rojo de metilo negativas. Los cultivos aquí estudiados son RM+ y VP+. Otra diferencia es que el cultivo «Met» es productor de indol, en cambio *K. genitalium* es indol negativa. Corresponde indicar que bacterias productoras de indol han sido incluídas en el «Grupo Klebsiella» (2) (9). Kauffmann (13) en las cepas que ha estudiado, procedentes de colecciones e infecciones naturales, —ninguna de origen equino— encuentra coincidentemente que todos los cultivos estudiados son indol negativos.

No discutiremos aquí las relaciones entre el género *Aerobacter* y el género *Klebsiella* que han sido tratados por otros autores (3) (7) (13).

Con respecto al poder patógeno natural y experimental, en relación con la propiedades bioquímicas y serológicas, el cultivo «Met» coincide bastante con el tipo c de *K. pneumoniae* (10) (11) (12) (17) (18). Esto en parte está de acuerdo con los resultados de Edwards (7) acerca de la infección experimental del aparato genital de yeguas por el *Bact. Friedländer*. No poseemos ningún informe de la literatura revisada, que nos

indique que el tipo capsular 3 sea capaz de producir infecciones naturales en los equinos.

El cultivo «Ta» en la prueba recomendada de poder patógeno (17), produjo la muerte del total de cada lote de lauchas inoculadas intraperitonealmente; la persistencia de los cultivos en estado «M» y las características tipo específicas fueron coincidentes con *K. genitalium*.

Desde el punto de vista serológico podemos expresar que el cultivo «Ta» pertenece al tipo capsular 2 (Tipo B de Julianelle) que tiene relaciones antigénicas con el neumococo tipo 2, el cual a su vez está vinculado antigénicamente con los tipos capsulares 8 y 9 del «Grupo Klebsiella», antígenos éstos hace poco tiempo descubiertos (13). Para aportar datos sobre los cultivos pertenecientes al tipo 2 del «Grupo Klebsiella» estudiados por Kauffmann (13) debe expresarse que 4 de ellos, tenidos en las colecciones como Friedländer B, habían sido aislados de esputos, 2 cultivos rotulados como *B. lactis-aerogenes* procedían de la National Collection of type Cultures of London y 1 cepa había sido aislada de orina humana. Hay que agregar que Edwards (7) clasificó como tipo B a las cepas de origen equino.

El cultivo «Met» correspondió al tipo capsular 3 (Tipo C de Julianelle). Los cultivos clasificados por Kauffmann dentro del tipo 3 del «Grupo Klebsiella» comprenden 2 cultivos anteriormente clasificados como *Bact. Friedländer C*, 1 cultivo comprendido en el Grupo X (Julianelle) de la American Type Culture Collection of Washington, 1 cultivo de reciente aislamiento a partir de un esputo y 5 cultivos clasificados como «Rhinoscleroma», 4 de ellos procedentes de la National Collection of type Cultures of London y el restante del State Serum Institut de Copenhagen.

Dado que el cultivo «Ta» coincide bastante con la descripción de *Klebsiella genitalium*, aunque no es idéntico, y que el cultivo «Met» posee propiedades bioquímicas, serológicas y patogénicas que lo alejan de *K. genitalium* y lo acercan al *K. pneumoniae* (Tipo 3). Queda entonces al descubierto que más de un tipo capsular del «Grupo Klebsiella» es capaz de originar naturalmente infecciones genitales en los equinos.

CONCLUSIONES

1°. — Se comprueban en Argentina dos casos de infecciones genitales debidas a bacterias del «Grupo Klebsiella», con paralela presentación de vaginitis, cervicitis y metritis.

2°. — Las bacterias aisladas de cada uno de los casos de infección natural, presentan entre sí diferencias bioquímicas, serológicas y de poder

patógeno; a su vez no coinciden totalmente en sus características con *K. genitalium*.

3°. — El estudio bacteriológico permite destacar que en ambos cultivos las reacciones del rojo de metilo y producción de acetil-metil-carbinol son positivas. Uno de los cultivos estudiados es indol positivo y además fermenta dulcita.

4°. — Se comprueba que más de un tipo capsular de bacterias pertenecientes al «Grupo Klebsiella» es capaz de originar infecciones genitales en yeguas, ya que desde el punto de vista serológico uno de los cultivos estudiados corresponde al tipo capsular 2 y el otro pertenece al tipo capsular 3, de la nomenclatura propuesta por Kauffmann.

5°. — Se obtiene la reproducción experimental de metritis, cervicitis y vaginitis, inyectando en yeguas aparentemente normales por vía intrauterina, los gérmenes aislados de los casos de infección natural.

Agradecimientos.

Los autores agradecen al Dr. N. Roldán Bonadeo por su colaboración durante las exploraciones clínicas y extracción de materiales; al Dr. Durlach por la traducción del resumen al idioma alemán; al Prof. Dr. D. H. Simeone y a la Sta. M. A. Caría, ayudante de la Sección Microbiología del Instituto de Investigación de las Ciencias Naturales, por su contribución en parte de las tareas de gabinete.

Las pruebas de poder patógeno se cumplieron en el Instituto de Bacteriología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires y parte de la clasificación bacteriológica fué cumplida en la Sección Microbiología del Departamento de Botánica del Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales y Museo Argentino de Ciencias Naturales «Bernardino Rivadavia». Buenos Aires.

RESUMEN

En el presente trabajo se dan a conocer dos casos de infección genital en yeguas pura sangre de carrera, debidas a bacterias del «Grupo Klebsiella», las cuales se comprueban con paralela presentación de vaginitis, cervicitis, metritis y abundante arrojamiento por vulva. Según los datos disponibles, los AA. no han encontrado antecedentes en Argentina que señalen este tipo de infección.

Uno de los casos estudiados correspondió a una yegua de un haras destinada a la cría, cuya infección se comprobó a raíz de secuelas «post abortum»; el segundo caso se registró en una yegua sometida a «training». Los AA. describen los casos de infección natural, destacando los cuadros inflamatorios de vagina, cérvix y útero, acompañados de abundante exudación. Consideran que para aclarar la etiología resultan insuficientes los datos clínicos, anatomo-patológicos y aún procedimientos indirectos

de diagnóstico (aglutininas, precipitinas, prueba microserológica de Neufeld aplicada a estos casos y pruebas alérgicas) para sospechar la actividad de las bacterias del «Grupo Klebsiella». El aislamiento y clasificación del germen es el procedimiento que recomiendan.

A pesar de la evolución crónica y del fracaso de la terapéutica corriente para eliminar la infección, los AA. consiguieron resultados alentadores por inoculación de autovacunas seriadas complementadas con aplicaciones de tirotricina y cloruro de hidroxifenilmercurio; estiman sin embargo qué mayor experiencia en este punto es necesaria.

El estudio bacteriológico efectuado sobre la base de las características morfológicas, tintoriales, de cultivo, bioquímicas, fisiológicas, serológicas y patogénicas permitió comprobar que los cultivos aislados de cada caso no eran idénticos entre sí y que a su vez presentaban diferencias con *K. genitalium*. Momentáneamente los cultivos en estudio fueron rotulados «Ta» y «Met», este último además de producir indol, fermentó con producción de ácido y gas la dulcita. Ambos cultivos fueron VP+ y RM+. La tipificación serológica, emprendida por Kauffmann, del Serum Institut de Copenhague, reveló que el cultivo «Ta» pertenecía al tipo capsular 2 y el cultivo «Met» al tipo capsular 3. Los AA. desconocen si en la literatura mundial alguna vez han sido descriptos casos de infección natural de los equinos debidos a este último tipo.

La reproducción experimental de la infección genital fué obtenida al inocular varias yeguas aparentemente normales, por la vía intrauterina, con cada uno de los gérmenes en estudio, los cuales fueron recobrados en cultivo puro en repetidas oportunidades con materiales extraídos a la altura del canal cervical.

SUMMARY

Genital infection in Thoroughbred mares due to bacteria of «Klebsiella Group»

The present paper deals with two cases of genital infection in Thoroughbred mares, caused by microorganisms belonging to the «Klebsiella Group» which were detected with parallel presentation of vaginitis, cervicitis, metritis and purulent discharges through the vulva.

As far as known, no earlier cases of this kind of infection were found in the Argentine.

One of the attacked mares was destined for breeding and its infection was detected through sequel «post-abortion»; the second one was a mare in training with an inflammatory process of the genital organs due to aspiration of air through the vulva.

The AA. describe the cases of natural infection and point out charac-

teristics of the inflammatory processes of the vagina, cervix and uterus with abundant discharges.

They consider the clinical, anatomo-pathological data and also the indirect diagnostic procedures (agglutinins, precipitins, Neufeldmicroserological and allergic tests) insufficient to detect the activity of bacteria of the «Klebsiella Group».

They recommend the isolation and classification of microorganisms.

Despite of the chronic evolution and failures of the current therapeutic used for the elimination of the infection of the genital tract, the AA. obtained encouraging results with the inoculation of series of autovaccines with the concomitant use of thyrotricine and hydroxiphenilmercuric-chloride.

The AA. have the opinion that more experience is needed on this point.

The bacteriological study made on the basis of morphological, staining, cultural, biochemical, physiological, serological and pathogenic properties show that the isolated cultures of the two cases were neither identical with each other, nor with «*Klebsiella genitalium*».

At the present time the cultures in question are rotulated «Ta» and «Met», the latter in addition to produce indol, dulcete is fermented with acid and gas production. Both cultures were VP and RM positive. The serological typing made by Kauffmann, member of the Serum Institut of Copenhagen, revealed that the «Ta» culture belongs to the Capsular Type 2, and the «Met» to the Capsular Type 3.

The AA. do not know if any similar case of natural infection of equines due to the latter type of bacteria was ever described.

The experimental reproduction of the genital infection was obtained by injection in the uterus of mares apparently normal, with each of the microorganisms in question, obtained several times from materials out of the cervical duct.

ZUSAMMENFASSUNG

In vorliegender Arbeit werden Genitalinfektionen mit Bakterien der «Klebsiella-Gruppe» in zwei Vollblutstuten beschrieben, welche durch parallele Darstellung von Scheidentzündung, Cervicitis, Gebärmutterentzündung und reichliche Absonderung durch die Vulva, bewiesen werden.

In einer der Stuten wurde die Krankheit auf Grund von Symptomen, die nach dem Abort auftraten, aufgefunden. Im zweiten Falle handelte es sich um eine trainierende Stute. Beide Fälle werden im Text ausführlich beschrieben; es wird besonders auf die Entzündung von Vagina, Cer-

vix und Gebärmutter hingewiesen. Die klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen, sowie die indirekten diagnostischen Methoden (Agglutination, Precipitation, Neufelds Quellungsreaktion, und allergische Proben) genügen nicht um die Klebsiella-Infektion zu beweisen; die Bakterien müssen isoliert und klassifiziert werden.

Der Verlauf der Krankheit war chronisch; mit gebräuchlichen therapeutischen Massnahmen konnte die Infektion nicht beseitigt werden, doch konnte eine gewisse Besserung nach mehrmaliger Einspritzung von Autocaccine, Tirotricin und Quecksilber-Hydroxyphenil Chlorid festgestellt werden.

Die beiden isolierten Stämme waren einer mit dem anderen identisch. Beide zeigten gewisse Merkmale welche sie von *K. genitalium* unterschieden. Die Stämme wurden vorläufig «Ta» und «Met» benannt. Letzterer ist Indol-positiv und spaltet Dulcitol mit Gasproduktion. Beide Stämme sind Voges-Proskauer und Methil Rot-positiv. Die serologische Typifikation wurde von F. Kauffmann, Statens Serum Institut, Kopenhagen, unternommen; «Ta» gehört zum Kapsel-Typ Nr. 2, «Met» zum Nr. 3. Verfasser sind, trotz ihrer Bemühungen, auf keine Beschreibung einer natürlichen Infektion durch Typ Nr. 3 gestossen.

Mit beiden Stämmen konnten gesunde Stuten, durch intrauterine Instillation, onosziert werden.

11. J. Kauffmann, J. A.: Immunological relationships of common pneumococcal types of *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Experimental Medicine*, XLIV (1925) 683-699.

12. J. Kauffmann, J. A.: Immunological relationships of cell constituents of *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Experimental Medicine*, XLIV (1925) 755-761.

13. Kauffmann, J.: On the serology of the Klebsiella Group. *Acta Pathologica XXVI, Fasc. 2* (1919) 381-407.

14. M. M. H. and H. H.: *Streptococcus pneumoniae*. - D. T. W. XXX, 37 (1923) 473-482.

15. Montenegro, J. J.: Bacteriología de los tipos más comunes y sus relaciones. *Arch. Farm. y Biol. de Tucumán*, IV, 1 (1916) 69-92.

16. O. Kauffmann, K. and H. H.: A comparative study of organisms of the Klebsiella and Coli-ferrous Groups. I: Morphological and cultural characteristics with emphasis on serological. *Journal of Bacteriology*, XLII (1941) 699-719.

17. O. Kauffmann, K. and H. H.: A comparative study of organisms of the Klebsiella and Coli-ferrous Groups. II: Pathological, biochemical reactions and serological relationships. *Journal of Bacteriology*, XLII (1941) 721-742.

18. J. O. and H. H.: Biological and serological studies of Klebsiella species. *Journal of Bacteriology*, XLII (1925) 456-476.

BIBLIOGRAFIA

1. BAERTHLEIN, K.: *Ueber bakterielle Variabilität insbesondere sogenannte Bakterienmutationen*. Centrbl. f. Bakt., I. Orig., LXXXI (1918) 369-371.
2. BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D. and PARKER HITCHENS, A.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Sixth Edition. Williams and Wilkins Co. Baltimore (1948).
3. CLAREMONT, P.: *Differentialdiagnostische Untersuchungen ber Kapsekbakterien*. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskr., XXXIX, 1 (1902) 1-85.
4. CONN, H. J. y col.: *Manual of methods for pure culture study of bacteria*. Edited: Comm. Bact. Tech. of the Soc. Amer. Bact. Geneva, N. Y. (1946).
5. DIMOCK, W. W. and EDWARDS, P. R.: *Genital infection in mares by an organism of the Encapsulatus Group*. Journ. Am. Vet. Med. Assoc. LXX (1937) 469-480.
6. EDWARDS, P. R.: *The relation of encasulated bacilli found in metritis in mares to encapsulated bacilli from human sources*. Journ. Bact. XV (1928) 245-266.
7. EDWARDS, P. R.: *Relationships of the encapsulated bacilli with special reference to Bact. aerogenes*. Journ. Bact. XVII (1929) 339-353.
8. FITZGERALD, J. G.: *A biochemical study of the mucosus capsulatus group*. Journ. Infect. Dis. XV (1914) 268-278.
9. HANDUROY, P.; EHRINGER, G.; URBAIN, ACH.; GUILLOT, G. et MAGROU, J.: *Dictionnaire des Bactéries Pathogenes pour l'homme, les animaux et les plantes*. Masson et Cie. Editeurs (1937).
10. JULIANELLE, L. A.: *A biological classification of Encapsulatus pneumoniae «Friedländer's» bacillus*. Journ. Exp. Med. XLIV (1926) 113-128.
11. JULIANELLE, L. A.: *Inmunological relationships of encasulated and capsule free strains of Encapsulatus pnemoniae «Friedländer's bacillus»*. Journ. Exp. Med. XLIV (1926) 683-696.
12. JULIANELLE, L. A.: *Inmunological relationships of cell constituents of Encapsulatus pneumoniae «Friedländer's bacillus»*. Journ. Exp. Med. XLIV (1926) 735-751.
13. KAUFFMANN, F.: *On the serology of the Klebsiella Group*. Acta Pathologica XXVI, Fasc., 3 (1949) 381-406.
14. MIESSNER, H. und BERGE, R.: *Verfohlen und Fohlenkrankheiten*. - D. T. W. XXX, 37 (1922) 473-482.
15. MONTEVERDE, J. J.: *Bacteriófago activo para shigelas y salmonelas aisladas de habitantes de la Ciudad de Buenos Aires y sus alrededores*. Arch. Farm. y Bioq. de Tucumán, IV, 1 (1948) 69-98.
16. OSTERMAN, E. and RETTGER, L. F.: *A comparative study of organisms of the Friedländer and Coli-Aerogenes Groups. I: Morphological and cultural characteristics with emphasis on variation*. Journ. Bact. XLII (1941) 699-716.
17. OSTERMAN, E. and RETTGER, L. F.: *A comparative study of organisms of the Friedländer and Coli-Aerogenes Groups. II: Pathogenicity, Biochemical reactions and serological relationships*. Journ. Bact. XLII (1941) 721-743.
18. SMALL, J. C. and JULIANELLE, L. A.: *Biologic and serologic studies of «Bacillus mucosus Group»*. Journ. Infect. Dis. XXXII (1923) 456-470.